



Universidade de Aveiro Departamento de Línguas e Culturas
2013

**Véronique
Aguiar Garrido**

**Doença de Machado-Joseph: tradução e
terminologia**



Universidade de Aveiro Departamento de Línguas e Culturas
2013

**Véronique
Aguiar Garrido**

**Doença de Machado-Joseph: tradução e
terminologia**

Projeto apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Tradução Especializada, realizado sob a orientação científica da Doutora Otilia da Conceição Pires Martins, Professora Associada com Agregação e a coorientação da Mestre Cláudia Maria Pinto Ferreira, Leitora, do Departamento de Línguas e Culturas da Universidade de Aveiro.

o júri

presidente

Prof.^a Doutora Maria Teresa Murcho Alegre
Professora Auxiliar da Universidade de Aveiro

vogais

Prof. Doutor António Carlos Matias Correia
Professor Catedrático da Universidade de Aveiro (arguente)

Prof.^a Doutora Otília da Conceição Pires Martins
Professora Associada com Agregação da Universidade de Aveiro (orientadora)

Mestre Cláudia Maria Pinto Ferreira
Leitora da Universidade de Aveiro (coorientadora)

agradecimentos

A concretização deste projeto envolveu um processo de construção que se enriqueceu com a colaboração de todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para esta trajetória de crescimento, que culmina com o que se espera ser um fim de um começo. A todos agradeço, em particular:

à Doutora Otília Pires Martins, minha orientadora, pela partilha de conhecimento e o seu acompanhamento em particular na fase final do trabalho, mas também pelas suas revisões do Relatório;

à Mestre Cláudia Ferreira, minha coorientadora, por toda a disponibilidade demonstrada e os seus contributos para a execução deste projecto;

à Doutora Perrine Charles, neurologista do Hospital de la Pitié - Salpêtrière, em Paris, cuja participação, como especialista na área da saúde, se revelou crucial para a validação da terminologia inserida na nossa base de dados. O seu apoio foi determinante para a qualidade do resultado final;

à Doutora Maria Teresa Roberto por ter gentilmente acedido a rever a versão inglesa do resumo.

Agradeço também aos meus amigos e de um modo especial a Amandine, Mélanie, Noémia e Suzana, pela ajuda e partilha de conhecimentos;

à minha família que, mesmo estando longe, me acompanhou e encorajou.

E não esqueço os professores que marcaram o meu percurso académico, pelo empenho e dedicação demonstrados na transmissão de conhecimentos, decisivos para o meu futuro profissional.

A todos quero reafirmar o meu reconhecimento sincero.

palavras-chave

Doença de Machado-Joseph, Neurologia, Tradução especializada, Base de dados terminológica.

resumo

O presente projeto de tradução insere-se no âmbito da saúde e ciências da vida, no domínio específico da neurologia, sendo o *corpus* escolhido inteiramente constituído por textos científicos sobre a Doença de Machado-Joseph. Tratando-se de uma patologia rara e inicialmente circunscrita ao universo português, a investigação desenvolvida sobre a Doença de Machado-Joseph encontra-se “fixada”, em parte, em português.

Pretendeu-se, através deste projeto, colmatar a escassez de produção textual em língua francesa, propondo a tradução de alguns dos textos científicos relevantes sobre a Doença de Machado-Joseph, contribuindo, assim, para uma maior divulgação dessa patologia, em língua francesa.

Surgiu naturalmente a necessidade de se elaborar uma base de dados terminológica, dado que a linguagem técnica utilizada é de primordial importância para a divulgação da investigação sobre a doença. No presente Relatório, propomos uma reflexão teórica e uma análise crítica sobre as diferentes etapas do trabalho desenvolvido.

keywords

Machado-Joseph Disease, Neurology, Specialized translation, Terminology database

abstract

This translation project falls within the domain of the health and life sciences, specifically in the field of neurology, and the *corpus* we selected is composed entirely of scientific texts on the Machado-Joseph Disease. Since this is a rare condition and initially limited to the Portuguese universe, the research undertaken on the Machado-Joseph disease is “registered” essentially in the Portuguese language. Through this project, we sought to lessen the shortage of textual production in the french language in this field, by proposing the translation of some of the relevant scientific literature on the Machado-Joseph disease into french, thus contributing towards greater awareness of this condition.

The need to develop a terminology database became evident, given that the technical language used for the dissemination of research on the disease is of the utmost importance. In this Report, we present a theoretical reflection and critical analysis of the different stages of the work that was carried out.

mots-clés

Maladie Machado-Joseph, Neurologie, Traduction spécialisée, Base de données terminologique.

résumé

Le présent projet de traduction s'insère dans la thématique de la santé et sciences de la vie, plus particulièrement dans le domaine spécifique de la neurologie. Le *corpus* sélectionné est entièrement constitué de textes scientifiques concernant la maladie de Machado-Joseph. Il s'agit d'une pathologie rare, initialement circonscrite à l'univers portugais, c'est pourquoi la recherche sur la maladie de Machado-Joseph se trouve "effectuée", en partie, en portugais.

On espère à partir de ce projet combler le manque notoire de production textuelle en langue française, en proposant la traduction de certains textes scientifiques à caractère important centrés sur la maladie de Machado-Joseph, contribuant ainsi à une plus vaste divulgation de cette pathologie, en français. Le besoin de créer une base de données terminologique était évident étant donné que le langage technique utilisé est d'une importance primordiale pour la divulgation de la recherche sur la maladie. Le présent Rapport propose une section consacrée à la réflexion théorique et à l'analyse critique des différentes étapes du travail effectué.

Índice

Introdução	25
I. Enquadramento conceptual e contexto	31
1. Definição do tema e <i>corpus</i>	33
2. Objetivos	37
3. Doença Machado-Joseph: Breves considerações	38
II. Metodologia de trabalho	41
1. Pré-tradução	43
2. Tradução	45
3. Pós-tradução	46
4. Calendarização: ilustração com o gráfico de Gantt	46
5. Ferramentas	47
5.1. memoQ	48
III. Análise e caracterização do <i>corpus</i>	51
1. O artigo “Patologias Neurodegenerativas, o caso particular da Doença Machado-Joseph”	53
2. Capítulo VII e VIII - livro “Doença de Machado-Joseph”	54
3. Dissertação de Mestrado - <i>Doença de Machado-Joseph: Análise da região 3’UTR do gene ATXN3</i>	55
IV. Público-alvo	59
1. O artigo “Patologias Neurodegenerativas, o caso particular da Doença Machado Joseph”	61

2. Capítulo VII e VIII/ Dissertação de Mestrado - <i>Doença de Machado-Joseph: Análise da região 3'UTR do gene ATXN3</i>	61
2.1. Especialistas da área / investigadores	62
2.2. Profissionais de saúde	62
2.3. Professores	62
2.4. Estudantes	62
2.5. Doentes	63
2.6. Público em geral	63
V. Terminologia	65
1. Considerações sobre a terminologia	67
2. Base de dados terminológica	68
VI. Dificuldades e estratégias	73
1. Qualidade	76
2. Erros no <i>corpus</i> de partida	76
3. Principais recursos utilizados	78
3.1. Google	78
3.2. Base de dados IATE	79
3.3. Material <i>online</i>	79
3.4. Material impresso	79
4. Problemas tradutológicos: Traduzir ou não traduzir?	80
4.1. Anglicismo	80
4.2. Formas abreviadas	82
4.3. Latinismos	84
4.4. Terminologia especializada	85
4.5. Outros casos	87

Conclusão	91
Referências para a elaboração do projeto	95
Apêndices	103
1. <i>Corpus</i> na língua de partida	107
2. <i>Corpus</i> na língua de chegada	173
3. Base de dados terminológica	239

Índice de tabelas

Tabela 1	Estrutura da dissertação de Mestrado	57
Tabela 2	Erros <i>corpus</i> de partida	77
Tabela 3	Algumas siglas do <i>corpus</i>	83
Tabela 4	Exemplo de um caso específico	86
Tabela 5	Exemplos de estrutura frásica invertido	87
Tabela 6	Exemplos de tradução literal	88

Índice de figuras

Figura 1	Calendarização a partir do gráfico de Gantt	47
Figura 2	Aspeto do memoQ durante a realização da tradução	48
Figura 3	Aspeto do <i>corpus</i> de apoio no memoQ	50
Figura 4	Amostra de termos integrados na Base de dados terminológica	69
Figura 5	Campos utilizados na base de dados terminológica	70
Figura 6	Base de dados no memoQ apenas com o termo em português e francês	71

Índice de abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucléico

RNA – Ácido Ribonucleico

ATXN – Ataxina

CAT – Computer Assisted Translation

DMJ – Doença de Machado-Joseph

FCT – Fundação para a Ciência e Tecnologia

PCR – Reação em cadeia da polimerase

SNP – Polimorfismo de Nucleotídeo Único

UTR – Região não Traduzida

“La traduction est pour nous tous, gens de lettres, avec la juste proportion de plaisir et de peines qu'elle comporte une belle et constante école de vertu.”

(Valery Larbaud)

“Aucune maladie n'est trop rare pour ne pas mériter attention.”

(Orphanet)

Introdução

O presente projeto enquadra-se no Mestrado em Tradução Especializada, na área da Saúde e das Ciências da vida, e consiste na aplicação prática dos conhecimentos teóricos e práticos adquiridos ao longo de vários anos de formação em meio académico mas também fora do âmbito académico, nomeadamente, pela experiência profissional adquirida, através de um estágio e de inúmeros contributos na área da tradução, sendo estes conhecimentos aplicados a um domínio de especialização científica. Deste modo, este projeto representa o culminar de um percurso académico com vista ao cumprimento dos requisitos necessários para a conclusão do Mestrado.

No seguimento da disciplina de “Fundamentos em Ciência para Tradução Especializada II”, que nos permitiu adquirir algumas das bases necessárias para a concretização deste projeto, optámos pela realização de uma tradução de uma temática muito pouco divulgada: a Doença de Machado-Joseph.

Segundo a Associação Atlântica de Apoio ao Doente de Machado-Joseph, trata-se de uma “doença neurológica hereditária (de transmissão autossómica dominante), crónica e altamente incapacitante.”¹

Durante uma pesquisa preliminar sobre esta doença, para uma melhor definição do nosso projecto, apercebemo-nos de que muitos têm sido os progressos feitos ao longo dos anos e que esta patologia se encontra ainda bastante presente.

Muito recentemente, diversos estudos publicados revelaram resultados muito promissores a nível da evolução da doença. Tal facto veio dar-nos um maior incentivo para abordarmos esta doença no âmbito do nosso projeto. Contudo, apesar de serem notórios os esforços feitos a nível da investigação nesta área, parece estar ainda longe a descoberta de um tratamento eficaz para a cura da doença. Existem, precisamente, estudos recentes que incidem sobre a problemática do tratamento. Um deles mostra que o “consumo regular de caféina, em concentrações equivalentes a cinco a sete cafés por dia, atenua lesões cerebrais”². Muitos outros estudos estão actualmente em curso, apostando na

¹ <http://www.aaadmj.com/a-doenca/> [Última consulta em maio de 2013]

² <http://visao.sapo.pt/consumo-de-cafeina-atenua-lesoes-cerebrais-na-doenca-de-machado-joseph-estudo=f717629> [Última consulta em maio de 2013]

“caracterização a nível molecular das alterações que ocorrem naquela patologia”³. Assim, tudo leva a crer que se está cada vez mais perto de encontrar um tratamento. Os investigadores dizem-se confiantes quanto aos resultados obtidos recentemente, acreditando estar perto de descobrir um fármaco que, a longo prazo, possa ser ministrado de maneira a retardar o aparecimento da doença.

O trabalho que pretendemos desenvolver, no âmbito do curso de Mestrado, visa explorar o conceito da Tradução na vertente científica, enquanto atividade que desempenha um papel relevante no que ao conhecimento desta área diz respeito, para o bem de uma determinada sociedade. A concretização da tradução e a elaboração da base de dados terminológica e do relatório resultam do esforço de quatro pessoas de três áreas diferentes. Com efeito, o presente projeto demonstra o carácter pluridisciplinar da Tradução, já que foi desenvolvido sob a orientação de uma especialista da língua, da literatura e da cultura e a coorientação de uma especialista ligada à tradução de português para francês assim como a ajuda inestimável de uma especialista que atua na área da genética.

A estrutura do projeto apresenta três partes distintas mas coesas: a tradução de um *corpus* de documentos de português para francês, a elaboração de uma base de dados terminológica que inclui os termos mais técnicos, que nos suscitaram maior dificuldade, específicos da temática abordada, e, por último, um relatório onde propomos uma análise crítica de todo o trabalho efetuado.

Para além da presente Introdução, este projeto é constituído por seis capítulos centrais, por uma Conclusão, e ainda, pelas Referências relativas à bibliografia e aos websites consultados e/ou utilizados. E, por fim, os Apêndices que englobam o *corpus* na língua de partida e de chegada e a base de dados terminológica.

No primeiro capítulo – Enquadramento conceptual e contexto –, propomos uma contextualização e enunciamos as razões da nossa escolha temática bem como os objetivos ligados ao projeto. Nele tecemos, ainda, considerações relevantes acerca da doença.

No segundo capítulo – Metodologia de trabalho –, descrevemos o método escolhido para a realização do presente trabalho, os passos seguidos durante todo o processo do projecto, através do gráfico de Gantt, assim como as ferramentas utilizadas.

³ <http://www.rcmpharma.com/actualidade/id/01-03-13/alteracoes-moleculares-associadas-doenca-machado-joseph-investigadas-nos-aco> [Última consulta em maio de 2013]

No terceiro capítulo – Público-alvo –, especificamos, por ordem de importância, os diferentes destinatários, isto é, todos aqueles a quem se dirigem os diferentes textos.

O quarto capítulo, intitulado “Análise e características do *corpus*”, refere-se ao estudo da estrutura de cada tipo de documento que compõe o nosso *corpus*.

O quinto capítulo, denominado “Terminologia”, trata dos termos e de tudo o que os engloba, passando de uma breve contextualização ao material utilizado para a realização da base de dados terminológica.

No sexto e último capítulo – Dificuldades e estratégias –, procede-se à análise das principais dificuldades assim como à justificação de algumas opções ou estratégias tomadas no que diz respeito a tradução de alguns termos ou situações específicos.

A Conclusão permite-nos fazer uma síntese de todos os aspectos abordados ao longo do projecto, sublinhando, uma vez mais, a sua pertinência.

Este projeto inclui ainda uma secção dedicada a todas as referências, quer referências bibliográficas, quer endereços dos websites, consultados e utilizados na elaboração do nosso trabalho. Uma última secção intitulada Apêndices, finaliza este Relatório.

I. Enquadramento conceptual e contexto

1. Definição do tema e do *corpus*

Tomando em linha de conta a variante de especialização do curso de Mestrado, no qual se inscreve este trabalho, e que interessa a tradução no domínio das ciências da vida e da saúde, foi naturalmente que elegemos um tema relacionado com essa mesma vertente. Assim, a neurologia, com particular enfoque na doença neurodegenerativa de “Machado-Joseph”, pareceu-nos, desde a génese do nosso projeto, uma temática de eleição.

A intenção de investigar mais detalhadamente esta doença surgiu do nosso interesse por esta temática, após inúmeras pesquisas realizadas na Internet. O aspeto mais delicado foi encontrar um tema pertinente traduzir para francês e que nos inspirasse um interesse capaz de justificar que este fosse o centro do nosso projeto, pois a realidade francesa está muito mais à frente do que a portuguesa a nível científico e produz imenso material sobre os mais diversos temas científicos.

Desta forma, tendo em conta a origem da doença e o interesse que tem vindo a suscitar, ultimamente, nos cientistas portugueses, envolvidos em projetos de tratamentos para a cura da doença, estes foram os pontos essenciais que mobilizaram a nossa atenção e fizeram recair a nossa escolha sobre esta doença rara.

Após inúmeras e longas pesquisas sobre o assunto, na Internet, verificámos que existe, curiosamente, uma maior preponderância de ocorrências em inglês do que em português, apesar de a doença ser considerada portuguesa. Esta realidade fez ressaltar a não existência de uma terminologia científica, em português, ou não harmonizada, e sugeriu-nos a urgência de se criar uma, até mesmo por uma questão de internacionalização da língua, a nível científico. Além do mais, isso poderia constituir uma mais-valia em termos económicos e um meio privilegiado para veicular informação e construir conhecimento na comunicação especializada. Com efeito, não existe nenhum guia ou quaisquer documentos de apoio à disposição dos doentes. O facto de apenas existirem registos em inglês prende-se com o espaço geográfico do surgimento da doença. Com efeito, os primeiros casos descobertos verificaram-se em indivíduos originários dos Açores

e emigrados na América do Norte. Sublinhe-se, ainda, um procedimento muito comum, no ramo da investigação das ciências em geral: a necessidade da utilização de uma língua veicular comum, neste caso, o inglês, no sentido de uma maior coordenação e de um melhor desempenho, no seio das equipas internacionais, das quais fazem parte muitos portugueses, que investigam esta doença.

Face à escassez de material relevante e fidedigno, em português, tomámos a iniciativa de contactar diretamente a Associação Atlântica de Apoio ao Doente de Machado-Joseph, sediada nos Açores, que confirmou não existir material em português impresso. Na realidade, mesmo os trabalhos de investigação desenvolvidos nas universidades portuguesas, são, na maioria das vezes, diretamente redigidos em inglês, exceto em alguns projetos como aquele que nos propusemos traduzir. Esta Associação assegurou-nos também não existir à disposição dos doentes guias e/ou material de prevenção, sendo que a própria Associação surge, ainda hoje, como a forma mais direta de ajuda aos doentes, graças também às consultas durante as quais o médico especialista pode facultar todas as informações acerca da doença e apoio psicológico. Também disponibiliza sessões de motricidade e de hidroginástica, sendo, esta Associação, também um centro de atividades que funciona diariamente. Dispõe também de uma linha de apoio durante os dias úteis para esclarecimento de dúvidas ou registo de pedidos de ajuda.

Num segundo tempo, contactámos, a nível nacional, os seguintes organismos, e por esta ordem: o Centro de Biomedicina do Departamento de Biologia da Universidade dos Açores, que nos comunicou que, em português, apenas existiam alguns projetos, desenvolvidos por estudantes, já que os especialistas escrevem na língua inglesa; o Centro de Neurociências e Biologia Celular da Universidade de Coimbra, do qual não obtivemos resposta.

Em versão impressa, existe apenas um livro em língua portuguesa que consiste num trabalho de investigação realizado no âmbito universitário e que surge como a “obra” de referência para todos os estudos sobre a doença. Este livro, do qual escolhemos dois capítulos, faz, assim, parte do nosso *corpus*.

Para o sucesso deste projeto, a escolha do *corpus*, a partir do qual iríamos trabalhar, revelou-se fundamental e determinante. Para tal, foi necessário, numa fase inicial, dedicarmos algum tempo de pesquisa e de reflexão à temática a abordar. A nossa principal preocupação incidiu sobre a importância da utilidade futura deste projeto. A célere

propagação da doença desencadeou a necessidade de divulgar informação acerca da mesma. Apesar de existirem alguns artigos de imprensa ou informações gerais, disponíveis *online*, mas sem grande relevância, o mesmo não se verifica no que diz respeito a artigos científicos mais pormenorizados e consistentes, em língua francesa.

Com efeito, quer em Portugal, quer no resto do mundo, a investigação realizada apresenta-se, como já referimos, em língua inglesa. Decidimos, pois, compilar documentos que fossem relevantes, sendo um dos pré-requisitos na escolha dos documentos o conteúdo rico em terminologia para possibilitar uma exploração consequente na área da tradução especializada.

Pelas razões mencionadas anteriormente, não foi por mero acaso que escolhemos trabalhar a partir deste *corpus*. Para tal, foi necessário ter em atenção o tipo de artigos que pretendíamos traduzir, bem como a fiabilidade do seu conteúdo. Esta compilação de vários documentos relevantes e de tipologia diferente, utilizados para a realização da tradução e da base de dados terminológica, serviram também para a reflexão crítica sobre as metodologias aplicadas e para a clarificação dos problemas tradutológicos encontrados. O *corpus* escolhido surge, assim, como o objeto ideal para ser analisado neste projeto de Tradução Especializada, porquanto permite integrar uma grande parte dos conceitos e técnicas de tradução que adquirimos durante o nosso percurso académico: para o estudo e análise de um tema deve recorrer-se a obras de especialidade, tradução, ferramentas CAT, terminologia e revisão.

Este *corpus* compõe-se de vários documentos. O primeiro artigo escolhido – *Patologias Neurodegenerativas, o caso particular da Doença Machado-Joseph* – constitui uma breve sinopse descritiva da doença, em que se caracteriza alguns aspetos da doença, destinada principalmente ao público em geral.

O segundo e o quarto documento correspondem a dois capítulos, nomeadamente ao capítulo VII “*Doença de Machado-Joseph: que futuro?*” e ao capítulo VIII “*Considerações finais*” retirados de uma “obra” considerada de referência na biblioteca de qualquer pessoa que estuda esta doença, nomeadamente “*Doença de Machado-Joseph*” que consiste num estudo clínico, patológico e epidemiológico de uma doença neurológica de origem portuguesa” da autoria de Paula Coutinho.

Dada a extensão da obra e as limitações de um trabalho desta natureza, foi necessário optar por alguns dos capítulos. O capítulo VII aborda o futuro sobre esta ataxia

espinocerebelosa. A parte dedicada às “considerações finais” apresenta ela uma síntese dos diferentes estudos apresentados ao longo do livro, que permite

Refletir sobre diversos problemas ligados à DMJ, clarificando vários dos conceitos apriorísticos que sobre ela tinha criado e criando bases para algumas especulações.

(Coutinho, 1993: 223)

O capítulo VII foca mais particularmente a procura de uma terapêutica, e o facto que ainda falta muito antes de se atingir este objetivo, conforme realçado neste mesmo capítulo:

Seguindo a evolução da investigação atual nas mais variadas doenças genéticas, é evidente que o passo seguinte no estudo da DMJ terá de ser, inevitavelmente, a descoberta de um marcador genético.

(Coutinho, 1993: 214)

A escolha destes dois capítulos justifica-se pelo facto de que, em conjunto, funcionarem como uma análise mais específica e aprofundada da DMJ.

Além disso, com o segundo documento escolhido, nomeadamente o capítulo VII, propomos pôr em paralelo a pesquisa efetuada sobre a doença ao analisar a evolução e investigação, quase 20 anos depois, a partir de uma dissertação de Mestrado da Universidade dos Açores realizada em 2011 - *Doença de Machado-Joseph: Análise da região 3'UTR do gene ATXN3* -, da autora Marta do Rosário Cristino Silva Ventura, que aborda especificamente a variação genética na região 3'UTR.

Estes quatro documentos que constam no *corpus* serão analisados de maneira mais aprofundado no capítulo 5.

Além disso, cabe acrescentar que este *corpus* não foi escolhido por acaso, havendo um encadeamento lógico entre os diferentes documentos que segue uma estrutura tripartida já pré-definida, levando a um itinerário coerente: introdução-desenvolvimento e conclusão sendo o artigo do diário Açoreano uma abordagem a doença, o capítulo VII e a dissertação de Mestrado que nos propusermos traduzir constitui uma análise muito específica e pormenorizada. Por fim, a secção dedicado as “considerações finais” é uma espécie de síntese sobre a doença.

A execução da tradução dos textos selecionados representou um verdadeiro desafio, pois as fontes bibliográficas, em francês, são praticamente inexistentes. No entanto, através o conhecimento que fomos adquirindo ao longo da nossa investigação, tornou este tema menos incompreensível, pois, quando aliado a um espírito curioso e ambicioso, a compreensão de um tema torna-se de facto acessível. Foi, desta forma, necessário realizar um levantamento terminológico e debruçarmo-nos sobre ele antes de iniciar a tarefa da tradução. Deste modo, completámos a nossa tradução graças à criação de uma base de dados terminológica com os termos que nos causaram problemas mais relevantes.

No entanto, a tarefa não se revelou muito fácil, pois não existem livros, nem sequer artigos, redigidos em francês, inteiramente dedicados à DMJ. Apenas encontramos um artigo científico de oito páginas, justamente da autoria de Paula Coutinho e Jorge Sequeiros, intitulado “Aspects cliniques, génétiques et pathologiques de la Maladie de Machado-Joseph”, datado de 1981, que adquirimos através da Pubmed, por um preço de 25€. Encontrámos informações em sites da Internet tendo sido necessário alguma diligência e confirmação quanto à fidelidade dos seus conteúdos. Com efeito, tratava-se, apenas, de breves capítulos ou de simples referências em obras que abordam áreas de conhecimento mais vastas. Também consultámos livros de especialização e dicionários de medicina que se revelaram uma ajuda preciosa (cf. ponto 3 do capítulo 7) Para além destes recursos, devemos sublinhar a ajuda indispensável de profissionais da área em questão, nomeadamente a Doutora Perrine Charles (cf. ponto 1 do capítulo 7).

2. Objetivos

Neste processo, podemos definir dois tipos de objetivos: os gerais e os específicos.

Os objetivos gerais deste trabalho são, acima de tudo, enriquecer e aprofundar os nossos conhecimentos ao explorar as competências tradutológicas através de um projeto de tradução especializada feito de raiz e dotá-la de conhecimentos científicos avançados na área elegida para a realização deste projeto.

Além disso, permite mostrar como um tradutor se torna especialista numa área determinada mostrando quais os métodos e ferramentas utilizados durante todo o processo assim como as dificuldades encontradas e formas de as resolver.

Os objetivos mais específicos prendem-se com a finalidade propriamente dita deste projecto, focando especialmente a sua utilidade futura. Assim, este projeto tem como principal objetivo divulgar o trabalho realizado em Portugal acerca desta doença originária dos Açores e, desta forma, contribuir para uma maior difusão da informação científica disponível acerca da doença no país gaulês. O facto de a doença se ter disseminado rapidamente, e com um foco em França, levou-nos a tentar participar, de modo ativo, na divulgação da informação acerca da doença. A abordagem desta temática tornou-se, pois, pertinente uma vez que facilitará o trabalho dos profissionais com formação, pois a informação encontra-se toda reunida e será de mais fácil acesso. Apesar encontrarmos alguns artigos de imprensa ou algumas informações gerais sobre a doença, tal não se verifica no que diz respeito a artigos científicos de cariz mais pormenorizados em francês.

Assim sendo, permitirá ajudar no avanço científico futuro e combater uma lacuna visível acerca desta doença, no domínio da língua francesa. Por mais que tenham conhecimentos de inglês, sendo a língua que rege a investigação acerca da doença, o inglês mais técnico tem outra dificuldade relativamente à compreensão total do conceito em questão; daí, as traduções e base de dados terminológica serem tão úteis.

De um ponto de vista mais prático, este projeto poderá tornar-se num auxílio e apoio aos tradutores e especialistas que pretendam debruçar-se sobre o assunto, o que permitirá contribuir para um maior e melhor conhecimento científico, em língua francesa face a esta doença rara, pois trata-se de um campo de pesquisa e interesse crescente.

3. Doença de Machado-Joseph: breves considerações

Sem pretendermos repetir o que já está claramente exposto no nosso *corpus*, é, no entanto relevante salientar alguns pontos acerca da doença para perceber porque se optou por este tema. Com efeito, o facto de ser uma doença rara e de origem portuguesa juntamente com a “Polineuropatia Amiloidótica Familiar” (também conhecida como doença dos pezinhos), faz com que Portugal se tenha tornado no maior foco mundial para ambas as doenças, sendo necessário um apoio particular na área da prevenção e do aconselhamento genético. Apoiando-nos em Coutinho e Sequeiros, a doença foi inicialmente descoberta na década de 70 com a primeira descrição que data de 1972.

Tratava-se de uma família luso-americana emigrada originária dos Açores.

Curiosamente, tal despertou um interesse médico não só a nível nacional, mas também a nível internacional. Isso deve-se, provavelmente às influências luso-americanas ou talvez também à polémica gerada em termos de definição clínica, sendo considerada na altura como “nova”, pois tratava-se de uma doença tão particular dentro das ataxias hereditárias. A identificação e a clonagem do gene ocorreram em 1994 e foi efetuada por Kawagushi e colaboradores.

A descoberta desta alteração genética levou à implementação de:

- Teste pré-sintomático;
- Diagnóstico pré-implantatório;
- Diagnóstico pré-natal.

Em 1996, foi criada, em Ponta Delgada, nos Açores, a “Associação Atlântica de apoio ao doente Machado-Joseph” que tinha por objetivo, apoiar os doentes. Nesse mesmo ano, surgiu o Programa de Aconselhamento genético mas também o Teste preditivo que foi alvo de grande adesão.

Ao longo dos anos, notou-se um crescente interesse por parte dos investigadores e médicos e, mais recentemente, dos meios de informação, na divulgação da DMJ que tem sido investigada em todo o mundo, em particular nos últimos cinco anos. Os estudiosos têm-se preocupado em entender a instabilidade da mutação relacionada com o comportamento do gene e, obviamente, em descobrir uma terapia para uma eventual cura.

II. Metodologia de trabalho

“(...) the act of translation is an act of transformation of language and of its poetic forms.”

(Portela, 2003: 5)

A tradução é um processo não-linear, envolvendo um conjunto de ações por parte do tradutor, pelo que, antes de iniciar este projeto, foi importante definir a metodologia a seguir. Tendo em conta as características do *corpus* de partida, mas também os objetivos deste projeto, escolhemos como metodologia de trabalho para o processo tradutivo, o modelo de Gouadec. Sendo este um modelo concebido para o contexto profissional, engloba um conjunto de operações tais como o contacto com o cliente e a gestão, que não se aplicam neste projeto desenvolvido num contexto académico, embora este projeto possa ser proveitoso para o público-alvo em questão (cf. capítulo 4). Este último propõe um modelo em três fases que organiza a metodologia do tradutor:

The activities involved in providing a translation service organised into three phases:

1. Pré-translation
2. Translation
3. Post-translation.

(Gouadec, 2007:12-13)

1. Pré-tradução

A fase da pré-tradução consiste numa fase preparatória essencial no processo tradutológico, que dará origem ao ato de tradução, mas não menos importante pois terá impacto na qualidade final do projeto. Tal como Gouadec a define, a fase de pré-tradução consiste num:

Ensemble des activités conduisant à la mise en place de tous les éléments nécessaires à la traduction (compréhension du document, recherche d'informations, mobilisation de la terminologie et de la phraséologie nécessaires à la préparation du matériau à traduire)

(Gouadec, 2002: 59)

De acordo com o autor, esta fase inclui também todos os aspetos relativos à gestão e os de cariz administrativo, como os contactos cliente/tradutor, elaboração de orçamentos, sendo que estes não se aplicam ao nosso projeto. No nosso caso, tendo em conta que se trata de um projeto no âmbito académico, o papel de cliente é aqui representado pelos orientadores científicos do nosso trabalho.

Nesta fase, procedemos então à pesquisa e investigação inicial. Dado ser um *corpus* muito especializado, foi-nos essencial analisar elementos estruturais e estilísticos no texto de partida, assim como a especificidade do vocabulário. O facto de nos interessarmos por textos com construções frásicas algo complexas e vocabulário muito técnico e especializado, tal exigiu um grande investimento da nossa parte para se tentar compreender muitos mecanismos dos quais destacamos a reação em cadeia da polimerase e o processamento de junção de exões. Para tal, a consulta de textos paralelos para ajudar à compreensão e um levantamento de dúvidas que surgiram no texto de partida revelaram-se ajudas preciosas, de modo a evitar contrassensos e outras fragilidades tradutológicas com o objetivo de nos familiarizarmos com o domínio de estudo, obter uma visão mais abrangente e garantir a qualidade do texto de chegada.

Desta forma, recolhemos informação relevante acerca da Doença de Machado-Joseph e compilámos textos de origens diversas, a propósito dos tópicos presentes no nosso *corpus*, referentes aos diversos aspetos que envolvem o Sistema Nervoso Central, posteriormente integrados no Livedocs do programa memoQ (cf. ponto 3.5.1) para serem consultados em paralelo durante o processo de tradução. Foi, assim, possível garantir uma compreensão funcional do nosso *corpus* bem como esclarecer alguns conceitos e termos.

2. Tradução

A tradução existe desde há longo tempo, mas apenas muito recentemente, nomeadamente no século XX, se começou a assistir à sua manifestação como área

pluridisciplinar, pois a tradução nasceu da vontade dos homens de comunicarem com outros povos de línguas diferentes. Assim sendo, a tradução tem vindo a desempenhar um papel crucial em que o tradutor tem de pôr em prática várias competências em simultâneo, de entre as quais se destacam os seguintes aspetos: intercultural, linguística, estratégica e de investigação.

Sendo a tradução uma forma de interpretação, Jakobson reconhece a existência de três tipos de tradução:

- 1- La traduction intralinguistique est "l'interprétation de signes verbaux par le biais d'autres signes du même langage".
- 2- La traduction interlinguistique est "interprétation de signes verbaux par le biais d'autres signes du même langage".
- 3- La traduction intersémiotique est "l'interprétation de signes verbaux par le biais de signes issus de systèmes de signification non verbaux".

(*apud* Mathieu Guidère, 2008: 58)

Seguindo o que preconiza Jakobson, procedemos a uma tradução interlinguística, isto é, a uma tradução propriamente dita, de uma língua para outra.

Gouadec indica que esta fase de tradução se compõe de três etapas a serem executadas por esta ordem: a pré-transferência, a transferência e a pós-transferência.

Na pré-transferência, considera-se a preparação das condições necessárias para iniciar a transferência, como a criação ou atualização de memórias de tradução ou a elaboração de glossários. Deste modo, e paralelamente a toda a pesquisa executada durante a fase de pré-tradução, elaboramos *a priori* grande parte da nossa base de dados, pois esta foi criada especialmente para apoio a tradução e foi sendo construída de modo gradual durante o processo de transferência, tendo a tradução sido definitivamente organizada e finalizada apenas numa fase posterior, graças, também, a ajuda crucial de uma especialista na área (aspeto que focaremos no capítulo 7 deste trabalho).

A transferência e a pós-transferência fazem referência a tradução em “bruto”. A partir da nossa base de dados, procedemos a passagem de um sistema linguístico-cultural para outro, ou seja, do texto de partida, em português para o texto de chegada, em francês. Sendo um *corpus* de carácter científico, com terminologia altamente especializada, a tarefa de tradução revelou-se algo difícil.

A etapa da pós-transferência diz respeito, especificamente, a parte da finalização da tradução e engloba a revisão e correção ortotipográfica do material produzido, incluído a verificação dos erros que possam ter passado despercebidos ao tradutor, verdadeira etapa de controlo de qualidade.

3. Pós-tradução

Post-translation includes all the tasks that are carried out after the material has been translated and its quality checked.

(Gouadec, 2007:25)

Trata-se da última fase onde ocorrem as derradeiras tarefas a efetuar antes da entrega da tradução final ao cliente, nomeadamente a formatação e edição. Pode também incluir-se a organização dos meios de apoio à tradução para uma utilização num futuro projeto, no nosso caso, uma base de dado terminológica.

4. Calendarização: ilustração com o gráfico de Gantt

No intuito de facilitar a compreensão do modo como a metodologia foi aplicada no nosso trabalho, elaborámos um gráfico de Gantt, indicando as diferentes etapas que geriram o projeto e os prazos estipulados numa fase anterior e que teriam de ser respeitados. Desse modo, procurámos, com este projecto, trabalhar com rigor na progressão do trabalho já que se trata de uma qualidade indispensável para um bom tradutor, pois os prazos de entrega de produtos finais são geralmente demasiado curtos, o que obriga o tradutor a trabalhar rapidamente mas mantendo sempre uma boa qualidade.

Assim, não há uma metodologia que prevaleça sobre outra, o essencial é que o tradutor siga uma metodologia que considere a mais eficaz por si próprio consoante o projeto e o prazo de entrega, pois é essa metodologia que irá determinar grande parte da qualidade da tradução. Com o intuito de se familiarizar com o futuro próximo, trabalhámos

quase diariamente para finalizar num prazo razoável, e não deixar arrastar meses e meses, a parte da tradução e terminologia que não reflete o quotidiano de um tradutor profissional.

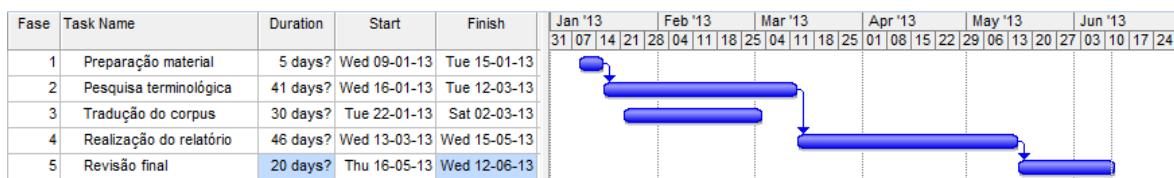


Figura 1: Calendarização a partir do gráfico de Gantt

5. Ferramentas

Este capítulo visa descrever as ferramentas utilizadas na parte prática deste projeto, no que diz respeito à formatação, terminologia e principalmente à pesquisa e tradução. Hoje em dia, a grande maioria dos tradutores usa vários programas ou ferramentas que se tornam indispensáveis no universo tradutológico. Exemplos disso são os motores de pesquisa, programas de gestão terminológica e de memórias de tradução, benéficos para a tradução especializada, nomeadamente na parte da gestão terminológica o que permitirá acelerar o processo de tradução.

Ao iniciar um projeto de tradução, seja ele qual for, o tradutor tem de realizar uma pesquisa global sobre a área específica na qual se insere o texto de partida para poder adquirir um conhecimento genérico, o que será benéfico na compreensão e tradução do texto de partida. Por tal facto, utilizámos o motor de pesquisa *Google* que oferece as mais diversas fontes, passando de páginas altamente especializadas que disponibilizam hiperligações para sites de interesse ou páginas de instituições e, em geral, sites de divulgação. No entanto, há que ser cauteloso com as fontes (cf. capítulo 6).

5.1. memoQ

Para a realização da tradução, recorreremos à ferramenta de tradução memoQ. A nossa escolha recaiu sobre esta ferramenta por esta possuir um ambiente com tudo integrado o que o torna intuitivo facilitando o trabalho do tradutor. Acresce o facto de não dispormos do Trados, no nosso computador, devido ao seu custo oneroso. Optar por esta última ferramenta implicava deslocações regulares e numerosas ao campus universitário sempre que houvesse necessidade de trabalhar no projeto, acarretando custos adicionais e limitação temporais. O memoQ pode ser adquirido pelos estudantes por um custo módico rondando os 100€, com tudo incluído.

Convém realçar que hoje em dia se torna importante trabalhar com uma ferramenta de tradução que permita rapidez e coerência. Tanto o SDL Trados Studio como o memoQ foram utilizados durante a formação académica, permitindo-nos, assim, adquirir bases sólidas sobre o memoQ, também graças ao uso feito nas diversas experiências profissionais, em particular durante o estágio que efetuámos no 1º ano de Mestrado. Pelas razões enunciadas, optámos por esta ferramenta em detrimento de outras possíveis.

Trata-se de um software completo da empresa húngara Kilgray que possui todas as ferramentas necessárias para a realização deste projeto e isto num só ambiente de trabalho, o que permite resultados imediatos da memória de tradução, base de dados terminológica, *corpus* e dicionário *online* enquanto o tradutor prossegue a sua tradução.

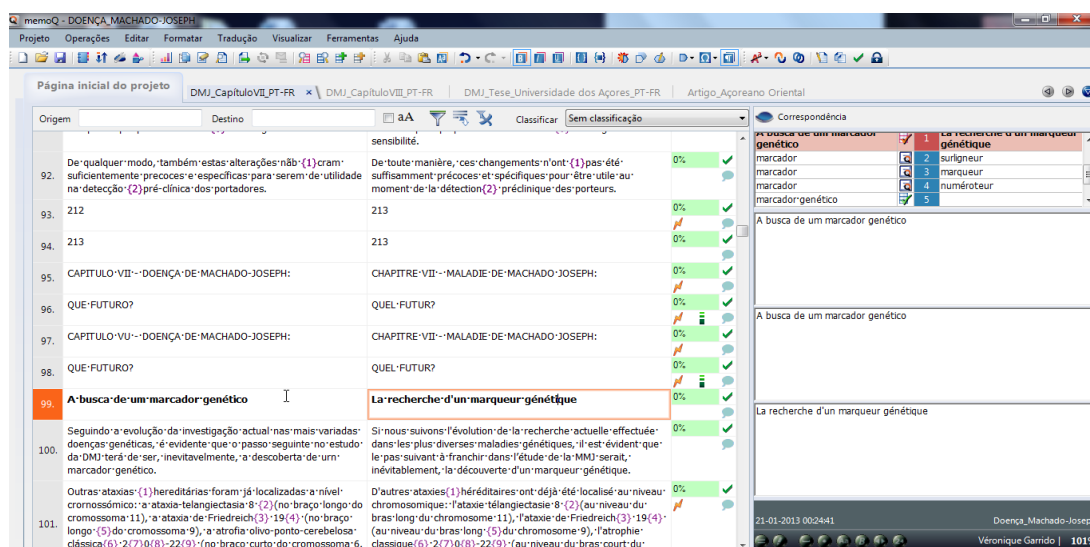


Figura 2: Aspeto do memoQ durante a realização da tradução

Nesta ferramenta, o texto de partida e de chegada encontram-se divididos em duas colunas, esquerda e direita respectivamente. Na parte inferior, encontra-se reproduzido o documento com a aplicação da tradução em tempo real. A janela do lado direito corresponde à base de dados terminológica e à memória de tradução sendo a cor vermelha destinada a assinalar os segmentos que fazem parte da memória de tradução, a cor azul com um visto corresponde aos termos presentes na base de dados terminológica; e a cor azul com a letra Q do logotipo memoQ refere-se ao termo com a sua tradução na língua de chegada tirada do dicionário *online* Eurobank; a cor de laranja representa as partes do segmento que se encontram já traduzidos no documento.

Criar um projeto torna-se, desta feita, muito fácil. O primeiro passo consiste em atribuir uma designação ao projeto, seleccionar as línguas de partida e de chegada e toda a informação adicional ao projeto: domínio, assunto, descrição, criador e data de criação. No passo seguinte, adiciona-se o documento. No entanto, o memoQ não suporta ficheiros PDF, pois infelizmente não existe ainda ferramentas CAT TOOLS suficientemente avançadas para trabalhar em tempo real, diretamente com este tipo de ficheiro. Foi então necessário converter o texto para outro tipo de ficheiro, no nosso caso, em Word, porque este consegue conservar ao máximo os vários elementos extratextuais: cabeçalhos, colunas, caixas de texto, legendas, tabelas, gráficos, tipos de letra. Para tal, utilizámos o programa OmniPage Professional 15.0.

O texto foi assim processado e, a seguir, verificámos se cada segmento correspondia a uma frase. Quando tal não se verificou, juntámos os diferentes segmentos para formar um só, ou seja, uma frase. No terceiro passo, criámos uma memória de tradução para, em seguida, procedermos à criação da base de dados terminológica.

Durante esta fase, adicionámos a nossa base de dados em formato Excel efetuada na fase de pré-tradução. Este ficheiro Excel incluía os termos que foram seleccionados a partir do processo de extração de terminologia do memoQ. Esta função do memoQ fornece-nos dados estatísticos acerca do documento a traduzir e propõe uma lista de termos que aparecem mais vezes no documento e o respectivo número de ocorrências. A esta lista, acrescentámos manualmente, outros termos não detetados pela ferramenta como potenciais candidatos. A memória de tradução e a base de dados terminológica podem ser reutilizadas em futuros projetos. Após ter seguido os passos principais para se poder iniciar o nosso

projeto de tradução, decidimos ainda acrescentar um *corpus* de apoio consistindo este numa minibiblioteca composta por material disponível *online* e que recolhemos aquando da elaboração da base de dados terminológica, por serem pertinentes e de grande utilidade na compreensão do contexto no qual determinado termo se inseria.

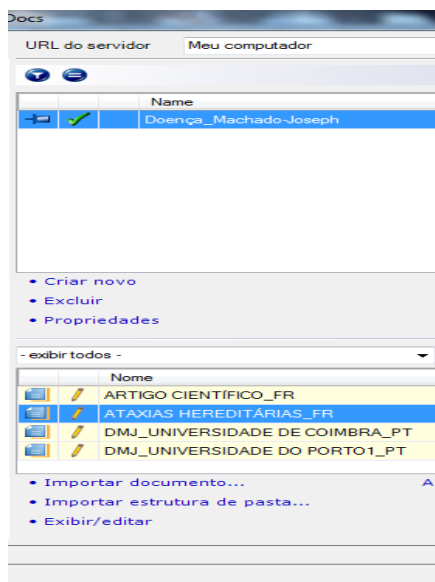


Figura 3: Aspeto do *corpus* de apoio no memoQ

O *corpus* compõe-se de 4 textos, como se pode verificar na figura 2, dois dos quais estão redigidos em português e correspondem a dissertações de Mestrado sobre a DMJ, uma da Universidade de Coimbra e outra da Universidade do Porto. Os outros dois documentos, redigidos em língua francesa, abordam a questão das ataxias hereditárias através de uma parte muito restrita, sobre a DMJ; um desses dois textos, datado de 1981, corresponde ao único artigo científico publicado em francês da autoria de Paula Coutinho e Jorge Sequeiros.

No que diz respeito à edição das imagens, utilizámos o programa Photoshop, versão CS5 v12.0.3, a fim de substituir as designações pelas correspondentes em francês, pois um dos aspetos que tivemos de considerar foi o facto de os textos de chegada deverem estar de acordo com a estrutura dos textos de partida, de modo a ser o mais fiel possível ao original.

III. Análise e caracterização do *corpus*

Na concretização deste projeto, optámos pela tradução de vários documentos que se complementam. Contudo, embora desenvolvam uma temática comum, apresentam diferenças significativas a nível da estrutura pelo que se revela pertinente proceder a sua análise.

1. O artigo “Patologias Neurodegenerativas”, o caso particular da Doença Machado-Joseph

Este artigo, “Patologias Neurodegenerativas”, constitui um dos textos selecionados como base deste projeto. Foi extraído do diário comercializado nos Açores: “Açoreano Oriental”, de 6 de fevereiro de 2011. A autora, Conceição Bettencourt, é investigadora na Universidade dos Açores e apresentou a sua tese de doutoramento sobre a DMJ, tornando-se, assim, como uma das personalidades que mais se dedicam à investigação sobre a doença, juntamente com outra investigadora da Universidade dos Açores, a Doutora Manuela Lima, de quem falaremos mais adiante.

O artigo veicula informação de teor informativo acerca da doença de Machado-Joseph, designadamente no que se refere ao quadro clínico, bem como a dados relativos à própria doença no que concerne a investigação e outros esclarecimentos. Pertence, neste caso, ao género textual de carácter técnico-informativo, no sentido em que divulga a doença, permitindo ao leitor acompanhar a evolução da investigação que está a ser feita. Tratando-se de um artigo de jornal, este respeita regras de estrutura. Desta forma, é formado por colunas e recorre a um registo cuidado mas acessível para o principal público-alvo, que é aqui a “população”, tornando-se assim acessível a um público alargado. Apresenta também uma estrutura própria de um artigo de jornal, começando com um título algo apelativo e destacado a negrito e com caracteres maiores. O texto de introdução dá-nos uma definição muito breve do que é a DMJ, seguindo-se o desenvolvimento (o corpo do texto) que se compõe de frases bastantes curtas e palavras simples e concretas para

imprimir um certo ritmo ao artigo. As palavras de ligação tais como “contudo”, “no entanto”, assim como a utilização de verbos ativos, no presente do indicativo, conferem uma maior cadência ao artigo e tornam mais reais os factos. Além disso, colocar, logo no início, perguntas, produz uma real dinâmica no artigo. A imagem serve, aqui, de ilustração ao tema e compõe-se de três realidades: A primeira é um heredograma que representa a árvore genealógica numa família com as 4 gerações. As mulheres estão representadas por um redondo e os homens por um quadrado. Quando este está colorido a preto, tal significa que está infectado; quando aparece riscado, isso significa que a pessoa já faleceu. Temos também uma proteína numa estrutura tridimensional que corresponde à ataxina-3. Por fim, temos um electroferograma com a sequência 410 e 420 (número de base) que nos permite saber o genótipo.

O artigo tem como finalidade informar, mais ainda, familiarizar a população com esta realidade, que é um problema de saúde pública nos Açores, e clarificar alguns conceitos relacionados com a doença, descrevendo a história clínica com inclusão de sintomas, manifestações, causas e uma parte dedicada à investigação desenvolvida.

Tendo uma finalidade de divulgação, isso explica que a gíria médica tenha sido substituída aqui por uma linguagem mais simples, através de explicações, de modo a poder ser compreendida por um vasto público não especializado.

2. Capítulo VII e VIII - livro “Doença de Machado-Joseph”

Ambos se referem ao livro cuja autora é Paula Coutinho, que se deslocou juntamente com o Doutor Corino de Andrade, primeiro cientista a identificar e caracterizar como nova entidade nosológica a polineuropatia amilóide familiar, aos Açores, em 1976, ao encontro dos doentes. Após ela ter ganho o Grande Prémio Bial de Medicina, em 1992, o livro foi publicado no ano seguinte, em 1993. Este livro representa o culminar de vários estudos realizados, nomeadamente clínico, patológico e epidemiológico e contém também uma parte mais histórica. Conforme já foi mencionado anteriormente, é considerada a “obra” de referência, amplamente consultada na investigação da doença. O capítulo VII refere-se mais particularmente ao futuro da doença, em especial às tentativas de tratamento, à prevenção, à deteção de portadores, à busca de um marcador genético, à permeabilidade das pessoas em risco, ao aconselhamento genético. O capítulo VIII, intitulado “considerações finais”, faz uma síntese sobre os conceitos vistos através dos

diferentes estudos sobre o quadro clínico. Estes capítulos veiculam informação de teor muito especializado e ao mesmo tempo generalista e fazem parte do género textual de carácter técnico-científico. Têm uma estrutura acessível e bem definida com subpartes caracterizadas por um título e em negrito seguido do desenvolvimento das respetivas subpartes. Tratando-se de um estudo muito específico, a gíria médica está aqui plenamente exposta daí o principal público-alvo ser um leitor especializado.

3. Dissertação de Mestrado - *Doença de Machado-Joseph: Análise da região 3'UTR do gene ATXN3*

O terceiro documento escolhido refere-se a uma dissertação de Mestrado da aluna Marta do Rosário Cristino Silva Ventura. Foi realizada no âmbito do Mestrado em Ciências Biomédicas, em 2011, sob a orientação da Doutora Manuela Lima que é a investigadora de “referência” sobre a Doença de Machado-Joseph, na Universidade dos Açores.

O que nos conduziu a escolher esta dissertação e não outras disponíveis na Internet foi o facto de a autora usar o ADN genómico de doentes DMJ que vivem justamente nos Açores, de onde a doença é originária. A tipologia textual deste documento revela um especial relevo, seguindo regras de apresentação e um índice muito restrito, sobretudo pela restrição formal a nível de citação, relacionáveis com um trabalho académico deste tipo. Com efeito, o presente trabalho académico implica uma apresentação expositiva-argumentativa de um conjunto de resultados obtidos de maneira experimental e alguns apenas teóricos e procura comprovar a hipótese levantada pela questão colocada no início.

Os resultados experimentais encontram-se no IV capítulo, intitulado “resultados e discussão”. Estes resultados procuram testar a hipótese levantada logo de início. Dado que a parte experimental é altamente especializada, recorre-se a uma linguagem de forte cunho denotativo com um elevado grau de formalidade e de convencionalismo, como é o caso na especialidade técnico-científica. No que se refere à parte funcional, esta dissertação de Mestrado apresenta uma orientação híbrida de carácter argumentativo.

O objetivo é, não só divulgar os conteúdos científicos, mas também comprová-los através de resultados apresentados com persuasão e probatória. Uma dissertação de Mestrado em ciência tem uma estrutura predefinida e invariante. Segundo Peh (2008:497)

cada parte que compõe a macroestrutura da dissertação de Mestrado encontra-se orientada de forma a responder as seguintes perguntas:

<p>Introdução</p>	<p>O que foi colocado?</p>	<p>De que forma as regiões reguladoras do gene <i>ATXN3</i>, em particular a 3'UTR, podem influenciar os níveis de expressão do mesmo, contribuindo para uma variabilidade na idade de início da doença.</p>
<p>Métodos</p>	<p>O que foi estudado?</p>	<p>Foram sequenciados e analisados os exões 10 e 11 do gene <i>ATXN3</i>, que correspondem à 3'UTR, em amostras de doentes com DMJ e saudáveis.</p>
<p>Resultados</p>	<p>O que se encontrou?</p>	<p>Foram encontrados 10 polimorfismos, correspondendo a 10SNPs, sendo estes coincidentes em ambos os grupos de estudo.</p> <p>Verificou-se que não existiam diferenças nas frequências genotípicas e que as sequências consenso para os sinais de poliadenilação não são eliminadas nem adicionadas.</p>

<p style="text-align: center;">Discussão</p>	<p style="text-align: center;">O que significam os resultados encontrados?</p>	<p>Pode concluir-se que a variação deste gene na 3'UTR não ocorre apenas nos doentes e que a poliadenilação desta região não está relacionada com a regulação da sua expressão. Além disso, este estudo permitiu uma melhor compreensão das bases moleculares desta doença e os dados gerados podem vir a ser usados, posteriormente, em estudos de variação genética nas regiões reguladoras deste gene.</p>
---	--	---

Tabela 1: Estrutura da dissertação de Mestrado

Contém também um resumo que serve aqui de introdução sumária do que se vai abordar na dissertação de Mestrado e de um capítulo sobre a pertinência e os objetivos do trabalho. O resumo contém frases curtas, concisas e objetivas, pois é a partir deste que o leitor decide se vai ou não ler a dissertação de Mestrado. Quanto aos capítulos “Resultados” e “Discussão”, estes encontram-se agrupados num só.

No que se refere à terminologia utilizada, emprega-se uma ampla gíria científica, muito complicada para quem não é da área. Daí que a base de dados terminológica que criámos neste projecto, nos dê uma amostra da complexidade terminológica, o que obviamente dificulta a compreensão do leitor não especialista.

Por fim, acrescentamos que, por razões de segurança, não se traduziu a página de rosto, a segunda página e a dos agradecimentos uma vez que este nosso projecto, a breve trecho, estará disponível *online*, sendo que qualquer pessoa poderá ter acesso a estes documentos e utilizar essa nossa tradução para fins comerciais ou outros.

IV. Público-alvo

Os documentos que escolhemos como base no nosso projeto pertencem a três fontes diferentes e apresentam características diversas. Tal pressupõe, desde logo, que não se destinam ao mesmo público, mas que existe um amplo grupo de destinatários, como será descrito mais adiante, de acordo com os diferentes textos que traduzimos.

1. O artigo “Patologias Neurodegenerativas, o caso particular da Doença Machado-Joseph”

Este artigo foi tirado do diário “Açoreano Oriental” fundado em 1835 e constitui o mais antigo jornal português. Trata-se de um meio de divulgação dirigido à população açoriana em geral, qualquer que seja a idade e grau de literacia. Estando também disponível na Internet⁴ pode-se afirmar que qualquer pessoa interessada pode ter acesso ao mesmo. Podemos, deste modo, afirmar que é dirigido a um vasto público não especializado com o objetivo de ter uma síntese global sobre a doença.

2. Capítulos VII e VIII/ Dissertação de Mestrado - *Doença de Machado-Joseph: Análise da região*

Os três outros documentos que constituem o nosso *corpus* pressupõem desde logo, um grupo de destinatários/leitores mais vasto e específico.

Dado tratar-se de documentos que abordam a temática de maneira mais pormenorizada, pode subentender-se que se dirigem mais especificamente a especialistas da área ou profissionais. No entanto, ambos os documentos se encontram disponíveis *online*, pelo que podemos afirmar que qualquer pessoa, não necessariamente profissional, pode ter acesso a estes documentos. Por isso, estes documentos, podem atingir um grupo

⁴ <http://www.acorianooriental.pt> [Última consulta em maio de 2013]

de leitores muito mais amplo e geral que se caracteriza por pessoas principalmente especializadas.

Dessa forma, tentaremos analisar, de maneira mais pormenorizadas, os possíveis destinatários dos documentos, isto é, especialistas da área e investigadores, profissionais de saúde, estudantes, doentes e público em geral.

2.1. Especialistas da área / Investigadores

Parece mais do que óbvio que estes artigos são dirigidos a especialistas que trabalham diretamente com a doença, nomeadamente médicos especializados em neurologia, em particular na doença, mas também àqueles que realizam investigação sobre esta última, podendo incluir investigadores na área que estão, permanentemente, em busca das novas descobertas sobre a doença.

2.2. Profissionais de saúde

Ainda que estes documentos sejam mais destinados a especialistas, também podemos deduzir que estes documentos podem despertar interesse para parte de outros profissionais do ramo da saúde, tal como médicos e outros profissionais de saúde.

2.3. Professores

Os professores também podem interessar-se por estes documentos para se apoiarem no ensino e poder facultar as informações necessárias para aos estudantes aquando do momento de abordar a temática.

2.4. Estudantes

Os documentos interessam também, por certo, aos estudantes, já que se referem a doença que tem vindo a suscitar um grande interesse nos últimos anos a nível da pesquisa com o objetivo de tentar encontrar uma cura como é o caso dos estudantes dos laboratórios

da Universidade dos Açores, Coimbra e Porto, sendo estes os mais ativos na investigação da DMJ podendo incentivá-los a investigar mais sobre esta mesma.

2.5. Doentes

Este material também pode ser de grande importância para doentes de Machado-Joseph, dado que há pouca existência de material ou este é quase inexistente, quer em português quer em francês permitindo-lhes seguir a evolução da doença em termos de cura e de acompanhar todo o processo de pesquisa feito em torno da doença.

2.6. Público geral

A curiosidade e crescente interesse do ser humano por estas doenças raras é uma realidade que merece ser destacada neste projeto. Por isso, qualquer pessoa pode desejar saber mais ou alargar os seus conhecimentos acerca da doença. Nesta categoria também se pode incluir todas as pessoas que possam ser remetidas para estes documentos, já que se encontram *online*.

V. Terminologia

1. Considerações sobre a terminologia

O estudo da terminologia remonta a um passado tão longínquo que não se sabe a data certa do seu aparecimento. Trata-se, no entanto, de uma matéria recente que apareceu inicialmente nos séculos XVIII com os trabalhos de Linné na área da botânica e da zoologia e os desenvolvidos por Lavoisier e Berthold no domínio da química (Cabré,1993:21). Estes procuravam relacionar as denominações com conceitos científicos e foi então que se começou a traçar as bases por um modo sistemático de organização de termos. Isto estendeu-se durante o século XIX, pois o desenvolvimento das Ciências incitou à elaboração de regras de formatação dos termos nos vários domínios do saber.

No século XX, observa-se um aceleração do desenvolvimento científico e também o desejo de associar os nomes às noções respetivas e denominar novos conceitos.

Dessa forma, surgiu a Teoria Geral da Terminologia, iniciada por Eugen Wuster, que pretendia definir a relação unívoca entre o conceito e o respetivo termo. Esta surge então como auxílio indispensável na organização da informação de uma determinada área que vem resolver os problemas de comunicação, tal como Rey o esclarece:

As currently understood terminology is largely a practical activity which was developed to enable us to resolve immediate problems of expression and communication.

(Rey, 1995:23)

Assim, o nosso *corpus* constitui a base de material a partir da qual será possível o estudo da terminologia. Sendo um *corpus* específico, com uma quantidade apreciável de material especializado, a análise tornou-se mais objetiva. Deste modo, este último define a qualidade da nossa base de dados final: textos de caráter técnico e especializado.

2. Base de dados terminológica

Dada a temática especializada, a elaboração de uma base de dados terminológica revelou-se uma tarefa crucial, no âmbito de um projeto desta natureza, que incide na tradução especializada. Constituiu, também, um auxiliar inestimável para garantir coerência e consistência terminológica pois ajudou, tanto do ponto de vista da elucidação de certos termos como na coerência terminológica, ao longo de toda a tradução. Privilegiámos, assim, termos que apresentavam uma elevada densidade terminológica. Atendendo à complexidade dos termos, a base de dados foi completada, ainda durante o processo de tradução e depois desse processo.

Antes de começar uma atividade de tipo terminológico cabe refletir um pouco sobre os passos a percorrer. Antes de tudo, é essencial estabelecer objetivos iniciais. No nosso caso, foi criada com o intuito de se tornar num auxiliar útil aquando da tradução e, futuramente, para traduções da mesma área, pois o mercado de trabalho é muito competitivo e os prazos de entrega são geralmente muito curtos. Com o armazenamento de vários glossários, o tradutor consegue traduzir mais rapidamente, dado já ter uma parte da terminologia nas bases de dados terminológicas e não necessita de efectuar, de novo, a pesquisa de termos que já tinha realizado em traduções anteriores. Ao utilizar uma ferramenta de tradução, este processo torna-se ainda mais rápido. Além da mais-valia para o tradutor, poderá servir também para que os interessados que venham a consultar este projeto entendam estes conceitos e, ainda, para auxiliar outros tradutores ou destinatários.

Esperemos também que sirva de material de base, num futuro próximo, a ser completada, e que possa constituir um contributo para a harmonização terminológica e a gestão de informação com vista ao acesso à informação e transmissão de informação numa sociedade que tende a ser cada vez mais globalizada.

Tivemos também de identificar a área de especialidade, nomeadamente a neurologia, mais particularmente a doença neurodegenerativa de Machado-Joseph, e o público-alvo. Assim sendo, a elaboração desta base de dados terminológica consistiu em reunir, antes do processo de tradução, todos os termos técnicos mais pertinentes e com um certo grau de especificidade, para os quais tivemos de realizar pesquisas no sentido de entender o conceito, complexo para alguém não especializado na área, e encontrar a respetiva tradução na língua de chegada.

No entanto, termos especializados da área, tais como “cromossoma” ou “gene”, mais comuns e conhecidos do público em geral, não foram acrescentados nesta base de dados pois seria por si só um outro projeto apenas de terminologia. Segue uma amostra de alguns termos integrados na base de dados:

dégenérescência tapeto-retin	tapeto retinal degeneration	dégénérescence tapéto-rétinienne	Altération de nature héréditaire de la couche constituée de pigments au niveau de la rétine.	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/degenere-science-tapeto-retinienne
denaturação	denaturation	dénaturation	Processus qui consiste à séparer les deux brins complémentaires d'une molécule d'ADN en l'exposant à une température ou un PH élevé. C'est la rupture des liaisons hydrogènes entre les	http://www.lutetia-sciences.com/fr/definition/biologie-9/denaturation_128/
disantia	dysantia	dysarthrie	Trouble de l'expression du langage oral dû au trouble de l'articulation qui peut être pyramidal, extra-pyramidal, cérébelleux ou lié à une atteinte périphérique neurogène ou	http://gsk.cofl.gov.br/calicheCofl.aspx?Id_Fiche=17023206
disfagia	dysphagia	dysphagie	Sensation de gêne plus ou moins douloureuse se produisant au moment de la déglutition ou du transit œsophagien des aliments.	http://www.cofl.fr/definition/dysphagie
distrofia miofónica	myotonic dystrochi	dystrochie myotonique	Maladie génétique qui atteint principalement les muscles, entraînant une difficulté au relâchement musculaire après la contraction (myotonie) et un affaiblissement musculaire progressif. La maladie peut se révéler à tous les âges de la vie. et	http://www.insermed.fr/fichemaladie.htm?Id=103

Figura 4: Amostra de termos integrados na base de dados terminológica

Assim, extraímos, numa fase anterior à tradução, os termos mais pertinentes e com um grau de especificidade elevado para, posteriormente, os analisar e organizar todos os dados obtidos, reunindo-os numa tabela do Excel que foi depois exportada para o memoQ.

Convém realçar que, ao longo do processo de recolha de terminologia, foram surgindo obstáculos que nem sempre foram de fácil resolução. Foi então necessário ultrapassá-los resolvendo esses casos mais problemáticos. Para tal, recorremos a diferentes materiais de apoio à validação da terminologia, como veremos no capítulo seguinte.

A nossa base de dados insere-se no âmbito da neurologia. Assim de acordo com L’homme, a designação dada a um objeto pertence a um determinado domínio, ou seja, este termo é apenas válido para esta área, pois muitas vezes, dependendo da área, os termos não tem o mesmo significado. Com efeito, a prática tem demonstrado que a variação é frequente e que certos termos designam mais do que um conceito para diversas áreas de especialização. A título de exemplo, consta na nossa base de dados o termo “pellet” que pode ter vários significados. Na área da farmacêutica, trata-se de um “comprimido, nomeadamente de hormonas, para ser implantado sob a pele após uma pequena incisão, a fim de permitir a absorção muito lenta do princípio ativo. V. implante.”⁵ Se for, no

⁵ <http://medicosdeportugal.saude.sapo.pt/glossario/pellet> [Última consulta em maio de 2013]

contexto do nosso documento, como indicado aqui, trata-se da substância solúvel que se forma no fundo de uma solução após uma reação química.

Na tabela reproduzida abaixo, encontram-se os campos contemplados na base de dados terminológica. Cabe salientar que os termos estão organizados por ordem alfabética com o termo sempre no singular. Não se colocou maiúscula inicial para nenhum dos campos, exceto para a parte das definições já que se tratar de uma frase e não apenas de uma palavra.

1	TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
2	edonina	edonite	edénite		Esua parique coarbitrés des acides diacétophéniliques et ribosésiques, et de certains Acides diacétophéniliques qui contiennent le moléculaire support de l'inférence génétique	"Dictionnaire Médical de poche" (2007) Jacques Desvervilier
4	ADN	DNA	ADN		Médicament dont l'action réversible li l'acetylcholine. Un des plus d'insuline ou de plus, insulins li un résidu protéique sur le chromosome et qui influence l'expression d'un trait particulier. Fonctionner comme un	http://www.lmnc-scienc.com/746/inférence%20géné%20
5	agonista colinérgico	cholinergic agonist	agoniste cholinergique		Un des plus d'insuline ou de plus, insulins li un résidu protéique sur le chromosome et qui influence l'expression d'un trait particulier. Fonctionner comme un	http://www-gaia-net.com/20/medecine-citru-spectro-acta-actid-guim2f
6	ácido	acide	acide		composé et un des plus d'insuline coarbitrés des corps de Lewis, qui sont des inducteurs inépendants cytophéniques convergents dont la présence dans la substance active de trace catalytique le diagnostic de maladie de Parkinson et peuvent également être présents dans	http://www.ufat-saqlipad.com/Faq/FCF/2000000_Cours_ABM.pdf
7	alfa-oxetanos	alpha-oxetane	alpha-oxetane		Etat de l'information biologique continue dans les séquences génétiques et protéiques (séquences d'acides aminés). Une réponse à l'échelle de l'écologie ou à l'échelle de la transcription d'une séquence	Adapté de http://www.ucl.ac.uk/Document/ET/19/1927_0904_0016.pdf
8	análise biofarmácia	biofarmatic analysis	analyse biofarmaceutique			"Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et biofarmaceutique" (2008) G. Connolly, E. Khan et M. Kirby
9	anticolinérgico	anticholinergic	anticholinergique			"Dictionnaire Médical de poche" (2007) Jacques Desvervilier
10	ARN	RNA	ARN			Programmation génétique, comportement et cognition au psychisme (2006) Dominique Cugnieux

Figura5: Campos utilizados na base de dados terminológica

Termo português: Nesta parte, constam todos os termos selecionados no texto de partida.

Termo inglês: Compõe-se do termo equivalente na língua inglesa.

Termo francês: Contém o termo na língua de chegada.

Sigla: Tornou-se necessário criar este campo, dado aparecer siglas muitas vezes nos textos.

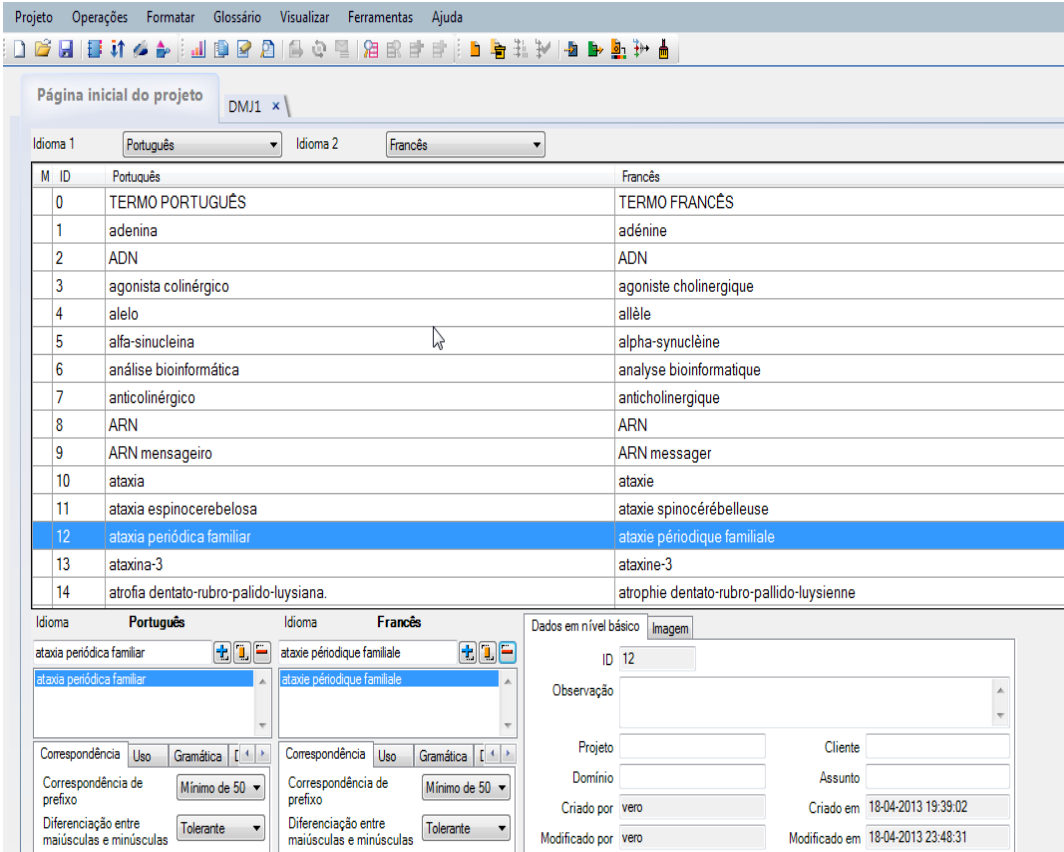
Definição: Apresenta-se a o significado conceptual do termo na língua de chegada.

Fonte: Refere-se o local de onde foi recolhida a informação inscrita.

A construção desta base de dados exigiu muito trabalho particularmente na língua francesa, devido à falta de informação, textos de referências ou bases de dados existentes. Eis a razão por que também optámos pela validação, por parte de uma especialista, como veremos no capítulo VII.

Optámos por apresentar a base de dados, que integra 116 termos, em formato Excel, já que antecipamos a sua futura consulta pública, sendo deste modo mais acessível a um vasto público. Encontra-se disponível na parte do apêndice.

Este ficheiro foi depois convertido em formato CSV e importado para a ferramenta de tradução utilizada, já que este formato é compatível com a mesma.



M ID	Português	Francês
0	TERMO PORTUGUÊS	TERMO FRANCÊS
1	adenina	adénine
2	ADN	ADN
3	agonista colinérgico	agoniste cholinergique
4	alelo	allèle
5	alfa-sinucleína	alpha-synucléine
6	análise bioinformática	analyse bioinformatique
7	anticolinérgico	anticholinergique
8	ARN	ARN
9	ARN mensageiro	ARN messenger
10	ataxia	ataxie
11	ataxia espinocerebelosa	ataxie spinocérébelleuse
12	ataxia periódica familiar	ataxie périodique familiale
13	ataxina-3	ataxine-3
14	atrofia dentato-rubro-palido-luysiana.	atrophie dentato-rubro-pallido-luysienne

Idioma	Português	Idioma	Francês
	ataxia periódica familiar		ataxie périodique familiale

Dados em nível básico	
ID	12
Observação	
Projeto	
Domínio	
Criado por	vero
Modificado por	vero
Cliente	
Assunto	
Criado em	18-04-2013 19:39:02
Modificado em	18-04-2013 23:48:31

Figura 6: Base de dados no memoQ apenas com o termo em português e francês

Cabe, aqui, justificar a nossa escolha de colocarmos o termo em inglês. Com efeito, não faz parte das nossas línguas de trabalho, no entanto, para muitos destes termos, sentimos a necessidade de utilizar o inglês já que está é a língua na qual praticamente toda a investigação é feita, daí ter grande relevância na nossa base de dados. Tal fica a dever-se à comunicação científica, pois tudo é realizado em inglês, apesar de a doença ser considerada portuguesa.

VI. Dificuldades e estratégias

Uma dos maiores problemas com que um tradutor se confronta consiste na complexidade da terminologia. Assim, o tradutor tem de possuir um conhecimento alargado da área de especialidade do texto que está a traduzir. De acordo com o humanista francês Étienne Dolet (1540:11-16), um dos primeiros escritores a desenvolver uma teoria de tradução, o tradutor tem de responder a 5 princípios:

1. O tradutor deve entender perfeitamente o sentido e a matéria do autor.
2. O tradutor deve conhecer profundamente a língua do autor e a língua na qual se propõe traduzir.
3. O tradutor não deve ser fiel a ordem das palavras mas sim ao sentido da frase.
4. O tradutor deve usar palavras de uso corrente na língua de chegada.
5. O tradutor deve manter a harmonia do discurso.

No entanto, a tradução perfeita não existe, pois o processo de tradução é complexo e contém muitos obstáculos que impedem que o tradutor cumpra a sua tarefa rápida e facilmente, tanto quanto seria desejável.

Nord (2005:174-7) propõe uma classificação para os obstáculos encontrados no processo da tradução. A autora distingue as dificuldades de tradução, que se prendem com a experiência do tradutor e o conhecimento que este tem sobre a área; aborda os problemas de tradução encontrados, mais diretamente ligados ao sistema linguístico e cultural com que o tradutor se propõe trabalhar; daí o tradutor ter de demonstrar diferentes competências: a intercultural, a discursiva linguística e a estratégica, sendo estas as mais solicitadas. Nord menciona ainda que existem problemas de tradução específicos de textos cuja solução apenas é válida para o texto em questão. A resolução dos problemas vai, neste caso, depender das competências do tradutor e do seu conhecimento a vários níveis, pois o tradutor deve ser, simultaneamente, um especialista da língua e um bom redator, o que se repercutirá na qualidade da tradução.

1. Qualidade

Para garantir o sucesso de um projeto, a qualidade da tradução torna-se imprescindível; daí a revisão final contribuir a um alto nível, pois, por vezes, o tradutor trabalha em diversas áreas sobre as quais, frequentemente, não possui uma especialização alargada que lhe permita elaborar uma tradução de qualidade.

Deste modo, e para estar de acordo com a Norma Europeia de Serviços de Tradução, EN 15038 (2006), que estabelece e define os requisitos para a prestação de serviços de qualidade, assumindo-se como modelo dos parâmetros a adotar para a verificação e controlo da qualidade de tradução (algo não quantificável na área da tradução), tomámos então a iniciativa de contactar uma especialista da área na qual se inscrevem os textos do nosso *corpus*. Assim, e no sentido de tornar fidedigna a nossa terminologia, esta foi inteiramente revista pela Doutora Perrine Charles, neurologista do Hospital de la Pitié-Salpêtrière, em Paris, detentora de um notável domínio da especialidade e a quem agradecemos a enriquecedora colaboração que, sem qualquer sombra de dúvida, veio conferir uma maior qualidade ao nosso projeto.

De facto, torna-se necessário haver sempre uma validação dos termos por alguém com conhecimentos muito avançados na área científica em questão. Isso mesmo afirma claramente Cabré: “subject field experts must always participate to some degree in terminological work.” (Cabré, 1999:18). A tradução complementa-se com a revisão por parte de uma especialista, contributo incontornável para a qualidade do produto final.

2. Erros no *corpus* de partida

No decurso da tradução, identificámos algumas incoerências num dos textos do nosso *corpus*. A tarefa de um bom tradutor consiste, como se entende, em detetar tais questões.

O documento intitula-se *Doença de Machado-Joseph: Análise da região 3'UTR do gene ATXN3* e é da autoria de Marta do Rosário Cristino Silva Ventura. Em relação aos outros documentos, não surgiram erros ou incoerências – tratando-se de documentos já impressos, tal pressupõe um seguimento mais sustentado ao nível da revisão, antes de ser publicado. Por outro lado, a dissertação de Mestrado não apresenta um cuidado linguístico

tão exaustivo. Não se verificam erros gramaticais, nem ao nível de construções frásicas, mas existem sobretudo gralhas sintáticas e terminológicas devido a alguma falta de rigor ou de conhecimento aprofundado por parte da autora.

Face a este tipo de incoerências, cabe ao tradutor tentar não reproduzir esses mesmos erros, para que a tradução seja a mais exata possível. Nem sempre é fácil detetar gralhas num texto original e numa língua que não é a materna; daí o tradutor dever possuir conhecimentos avançados na língua de partida para não cometer erros ou incoerências no texto de chegada.

A título de exemplo, propomos alguns erros encontrados:

Termo errado	Termo correto	Explicação
et al.	et coll.	A autora refere várias vezes que se trata de colaboradores e introduz “et al.” quando cita a referência em vez de “et coll.”
3 [‘] UTR	3’UTR	Várias vezes a autora deixa um espaço a mais entre o número e a sigla.
polyadenilations signals	polyadenilation signals	Trata-se, aqui, de uma gralha. A palavra “polyadenilation” não deve levar a marca do plural. Apenas a palavra seguinte se pode comprovar quando aparece esta expressão no resumo.

Tabela 2: erros *corpus* de partida

3. Principais recursos utilizados

O primeiro cuidado que tivemos, ao efetuar a pesquisa, foi confirmar os textos que consultámos; para além de serem fidedignos, teriam de estar escritos na vertente linguística pretendida, no nosso caso, francês de França, pois a terminologia pode diferir ligeiramente em relação a outros países francófonos, ainda que a diferença não seja comparável com as discrepâncias entre o português de Portugal e o português do Brasil. Este cuidado é necessário durante a consulta de material para evitar confusões a nível terminológico. Utilizámos material e recursos diversos, a fim de encontrar respostas para as nossas dúvidas e os nossos questionamentos e, ainda, descobrir estratégias. Passamos a enumerar os mais utilizados:

3.1. Google

Para além das competências necessárias, em ambas as línguas, relativamente ao conhecimento da terminologia, o tradutor tem o papel de tomar decisões quando se depara com problemas tradutológicos de natureza diversa: terminológica, fraseológica, de adequação, fluidez. Para isso, recorremos ao motor de pesquisa mais utilizado a nível mundial, o Google, que se revelou uma inestimável ajuda, não só ao nível da pesquisa de informação, mas também para a confirmação, no contexto e, acima de tudo, para confirmar a terminologia que ia ser utilizada. Trata-se de uma ferramenta de fácil utilização, que oferece diversas opções de pesquisa, úteis e eficazes para o tradutor, tais como pesquisa numa determinada língua ou apresentação apenas das páginas de um país, consulta de textos paralelos ou até mesmo para visualizar imagens a fim de esclarecer conceitos especializados. No nosso caso particular, serviu claramente para esclarecer ambiguidades no uso de determinados termos: recorremos com frequência a *sites* onde pudemos esclarecer dúvidas linguísticas, como é o caso do “Ciberdúvidas da Língua Portuguesa”. Sendo a medicina uma área dinâmica, alguns termos, e principalmente os emergentes, podem não estar ainda incluídos em dicionários. É aqui que a Internet se torna uma fonte global de informação. Pode também servir para encontrar a designação de termos menos comuns, esclarecer dúvidas linguísticas e verificar tendências de uso.

3.2. Base de dados IATE

Entre as bases de dados consultadas no nosso projeto, o IATE, por fazer parte da União Europeia, merece especial destaque, pois é a mais conhecida e consultada pelos tradutores. Contém inúmeras línguas e áreas, com um elevadíssimo número de entradas de termos (1,4 milhões). O IATE é uma ferramenta de grande utilidade e bastante fiável. No entanto, convém verificar sempre a terminologia, pois, por vezes, existem algumas falhas. Devido ao seu grande sucesso, está em constante expansão e atualização.

3.3. Material *online*

Por outro lado, existem também versões digitalizadas de dicionários, bem como glossários temáticos, repositórios ou bibliotecas digitais que nos facilitam a pesquisa. Seguem-se os que mais utilizámos, para além dos indicados na bibliografia:

- <http://www.vulgaris-medical.com/>
- <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/>
- <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=FR>

3.4. Material impresso

É uma verdade admitida e interiorizada: há que ser cauteloso com as fontes encontradas na Internet, no que se refere à sua fiabilidade. Por tal facto, consultámos dicionários impressos que apresentavam uma qualidade e fiabilidade segura. Existindo, no entanto, escassíssima bibliografia, em francês, em Portugal, deslocámo-nos à Faculdade de Medicina da Universidade de Lille 2, em França, onde existem grande quantidade de livros, nomeadamente enciclopédias, dicionários especializados, dicionários bilingues de inglês/francês e *vice versa* que nos permitiram verificar toda a terminologia para a qual não se encontraram fontes *online* fiáveis ou para casos em que a terminologia era quase inexistente como veremos em alguns exemplos a seguir.

Os maiores entraves tinham a ver com terminologia muito específica como “atrofia dentato-rubro-palido-luysiana” e “electroferograma”.

4. Problemas tradutológicos- traduzir ou não traduzir?

Apesar de não ser uma realidade muito comum, como é o caso de Portugal, há na língua francesa, estrangeirismos e empréstimos que, no nosso *corpus*, dizem respeito a latinismos e anglicismos. Na parte dos empréstimos, incluem-se as formas abreviadas, pois muitas siglas e acrónimos são oriundos da língua inglesa.

4.1. Anglicismo

O termo anglicismo refere-se a uma palavra próprio da língua inglesa que foi introduzida noutra. Os anglicismos de que trataremos a seguir são de ordem lexical.

A internacionalização de uma língua resulta da eficácia que adquiriu enquanto veículo de informação e comunicação. Atualmente, a língua inglesa é a língua de maior influência no mundo. Ao longo da formação académica e científica, nomeadamente no âmbito das ciências, o contacto com literatura científica em inglês é obrigatório. De facto, a literatura, em português é escassa, sendo que a maioria das traduções disponíveis é feita em português do Brasil. As diferenças existentes ao nível gramatical e terminológico entre as duas vertentes de português são, por vezes, um entrave para a compreensão total do conteúdo. Além disso, a Medicina é uma área dinâmica em constante evolução, daí ser necessária uma divulgação rápida. Por isso, os profissionais de saúde, assim como os estudantes que pretendem manter-se atualizados acerca dos progressos científicos, são praticamente forçados a ler artigos ou até mesmo obras editadas na língua inglesa. Assim, acabam por adotar os termos em inglês e por usá-los de forma recorrente.

No entanto, o uso de estrangeirismo pode ser considerado como uma prática inversa à da tradução já que em termos pragmáticos, não há qualquer equivalência. Transportando isto para a área das ciências, manter a terminologia em inglês facilita a compreensão por parte dos profissionais de saúde, mas dificulta-a para os estudantes e qualquer pessoa com poucos conhecimentos da língua inglesa. Por outro lado, Correia (2005) refere que tal opção impede o enriquecimento do português como uma língua de ciência. Deste modo,

apesar de, em português, se usarem mais os termos ingleses, a título de exemplo citemos os termos “primer” e “pellet”, decidimos colocar a palavra em português, na nossa base de dados, mesmo que esta seja menos usada. Optámos, assim, por utilizar a palavra aceitável em português, na mesma ordem: “iniciador” e “precipitado”. Quanto à língua francesa, não optámos por deixar a palavra em inglês, até porque a língua francesa é muito conservadora e tem tendência a traduzir tudo. Temos, então, por ordem: “amorce” e “culot”. Segue-se o anglicismo utilizado que nos causou maior dificuldade:

Splicing

“Esquema representativo da actuação do "spliceossoma" durante o processo de "splicing" do pré-mRNA.”

Por ser mais usado, a autora decidiu manter, no texto de partida em português, o termo tal como ele se apresentava em inglês. No entanto, segundo o Dicionário da Porto Editora e a base de dados IATE, o termo correto é “união” ou, ainda mais explícito, “processamento de junções de exões”. Acabámos por colocar na base de dados apenas “junção de exões”. Quanto à língua de chegada, usámos o termo adequado, pois, como dito anteriormente, o francês pertence a um grupo, raro, de línguas que traduzem praticamente todos os termos estrangeiros. Temos então “épissage” apesar de também se usar o termo inglês.

Timing

“Penso, no entanto, que seria interessante controlar um grupo de pessoas em risco a intervalos regulares (idealmente todos os anos), de modo a obter uma noção mais precisa do timing e valor prognóstico das alterações encontradas.”

Do mesmo modo, a palavra “timing” que, por acaso, até é bastante utilizada pelos franceses, foi traduzido pelo equivalente em francês “temps”.

4.2. Formas abreviadas

A designação “formas abreviadas” inclui as siglas, os acrónimos e as abreviaturas. Trata-se de unidades com grande ocorrência nos textos científicos. Após a introdução do termo científico, estes passam muito frequentemente a ser referidos de forma abreviada. Algumas dessas formas abreviadas causaram-nos problemas, pois a tradução dos termos para francês pode suscitar ou não alterações à forma abreviada. Santos-Gomes (2005) afirma que, perante estes casos, o tradutor tem duas opções: ou opta pela tradução do termo e respetiva abreviatura, ou por apenas traduzir o termo e manter a abreviatura original. Na opinião da autora, o facto de deixar a forma abreviada original em inglês não contribui para o desvirtuamento da língua para a qual se traduz (no nosso caso, o francês). Acrescenta ainda que a utilização da mesma abreviatura em diversas línguas automatiza o processo de reconhecimento do termo e do seu significado e a eficácia ao nível da compreensão, bem como ao nível escrito e oral. (ibidem:92).

No nosso *corpus*, encontravam-se muitas formas abreviadas. Para a grande maioria, encontrámos equivalentes em francês, em textos de especialidade, no entanto, outras houve para as quais não fomos capazes encontrar nenhuma forma e deixámo-las em inglês.

Antes de abordar o ponto seguinte, aprofundemos aqui o caso da sigla “DNA”, exemplo familiar que aparece no âmbito da tradução. Objetivamente, não se coloca nenhum problema na tradução da sigla; no entanto, é muito frequente ver esta sigla com o equivalente inglês, na literatura científica portuguesa. A título de exemplo e servindo de indicador objetivo, projetos financiados pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) contêm no título a referida sigla em inglês. Por outro lado, se formos verificar a frequência de utilização nos motores de busca da Internet (no nosso caso, no Google), verificamos que, em páginas exclusivamente portuguesas, os resultados diferem havendo no entanto mais ocorrências em português do que com a sigla na língua original.

No caso de certas siglas existe uma certa intraductibilidade, como é o caso de UTR (região não traduzível). Esta não foi traduzida pois não existe nenhuma tradução para francês. Se a tivéssemos traduzido, estaríamos perante um caso de criação de uma nova sigla não reconhecida enquanto que esta sigla é reconhecida no mundo da ciência, em

França. Após consulta de sites de referência do mundo científico francês, a sigla é aceitavelmente correta como o pudemos comprovar em numerosas dissertações de doutoramento.

Para uma melhor compreensão, seguem-se exemplos de siglas presentes no *corpus* de partida e equivalentes em inglês e francês.

Inglês	Português		Francês
	Sigla no <i>corpus</i>	Sigla substituída na base de dados	
DMJ	DMJ	-	MMJ
RNA	RNA	ARN	ARN
DNA	DNA	ADN	ADN
PCR	PCR	-	PCR
pré-mRNA	pré-mRNA	pré-ARNm	pré-ARNm

Tabela 3: algumas siglas do *corpus*

Contudo no nosso *corpus* em língua portuguesa, deparámo-nos com o facto de “RNA” e “DNA” permanecerem em inglês, por uma questão de hábito e mais fácil reconhecimento, como já referimos anteriormente. No entanto, na nossa base de dados, optámos por utilizar a sigla aceitável em português, indicada na tabela acima.

Quanto à língua francesa, não optámos por deixar a sigla RNA em inglês, sendo a língua francesa muito conservadora e com tendência a adaptar tudo, à sua própria língua. No Google livros aparecem 3 vezes mais resultados ao colocar “ARN” do que “RNA”. Apesar de ser amplamente conhecida, não favorece a deteção imediata.

mRNA

“Nos eucariotas, os transcritos primários (*pré-mRNA*) apresentam dois tipos de sequências: os exões, porções codificantes do transcrito primário e que estão presentes no mRNA maduro; e os intrões, sequências não codificantes que não estão presentes no mRNA maduro (Strachan e Read, 2004).”

A sigla aparece no *corpus* inúmeras vezes. A decisão de traduzir o termo RNA por ARN levou-nos também a traduzir o termo Messenger RNA com o mesmo critério. Desse modo, temos ARN Messenger. Após chegar a esta conclusão, ficou em francês como ARNm; o mesmo aconteceu para “pré mRNA” que foi traduzido por “pré-ARNm” que aliás surgem em livros de referência tal como “Introduction à l’analyse génétique” (2010) de Suzuki d.T. et coll.

4.3 Latinismos

Os latinismos são “formas e construções de origem latina que não se adaptaram a língua portuguesa. Os latinismos distinguem-se dos vocábulos eruditos por se manterem inteiramente dentro da estrutura morfológica latina.”⁶

As línguas clássicas formam as principais fontes dos estrangeirismos e empréstimos que foram introduzidos na língua francesa, com particular destaque no léxico científico.

No nosso *corpus*, os latinismos encontrados no texto para os quais tivemos de fazer uma pesquisa mais pormenorizada a fim de saber se se devia traduzir ou não foram “*fide*”, “*et al.*”. Concluímos que são designação de uso corrente em qualquer publicação científica e em qualquer língua. No nosso caso, quer em português, quer em francês, ambas se utilizam acompanhado do itálico.

A primeira significa que foi citada nesta obra mas que foi outra pessoa a referi-la inicialmente. A título de exemplo: “Sequeiros, 1996 *fide* Bettencourt *et al.*, 2008^a.” Assim: o que foi citado no texto foi retirado de um livro de Bettencourt e dos outros autores que passaram a citar a obra de Sequeiros.

⁶ <http://www.portaldalinguaportuguesa.org/?action=terminology&act=view&id=2188> [Última consulta em maio de 2013]

A segunda expressão, que significa “e outros”, é utilizada quando existem mais de três autores, o que permite assim reduzir a lista de nomes. Esta designação aparece muito frequentemente em publicações científicas e outros trabalhos de relevância.

Locus

“No plano científico, o primeiro passo terá de ser, inevitavelmente, a identificação de um marcador genético e localização do locus da doença, seguida da sequenciação do gene.”

Este termo, que consta da nossa base de dados, corresponde ao termo em latim correspondendo ao “local fixo num cromossomo onde está localizado determinado gene ou marcador genético”⁷ e que foi adotado quer em português, quer em francês. Foi necessário consultar sites para poder confirmar essa utilização nas diferentes línguas. A notar que o plural é *loci*.

4.4 Terminologia especializada

A cada área de conhecimento corresponde uma terminologia muito específica. Quanto mais especializada for a área mais restrito é o seu vocabulário.

Não obstante, existem determinados “campos” de vocabulário comuns a várias áreas. Para além disso, as línguas de especialidade participam em alguns aspetos da língua geral. Seguem os exemplos para os quais tivemos mais dificuldades em encontrar o equivalente pois foi-nos necessário confirmar em diferentes fontes para chegar a uma certeza. No final, foi tudo revisto por uma especialista que nos confirmou toda a terminologia.

Atrofia dentato-rubro-palido-luysiana

“Já o discutimos detalhadamente, e propusemos critérios de distinção com outras afecções próximas, como as atrofias olivo-punto-cerebelosas e dentato-rubro-pálido-luysianas.”

⁷ <http://biologias.com/dicionario/verbete/locus-genetico> [Última consulta em maio de 2013]

Este termo constitui o termo mais específico do nosso *corpus*, que nos era totalmente desconhecido. Após pesquisas na internet, parece-nos poder efetuar uma tradução literal para francês.⁸ No entanto, necessitámos de verificar num dicionário.

Neste caso o *Dictionnaire Médical avec atlas anatomique* (2009), de Jacques Quevauvilliers, foi-nos de crucial apoio, não só para este termo mas também para outros termos tais como “*atrofias olivo-punto-cerebelosas*”, “*degenerescência tapeto-retiniana*”, “*esclerose lateral amiotrófica*”, “*metilguanósina*”, “*potencial evocado visual*” e “*degenerescência nigro-espino dentada*”.

Electroferograma

“Electroferogramas exemplificativos de cada um dos genótipos observados, para cada um dos 10 SNPs identificados nos exões 10 e 11 do gene ATXN3.”

Este foi sem dúvida o termo que mais nos causou problemas pois supusemos que se podia fazer uma tradução literal. O termo inglês é “*electropherogram*”.

No entanto, não havia resultados para francês se traduzíssemos literalmente por “*électrophorégramme*”. Tentámos o pôr aspas e selecionar apenas páginas francesas mas não obtivemos resultados. Assim, não foi possível traduzir, de forma rápida e direta, de português para francês. Tivemos de pesquisar a partir do inglês no *linguee* onde aparecia uma tradução semelhante para todos os exemplos dados e após verificação em sites de referência tratava-se com certeza desse termo. Temos, assim:

Termo português	Termo inglês	Termo francês
Electroferograma	electropherogram	electrophorégramme

Tabela 4: Exemplo de um caso específico

Domínio Josefino

A tentativa de tradução deste termo resultou em horas de trabalho para encontrar um equivalente. No entanto, não chegámos a nenhuma tradução satisfatória, em francês. Mesmo após tentativas de pesquisa em sites franceses, poucos foram os sites em que

⁸ http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=101&lng=FR [Última consulta em maio de 2013]

apareceu a designação, até mesmo em inglês. Após ter consultado uma especialista, tivemos confirmação de que apenas se usava a designação em inglês.

4.5. Outros casos

Surgiram vários casos, aos quais foi necessário dedicarmos um tempo considerável de pesquisa. Como visto anteriormente, trata-se, na grande maioria, de dúvidas a nível terminológico. No entanto, surgiram também dificuldades de outra ordem que foi necessário contornar através de algumas estratégias.

Muitas vezes, não é possível manter a ordem das palavras, como em português. Temos assim de modificar a ordem das frases. Tivemos, por isso, de tentar encontrar várias soluções e tentar encontrar a que melhor soava em francês. A título de exemplo:

Português	Francês
São, no entanto , aquelas que os doentes, invariável e legitimamente, põem em muitas consultas.	Néanmoins , ce sont celles que les malades posent , de façon invariable et légitime, lors de nombreuses consultations.
Conhecem-se 3 casos.	Trois cas sont connus.
Um razoável controlo da espasticidade , facilitando a marcha ou permitindo uma melhor adaptação à cadeira de rodas, é conseguido com o baclofen.	Grâce au baclofène , on obtient un raisonnable contrôle de la spasticité qui facilite la marche ou qui permet une meilleure adaptation au fauteuil roulant.

Tabela 5: Exemplos de estrutura frásica invertida

Também a expressão “da grande e da pequena história”, que nos era desconhecida, exigiu mais tempo de pesquisa com o objetivo de ver qual o seu equivalente em francês. Num primeiro tempo, no Google, parecia não existir. Procedemos a uma pesquisa mais centrada na expressão que nos confirmou a utilização da mesma.

Encontrámos, também, no capítulo VIII do nosso corpus de partida, em português, a citação seguinte, de uma doente em inglês:

“Oh we were told of the 50% risk factor of the disease several years ago in the clinic, but we both only heard the 50% about not getting the disease because we desperately wanted to have children. Of course now that my husband is sick and we have two children I wish we had heard and paid attention to the 50% chance of getting the disease.”

Além de a mantermos tal como se encontrava no *corpus* de partida, decidimos acrescentar, em nota de rodapé, a tradução da mesma em francês, a fim de chegar a um público mais amplo pois em França muitas pessoas não falam ou pouco percebem inglês.

Um texto quer-se de fácil leitura. No entanto, no capítulo VIII, tal não se verificava, o que pode perturbar o leitor. Desse modo, tomámos a iniciativa de separar cada parte abordada, por capítulos.

É necessário ter também muita cautela para não entrar no círculo vicioso da tradução literal que muitas vezes não se adequa, nem faz sentido no devido contexto. Propomos, aqui, alguns exemplos onde uma tradução literal não se perceberia de imediato. O leitor teria de fazer um esforço para entender o que realmente o tradutor quis dizer.

Português	Francês-tradução literal	Francês correto
ser asseguradas	être assurées	être garanties
poderá ser função	pourra être en fonction de	pourra dépendre de
considerações finais	considérations finales	Conclusions

Tabela 6: Exemplos de tradução literal

Por vezes, em certas línguas, um determinado termo tem de ser repetido para se entender corretamente o sentido da frase. No caso concreto, a seguir, tivemos que usar de novo a palavra “*pointages*” para que a frase tivesse sentido e “soasse francesa”:

“Alguns estudos foram feitos na América do Norte^{15,17} utilizando registros dos movimentos oculares, potenciais evocados visuais e somato-sensitivos (...).”

“Certaines études ont été faites en Amérique du Nord¹⁵⁻¹⁷ à l'aide de pointages des mouvements oculaires, des pointages potentiels évoqués visuels et somato-sensitifs(...).”

No próximo exemplo, veremos que de maneira a garantir a fluidez da frase, não optámos por uma tradução literal. O nome/substantivo é aqui substituído pelo verbo no infinitivo e o adjetivo por uma expressão mais pormenorizada. Temos assim:

*“(...) será indispensável uma reflexão prévia antes de se tentar a sua **aplicação sistemática**.”*

*“(...) une réflexion sera indispensable au préalable avant d'essayer de l'**appliquer de façon systématique**.”*

Vimos, neste capítulo, que o *corpus* era muito denso em terminologia e que foi desse modo necessário dedicarmos muitas horas de trabalho para resolver muitas dúvidas que surgiam. Com o objetivo de a resolver, tivemos de consultar diferentes fontes mencionadas anteriormente e na bibliografia assim como uma especialista da área, a fim de garantirmos a qualidade a tradução.

Conclusão

“Revolta é ter-se nascido
sem descobrir o sentido
do que nos há-de matar.
Rebeldia é o que põe
na nossa mão um punhal
para vibrar naquela morte
que nos mata devagar.”

(Natália Correia, “O Sol nas Noite e o Luar nos Dias”)

Este projeto permitiu-nos pôr em prática um conjunto de aprendizagens, efetuadas ao longo do nosso percurso académico, quer do foro teórico, quer fruto de diversas experiências profissionais. A bibliografia especializada revelou-se de grande utilidade para as diferentes etapas que regeram o nosso projeto assim como para o desenvolvimento de uma postura crítica face ao trabalho de tradução e terminologia e a sua fundamentação teórica.

Através deste projeto consolidámos conhecimentos e adquirimos uma maior sensibilidade no que respeita à tradução técnica, particularmente em textos de cariz científico. A escolha do conjunto de textos que deviam servir de base a um trabalho de tradução e posterior reflexão sobre os mecanismos do próprio exercício tradutológico, bem como o cumprimento rigoroso dos diversos passos exigidos por esse exercício, foram de primordial importância para a qualidade do nosso produto final que se destina a um público-alvo maioritariamente especializado. Por tal facto, o nível de exigência era elevado. Daí ter exigido cuidados acrescidos. Todo o processo da tradução obrigou a pesquisas morosas e diversas mas inegavelmente enriquecedoras.

A elaboração da base de dados foi fundamental para o entendimento dos diferentes conceitos, marcados por uma grande especificidade. A procura de equivalentes e de abreviaturas foi um processo demorado porque tentámos sempre encontrar o equivalente mais adequado. Desse modo, foi indispensável a leitura de informação em várias áreas. Quanto à revisão do nosso produto, procurámos sempre evitar erros de tradução ou de língua. Para tal, efetuávamos pesquisas aprofundadas para comprovar a utilização dos termos ou expressões, tendo até solicitado a uma especialista que validasse cientificamente a nossa base de dados, a fim de nos certificarmos da não existência de erros na terminologia que pudessem comprometer a transmissão do conteúdo científico.

Poder levar a cabo um projeto desta natureza foi, sem dúvida, uma experiência enriquecedora que representa o final de uma etapa importante do percurso académico. Com efeito, trata-se de um projeto trabalhoso, que exigiu dedicação e empenho, mas cujas vantagens superam todas as dificuldades que surgiram. Por termos abordado problemáticas

relativas a uma patologia rara, em todo o caso, pouco comum, tornou-se um desafio através do qual adquirimos conhecimentos inestimáveis não só ao nível da prática mas também no plano teórico. O trabalho de pesquisa foi intensivo pois tratava-se de traduzir um *corpus* com uma considerável densidade terminológica. Apesar de árduo, este projeto permitiu-nos ampliar e cimentar os nossos conhecimentos e competências na área da tradução e da terminologia e realizar, simultaneamente, uma reflexão sobre todo o processo tradutológico e terminológico do nosso *corpus* especializado.

Este nosso projeto representa, em suma, um exemplo de como se devem pôr em prática todos esses conhecimentos e como um tradutor se pode formar e especializar numa área específica. Com efeito, a evolução de um tradutor é fruto de um trabalhoso percurso de aperfeiçoamento e de um misto de esforço e de rigor, a vários níveis, e também a nível da investigação.

Se a realização deste trabalho permitir passar uma mensagem importante é a de que a tradução não deve ser uma tarefa isolada, bem pelo contrário, deve envolver a colaboração de outras pessoas, especialistas na área, e não só, pois a tradução é uma tarefa interdisciplinar e que desempenha um papel importante na divulgação do conhecimento. À medida que o tempo foi passando, este projeto tornou-se, para nós, um desafio interessante, e fonte de grande satisfação pessoal. Não só porque surge, na nossa formação universitária, como o culminar de um percurso formativo e a realização de um sonho que é um objetivo mas também porque nos parece poder contribuir, de algum modo, por muito ténue que seja, para a divulgação de informação sobre a Doença de Machado-Joseph. E ousamos formular um desejo: que este nosso trabalho possa constituir um ponto de partida para futuros projetos nesta área.

Referências para a elaboração do projeto

1. Referências bibliográficas

Referências bibliográficas sobre o *corpus*:

COUTINHO, Paula (1993). *Doença de Machado-Joseph. Estudo Clínico, Patológico e Epidemiológico de uma Doença Neurológica de Origem Portuguesa*. Porto: Laboratórios Bial.

COUTINHO, Paula, SEQUEIROS, Jorge (1981). “Aspects cliniques, génétiques et pathologiques de la maladie de Machado-Joseph”, *Journal de Génétique Humaine*, 29 (3): 203-209.

Referências bibliográficas sobre Tradução e Terminologia:

BALLARD, Michel, KALADI, Ahmed El (2003). *Traductologie Linguistique et Traduction*. Arras : Artois Presses Université.

BASSNETT, Susan (2011). *Reflections on translation*. Bristol: Multilingual Matters.

BRUNETTE, Louise, HORGUELIN, Paul (1998). *Pratique de la révision*, Brossard. Québec: Linguattech Editeur.

CABRÉ, M. Teresa (1993). *La terminología: teoría, metodología, aplicaciones*. Barcelona: Editorial Antártida/Empúries.

_____ (1999). *Terminology- Theory, Methods and Applications*. Amsterdam: John Benjamins Publishing.

DUBUC, Robert (2002). *Manuel pratique de terminologie*. Montréal: Linguattech.

GOUADEC, Daniel (2002). *Profession: traducteur*. Paris: La maison du Dictionnaire.

_____ (2007). *Translation as a profession*. Amsterdam, Benjamins.

GUIDÈRE, Mathieu (2008). *Introduction à la Traductologie*. Bruxelles: De Boeck

JAKOBSON, Roman (2003). *Aspectos Linguísticos da Tradução em Lingüística e Comunicação* (Tradução de Izidoro Blikstein e José Paulo Paes). São Paulo: Editora Cultrix.

L'HOMME, Marie Claude (2004[4^a ed.]). *La terminologie: principes et techniques*. Montréal: Les presses de l'Université de Montréal.

MOUNIN, Georges (1963). *Les problèmes théoriques de la traduction*. Paris: Gallimard.

NORD, Christiane (1997). *Translation as a Purposeful Activity*. Manchester: St Jerome publishing.

_____ (2005). *Text analysis in translation: Theory, Methodology and Didactic Application of a Model of Translation-Oriented Text Analysis*, Amsterdam e New York: Editions Rodopi B.V.

PORTELA, Manuel (2003). *Untranslations and Transcreations*. Bloomington: Indiana University Press.

Rey, Alain (1995). *Essays on terminology*. Amsterdam: John Benjamins Publishing.

2. Referências online:

BETTENCOURT Conceição, LIMA Manuela *et al* (2011). Machado-Joseph Disease: from first descriptions to new perspectives. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3123549/> (acedido a 5 de março de 2013).

_____ (2009). The (CAG)_n tract of Machado–Joseph Disease gene (*ATXN3*): a comparison between DNA and mRNA in patients and

controls. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2987309/> (acedido a 3 de março de 2013).

_____ (2011). Machado-Joseph Disease: from first descriptions to new perspectives. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3123549/> (acedido a 5 de março de 2013).

CORREIA, Margarita (2005). *Terminologia, neologia e normalização como tratar os empréstimos neológicos*. Disponível em <http://www.iltec.pt/pdf/wpapers/2005-mcorreia-terminometro1.pdf>. (acedido a 15 de março de 2013).

DESTEFANO AL, Cupples LA, Maciel P, et al. (1996). *A familial factor independent of CAG repeat length influences age at onset of Machado-Joseph disease*. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1915115/> (acedido a 3 de março de 2013).

DOLET, Etienne (1540). *Manière de bien traduire d'une langue en aultre*. Disponível em : <http://www.gutenberg.org/files/19483/19483-h/19483-h.htm>. (acedido a 4 de maio de 2013).

DURCAN Thomas, FON Edward (2013). *Ataxin-3 and its E3 partners: implications for Machado-Joseph disease*. Disponível em <http://www.frontiersin.org/Neurodegeneration/10.3389/fneur.2013.00046/abstract> (acedido a 9 de março de 2013).

European Committee for Standardization (2006). EN 15038 *European Quality Standard for Translation Services*. Disponível em <http://qualitystandard.bs.en-15038.com/> (acedido a 13 de maio de 2013).

SANTOS-GOMES, G. (2005). A língua Portuguesa e os Termos Técnicos e Conceitos Próprios das Ciências Biológicas. Disponível em

<http://www.docstoc.com/docs/38257410/A-L%C3%8DNGUA-PORTUGUESA-E-OS-TERMOS-T%C3%89CNICOS-E-CONCEITOS> (acedido a 8 de março de 2013).

SEQUEIROS Jorge, COUTINHO Paula (1993). *Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease*. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8421964> (acedido a 3 de março de 2013).

Sites de apoio *online*:

- Les ataxies cérébelleuses

<https://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-ataxcere.html>

- Maladie de Machado-Joseph (SCA3)

http://www.lacaf.org/index.php?option=com_content&view=article&id=18&Itemid=111&lang=fr&limitstart=2

- Os/As Cuidadores/as dos/as Doentes de Machado-Joseph: uma questão do Género

<http://www.aps.pt/vicongresso/pdfs/450.pdf>

- Perspectiva histórica e sociológica da doença de Machado-Joseph

<http://www.slideshare.net/adonems/machadojoseph-o-caso-dos-aores-presentation>

- Ser Portador de Doença de Machado-Joseph: Análise de um Estigma

<http://www.aps.pt/vicongresso/pdfs/715.pdf>

Documentários áudios

- Descoberto gene que influencia Machado-Joseph

<http://www.acorianooriental.pt/noticias/view/222464>

- Mais um passo para travar a doença de Machado-Joseph

<http://www.youtube.com/watch?v=3mMEG0FQowo>

- Molécula da cafeína pode travar a Doença de Machado-Joseph

<http://www.rtp.pt/noticias/index.php?article=639295&tm=2&layout=122&visual=61>

- Um percurso pela doença de Machado-Joseph

<http://www.cienciaviva.pt/projectos/genoma2003/entrevista.pdf>

Recursos *online*

- Associação Atlântica de Apoio ao Doente de Machado-Joseph

<http://www.aaadmj.com/>

- Dictionnaire de l'Académie de Médecine

<http://dictionnaire.academie-medecine.fr/>

- Dictionnaire médical

<http://pt.scribd.com/doc/23398091/Medecine-Dictionnaire-de-Medecine-Cours-4>

- Encyclopédie médicale

<http://www.notrefamille.com/encyclopedie-medicale.html>

- IATE :

<http://iate.europa.eu/iatediff/>

- Infarmed

<http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED>

- Infopédia

<http://www.infopedia.pt/>

- Larousse médical

<http://www.larousse.fr/archives/medical>

- Le dico médical

<http://www.hopital.fr/Hopitaux/Le-dico-medical>

- Le grand dictionnaire terminologique

<http://qdt.oqlf.gouv.qc.ca/>

- Linguee

<http://www.linguee.pt/>

- Manual Merck

<http://www.manualmerck.net/>

- Portail des maladies rares et des médicaments orphelins

<http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php?lng=FR>

- Vulgaris médical

<http://www.vulgaris-medical.com/>

Apêndices

Nota explicativa

Para uma maior coerência e um maior respeito pelos autores dos textos que enformam o nosso *corpus*, mantivemos a formatação dos mesmos. Daí, a diversidade, disparidade, até, da apresentação que se verifica no ponto específico “Apêndices”.

1. *Corpus* de partida

Patologias Neurodegenerativas

O caso particular da Doença de Machado-Joseph



CONCEIÇÃO BETTENCOURT

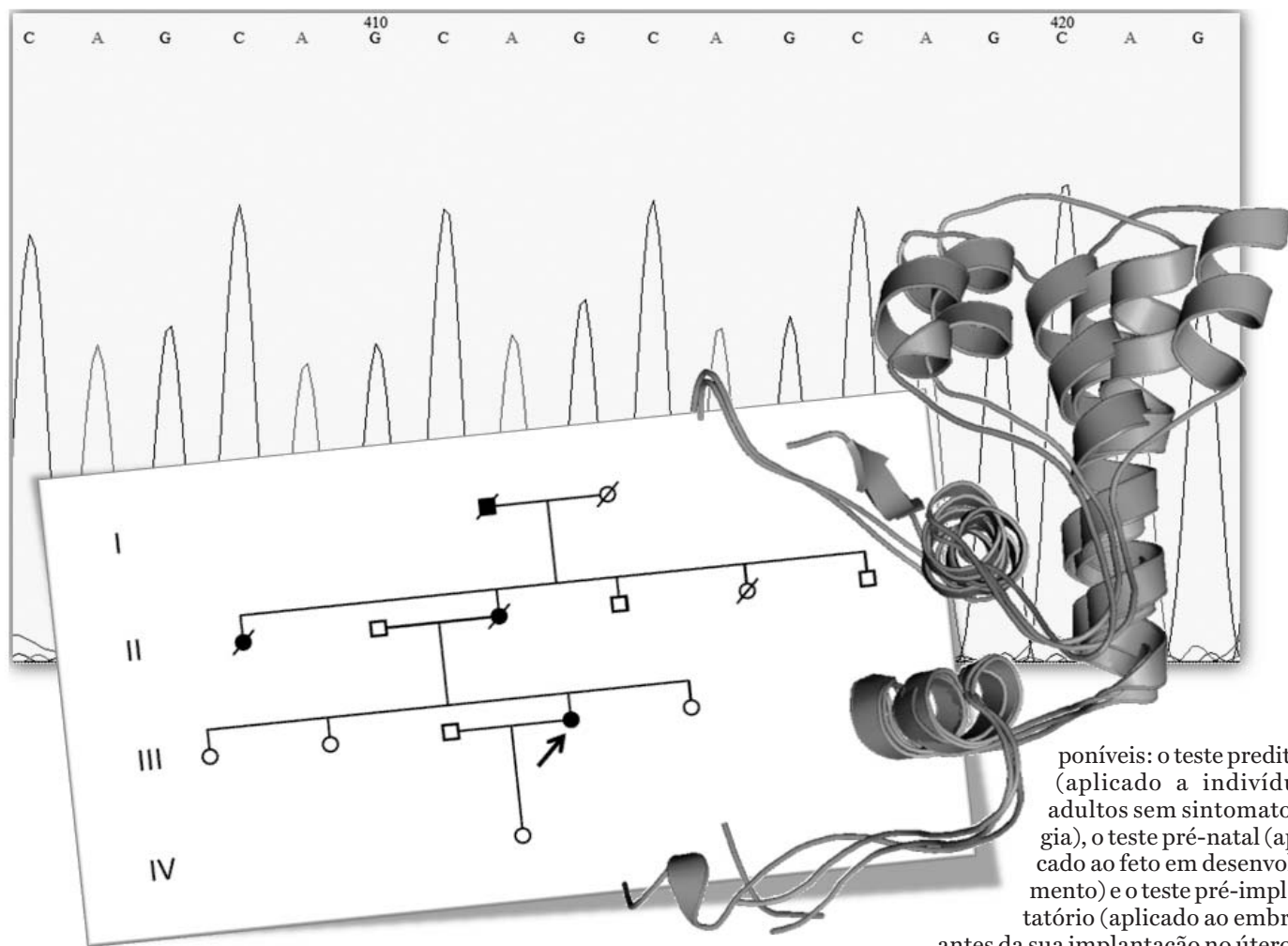
INVESTIGADORA
PÓS-DOUTORADA

● A DMJ é uma doença neurodegenerativa, causada por uma alteração genética transmitida de geração em geração, que atinge nos Açores os seus mais elevados níveis de prevalência

Algumas doenças são caracterizadas pela destruição progressiva e irreversível de diferentes tipos de neurónios (células do nosso sistema nervoso), levando a uma perda gradual das capacidades motoras, fisiológicas e/ou cognitivas. Estas doenças são chamadas de neurodegenerativas e incluem, entre muitas outras, a doença de Alzheimer, a doença de Parkinson, a doença de Huntington e a doença de Machado-Joseph (DMJ).

O que levará ao aparecimento destas doenças? Será o estilo de vida, serão os hábitos alimentares, será a genética ou será uma conjugação de vários factores? Depende! Dentro deste grande grupo existem doenças conhecidas como “puramente” genéticas, como é o caso da doença de Huntington e da DMJ. Ambas são causadas por uma alteração genética (mutação). Mas há outras, por exemplo a doença de Parkinson, em que a sua causa é mais complexa. Assim, existem formas “puramente” genéticas, resultando de mutações em determinados genes (conhecem-se oito genes associados a formas hereditárias da doença de Parkinson, dos quais os mais importantes são os que codificam para as proteínas chamadas parkina e alfa-sinucleína), enquanto outras são fruto da interacção de vários factores, nomeadamente ambientais e genéticos.

Como referido anteriormente, a DMJ pertence ao grupo das doenças neurodegenerativas ditas “puramente” genéticas. Mundialmente, a DMJ, também conhecida como ataxia espinocerebelosa do tipo 3 (SCA3), é rara, afectando menos de dois indivíduos em cada 100.000. No entanto, nos Açores a DMJ é altamente prevalente, afectando aproximadamente um em cada 3500 habitantes. Em certas ilhas, como é o caso das Flores, a DMJ alcança os mais elevados níveis de prevalência a nível mundial, atingindo um em cada 240 habitantes. Os primeiros sintomas, geralmente desequilíbrio na marcha ou alterações da visão, surgem normalmente já na idade adulta (em média, por volta dos 40 anos). Contudo, a idade de início, assim como a progressão e a severidade da doença, é bastante variável de um doente para outro (inclusive entre pa-



● As primeiras queixas da DMJ (desequilíbrios no andar) surgem geralmente na idade adulta

● Existem testes genéticos que permitem detectar precocemente a mutação da DMJ

cientes de uma mesma família), existindo casos extremos em que os primeiros sinais da doença surgiram aos quatro anos de idade e outros em que só apareceram aos 70 anos. A DMJ é causada por uma mutação que é passada de geração em geração, ou seja, de pais para filhos. O seu modo de

transmissão é autossómico dominante, o que significa que basta herdar, de apenas um dos progenitores, uma cópia alterada do gene para que a doença se manifeste, afectando homens e mulheres indiscriminadamente. Os indivíduos que não possuem essa mutação contêm um motivo com o código “CAG” que se repete até um máximo de 44 vezes (CAG1CAG2CAG3CAG4...CAG44), enquanto os indivíduos portadores da mutação têm um aumento exacerbado do seu número de “CAGs”, apresentando mais de 52 repetições desse mesmo código. Este erro causa alterações ao nível da proteína, codificada pelo gene afectado, que neste caso se chama ataxina-3. A presença desta mutação pode ser detectada precocemente, mesmo antes da doença se manifestar, através de uma análise genética. Para indivíduos pertencentes a famílias com esta doença, devidamente enquadrados num programa de aconselhamento genético, estão actualmente dis-

poníveis: o teste preditivo (aplicado a indivíduos adultos sem sintomatologia), o teste pré-natal (aplicado ao feto em desenvolvimento) e o teste pré-implantatório (aplicado ao embrião antes da sua implantação no útero da mãe). Presentemente, sabe-se que existe uma relação inversa entre o número de “CAGs” que o indivíduo possui e a idade de início da DMJ, ou seja, quanto maior o número de “CAGs” mais cedo aparecerá a doença. Contudo, ainda não se sabe o suficiente para permitir prever a idade exacta em que irão aparecer os primeiros sintomas em cada um dos portadores desta mutação.

À semelhança de outras doenças neurodegenerativas, a DMJ ainda não tem cura. No entanto, existe medicação que permite minimizar alguns dos seus sintomas, como por exemplo a dor, a insónia, o tremor ou a rigidez. Para além disso, a fisioterapia pode ajudar a retardar a perda de capacidades motoras, assim como a terapia da fala pode ajudar a melhorar a capacidade de comunicação dos doentes com disartria (incapacidade de articular as palavras de maneira correcta, devido à afectação dos músculos envolvidos na fala). ♦

Neurogenética na Universidade dos Açores

O grupo, da academia açoriana, liderado pela Doutora Manuela Lima tem desenvolvido vários trabalhos na área da neurogenética, com especial interesse na doença de Machado-Joseph (DMJ). A investigação desenvolvida por este grupo, no qual me incluo, tem focado a origem da mutação na base da DMJ, a sua transmissão e representação na população açoriana, bem como outros factores genéticos que contribuem para a variabilidade clínica observada. ♦

Em busca das causas desconhecidas das SCAs

Conhecem-se mais de 30 subtipos de ataxias espinocerebelosas (SCAs), entre as quais se inclui a DMJ (SCA3). As SCAs são raras e alguns subtipos foram descritos num número muito restrito de famílias, dificultando o seu estudo a nível clínico e genético. Apesar de se conhecerem as alterações genéticas que causam sensivelmente metade das SCAs, falta descobrir as causas das restantes. Em colaboração com outros grupos de investigação, tentamos conhecer melhor estas doenças e alcançar esse objectivo. ♦

CAPÍTULO VII

DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH: QUE FUTURO?

DOENÇA DE MACHADO-JOSEPH: QUE FUTURO?

Discutidos diversos aspectos da DMJ, muitas questões ficam ainda em aberto. São, no entanto, aquelas que os doentes, invariável e legitimamente, põem em muitas consultas. Se por vezes se informam primeiro sobre os progressos havidos no conhecimento da doença, o seu interesse centra-se naturalmente no tratamento, na "cura" e, eventualmente, na prevenção. Para essas não há, ainda, resposta.

Tentativas de tratamento

Por razões evidentes, o tratamento na DMJ tem sido puramente sintomático, e mesmo este bastante limitado. O facto do sintoma mais frequente e incapacitante ser a ataxia cerebelosa diz já das frustrações neste campo. Algumas tentativas terapêuticas têm sido feitas, a maior parte sem sucesso. As primeiras utilizaram agonistas colinérgicos (fisostigmina primeiro¹, derivados da colina depois²). Trouillas³ tem vindo a ensaiar precursores serotoninérgicos (L-5-hidroxitriptofano, combinado com benzeramida) em síndromes cerebelosas de diferentes etiologias, incluindo atrofas cerebelosas corticais tardias e atrofas olivo-cerebelosas. A justificação fisiopatológica seria a existência de terminações serotoninérgicas, provenientes dos núcleos do rafe, no córtex do vermis cerebeloso e nas olivas bulbares. Alguns dos seus resultados têm sido contestados^{4,5}. Trouillas refere a resistência de doentes com DMJ a este tratamento, enquanto que doentes com atrofas olivo-ponto-cerebelosas são sensíveis.

Um razoável controlo da espasticidade, facilitando a marcha ou permitindo uma melhor adaptação à cadeira de rodas, é conseguido com o baclofen. As amiotrofias e as parésias podem ser em parte compensadas por uma fisioterapia bem orientada, inacessível, no entanto, à maioria dos doentes. Os sinais extrapiramidais, mais raros, são dos mais susceptíveis de tratamento: a distonia responde aos anticolinérgicos, menos bem aos dopaminérgicos que, por outro lado, compensam o síndrome parkinsoniano, pouco incapacitante nos nossos doentes. Noutros países, o benefício obtido com a L-dopa é realçado^{6,7}, a começar no título da publicação original de Woods e Schaumburg⁸, que consideravam, com algum optimismo, a DMJ "uma entidade parcialmente tratável".

Em 1988, Mello e Abbot⁹ publicaram um ensaio terapêutico duplamente cego com sulfametoxazol e trimetoprim [Bactrim]^R num doente de tipo 2, com melhoria na espasticidade e na marcha. Dois anos depois, foram referidos bons resultados com as mesmas drogas num caso francês de tipo 1, com benefício adicional na distonia¹⁰. Desconhece-se o eventual mecanismo de actuação da associação e, a provar-se eficaz, qual dos seus componentes é responsável pelo efeito terapêutico.

Tivemos ocasião¹¹ de efectuar um ensaio cruzado e duplamente cego com a mesma associação em nove casos de DMJ, com idades compreendidas entre 24 e 78 anos e 9 a 23 anos de evolução, quatro pertencentes aos tipos 1 e 2, cinco ao tipo 3, usando um protocolo de avaliação semelhante ao de Mello e Abbot, incluindo um questionário subjectivo, uma escala para os sinais neurológicos e testes motores cronometrados. Os resultados, analisados pelo teste de Wilcoxon para o efeito terapêutico e pelo teste de Mann-Whitney para o efeito de ordem, apontam para uma melhoria significativa na marcha e em alguns testes cronometrados (articulação verbal, coordenação motora), sem modificação significativa das pontuações neurológicas.

O ensaio tem limitações óbvias: inclui poucos doentes, alguns deles em estados avançados em que uma melhoria significativa não poderia ser razoavelmente esperada e, sobretudo, com um predomínio de casos de tipo 3, sem espasticidade nem distonia, duas das manifestações aparentemente sensíveis ao [Bactrim]^R nos ensaios anteriores.

Estamos, pois, longe de uma terapêutica eficaz. Sendo a DMJ uma atrofia de sistemas múltiplos, também os tratamentos de substituição têm de ser múltiplos, com interferências e adição de efeitos colaterais. No entanto, os doentes que internamos para ajuste terapêutico beneficiam consideravelmente, à custa de um investimento importante, tanto a nível médico como do pessoal de enfermagem e de reabilitação. É nossa experiência também que a maior

parte dos doentes voltam ao seu estado primitivo poucos meses depois, pelo abandono do tratamento (por razões económicas ou de desinteresse da família e dos médicos assistentes) e impossibilidade de fisioterapia.

Os doentes com DMJ sofrem, como todos, das deficiências da saúde e assistência em Portugal, e as suas famílias da falta de serviços de apoio domiciliário minimamente organizados. Neste campo, como na prevenção, o papel de uma associação de doentes seria fundamental. Sabemos que está em formação uma dessas associações nos Açores, onde terá de lutar com a dificuldade adicional da coordenação do trabalho entre as diversas ilhas.

Prevenção

Tentar prevenir uma doença genética, sobretudo quando dominante, de início tardio e ainda sem marcador bioquímico ou genético, parece, à partida, uma tarefa quase impossível. No entanto, a sua alta prevalência em determinadas regiões e a gravidade das suas formas precoces justificam a necessidade da sua contenção.

Essa prevenção passa pelo aconselhamento genético, nas suas diversas fases: diagnóstico seguro da doença, conhecimento exacto do risco de transmissão e dos factores que o podem aumentar (casamento entre indivíduos em risco) ou diminuir (idade do eventual transmissor, apreciada no contexto da idade habitual de início para cada família, cada geração e fratria), critérios de suspeita de portadores, divulgação da doença e do seu modo de transmissão, permeabilidade dos membros das famílias atingidas.

Diagnóstico: Já o discutimos detalhadamente, e propusemos critérios de distinção com outras afecções próximas, como as atrofias olivo-ponto-cerebelosas e dentato-rubro-pálido-luysianas. Apesar de modo idêntico de hereditariedade e, portanto, de riscos idênticos de transmissão, o interesse desta distinção não é puramente académico, uma vez que ambas têm em regra evoluções mais rápidas e implicações mais graves (demência, cegueira) do que a DMJ. É também óbvio que os estudos de ligação genética têm de ser feitos com base num diagnóstico sólido.

Risco de transmissão: O risco *a priori* de 50%, comum às doenças autossómicas dominantes, pode ser modulado pelo conhecimento da doença. Existem actualmente nas Flores quatro casais constituídos por portadores possíveis ou obrigatórios, o que eleva a probabilidade de transmissão para 75% (dos quais 25% de risco de homozigotia, presumivelmente com formas mais graves). Por outro lado, o risco vai obviamente diminuindo com a idade,

sem nunca se extinguir (conhece-se um heterozigoto obrigatório com 90 anos¹²). Sequeiros¹² propôs, por isso, que se usasse no aconselhamento genético a penetração dependente da idade utilizando o cálculo bayesiano, o que permitiria tranquilizar relativamente os indivíduos em risco, em termos de menor probabilidade de desenvolverem a doença. Deveriam também ser incorporadas outras informações que sabemos influenciarem a idade de início, tais como a idade de início do transmissor e a idade de início habitual para essa família, geração e fratria. No entanto, dado o início muito tardio, os riscos diminuem lentamente e, portanto, dificilmente esta informação será fornecida a tempo de as pessoas em risco decidirem com conhecimento de causa sobre a sua procriação.

Detecção de portadores

Vimos atrás que só no tipo 1, de início precoce, a doença interfere com o comportamento reprodutor. O facto da maioria dos casos manifestarem a doença já depois da idade habitual de casamento e procriação torna indispensável, para um aconselhamento orientado, encontrar métodos de detecção precoce de portadores.

Detecção clínica e laboratorial: A primeira possibilidade é utilizar critérios clínicos e laboratoriais. É conhecido, na DMJ¹³ e noutras ataxias hereditárias¹⁴, que alguns indivíduos em risco apresentam ligeiras alterações do exame neurológico, na ausência de qualquer manifestação subjectiva. São os que, desde 1976, nos habituámos a designar como “suspeitos”. Esse grupo compreende, na nossa série, 53 pessoas, 16 do sexo masculino e 37 do sexo feminino, com idades variando entre 6 e 73 anos. Representam 25,1% dos indivíduos em risco.

As alterações encontradas nos 53 “suspeitos” estudados foram: hiperreflexia osteotendinosa, associada ou não a clonus esgotável dos pés (81,1%); retracção palpebral (33,9%); ligeira ataxia de marcha nas provas sensibilizadas (28,3%); nistagmo horizontal esgotável (20,7%). A própria valorização destes pequenos sinais é delicada: todos sabemos como a ansiedade (estado habitual dos indivíduos em risco sujeitos a um exame neurológico que pensam ir ditar um diagnóstico) pode favorecer um regime de reflexos mais vivo, o mesmo acontecendo com o nistagmo esgotável e o desequilíbrio. Também a valorização da retracção palpebral é em certos doentes difícil.

Os estudos imagiológicos realizados em quatro indivíduos “suspeitos” — três tomografias cerebrais e uma ressonância magnética — revelaram atrofia vermiana e do tronco cerebral em todos (em dois cerca de três anos antes do

início clínico). Não foram feitos controlos em indivíduos em risco com exame neurológico normal.

O grupo dos “suspeitos” teve um seguimento de 1 a 15 anos, infelizmente também irregular, como aconteceu com o dos doentes. No decurso desse *follow-up* 11 pessoas (18,8% dos “suspeitos”) iniciaram a doença (tiveram as primeiras queixas e o exame neurológico tornou-se ineludivelmente anormal), 1 a 12 anos após terem sido postas em evidência as pequenas alterações descritas. A percentagem é mais elevada se se considerar que, logicamente, todos estão incluídos no grupo com mais de 1 ano de seguimento (45,5%). Os restantes 42 “suspeitos” permaneceram estáveis ou desenvolveram outras alterações, mantendo-se sem queixas e levando uma vida normal. Inversamente, só três indivíduos em risco (1,9% dos considerados assintomáticos), com exame neurológico normal 8 a 12 anos antes do início clínico, passaram ao grupo dos doentes.

Dos 11 “suspeitos” que vieram a ter a doença, 10 tinham sinais piramidais (1-12 anos antes do início), dois retracção palpebral (2 e 8 anos), um nistagmo (1 ano), um ataxia (1 ano), um ligeira limitação do olhar vertical (1 ano). Parece pois ser a hiperreflexia o indicador de risco mais frequente e mais precoce, seguido da retracção palpebral, funcionando os outros sinais como indicadores de proximidade do aparecimento da doença.

Este não é, evidentemente, um estudo prospectivo, dada a grande irregularidade de seguimento. Penso, no entanto, que seria interessante controlar um grupo de pessoas em risco a intervalos regulares (idealmente todos os anos), de modo a obter uma noção mais precisa do *timing* e valor prognóstico das alterações encontradas. Na ausência de um marcador genético, elas poderiam ser de alguma ajuda na detecção de portadores do gene mutante. Um outro ponto interessante que ressalta do estudo dos “suspeitos” é o facto das alterações anatómicas, avaliadas pela neuro-imagiologia (com a reserva imposta pelo reduzido número de casos e ausência de controlos), parecerem preceder as manifestações clínicas.

Alguns estudos foram feitos na América do Norte-15-17 utilizando registos dos movimentos oculares, potenciais evocados visuais e somato-sensitivos e provas vestibulares na detecção pré-clínica de portadores, com resultados animadores, mas também sem um seguimento adequado que permita avaliar do seu grau de sensibilidade. De qualquer modo, também estas alterações não eram suficientemente precoces e específicas para serem de utilidade na detecção pré-clínica dos portadores.

A busca de um marcador genético

Seguindo a evolução da investigação actual nas mais variadas doenças genéticas, é evidente que o passo seguinte no estudo da DMJ terá de ser, inevitavelmente, a descoberta de um marcador genético. Outras ataxias hereditárias foram já localizadas a nível cromossómico: a ataxia-telangiectasia¹⁸ (no braço longo do cromossoma 11), a ataxia de Friedreich¹⁹ (no braço longo do cromossoma 9), a atrofia olivo-ponto-cerebelosa clássica²⁰⁻²² (no braço curto do cromossoma 6, em ligação com os loci dos antígenos HLA).

Vários estudos de ligação em famílias com DMJ têm sido feitos em diversos centros, utilizando quer os polimorfismos celulares e séricos tradicionais, quer os polimorfismos do ADN²³⁻²⁸. Se foi possível fazer algumas exclusões importantes, como a de ligação ao cromossoma 6²⁹ (provando assim que a OPCA clássica e a DMJ são bem distintas e não alélicas) e a de ligação ao locus da doença de Huntington no cromossoma 4³⁰, não se chegou ainda a um resultado definitivo na identificação do marcador e na localização do gene mutante. Para além da utilidade imediata num aconselhamento genético orientado, a descoberta do gene mutante levará necessariamente à sua sequenciação e, no futuro, à identificação da proteína anormal que a mutação induz e que estará na base das manifestações da doença. Isso permitirá também, para além de esclarecer o seu mecanismo fisiopatológico, agora discutido em termos puramente teóricos, procurar armas terapêuticas lógicas para a DMJ e, a outra escala, ajudar à definição nosológica correcta das ataxias hereditárias.

A utilização desse marcador na detecção de portadores vai certamente levantar problemas éticos, sociológicos e até legais, à semelhança do que tem acontecido com outras afecções. Sendo a DMJ em muitos casos, com a excepção das formas de início mais precoce, relativamente benigna e podendo manifestar-se em idades avançadas, será indispensável uma reflexão prévia antes de se tentar a sua aplicação sistemática. Factores a considerar serão certamente os que, como vimos, influenciam o aparecimento de formas precoces, tais como a idade média de início na família e no transmissor.

As regras básicas do diagnóstico pré-clínico, nomeadamente confidencialidade absoluta e liberdade de decisão das pessoas em risco, sem qualquer forma de pressão por parte de médicos, parentes, entidades patronais, companhias de seguros ou quaisquer outros grupos potencialmente interessados, têm, obviamente, de ser asseguradas. Tende também a haver uma concordância geral sobre o facto das crianças não deverem ser submetidas a testes pré-clínicos³¹.

Permeabilidade das pessoas em risco ao aconselhamento genético

"Oh we were told of the 50% risk factor of the disease several years ago in the clinic, but we both only heard the 50% about *not getting* the disease because we desperately wanted to have children. Of course now that my husband is sick and we have two children I wish we had heard and paid attention to the 50% chance of *getting* the disease."

Esta é uma citação tirada de um estudo da antropóloga Marie Boutté³² sobre as reacções de membros de famílias com DMJ dos Açores e dos EUA, ao risco da doença e da sua transmissão, estudo este semelhante a alguns dos de Nancy Wexler na doença de Huntington³³ (com a diferença de Wexler pertencer, ela mesma, ao grupo de risco).

Sendo a doença habitualmente bem conhecida dos membros da família, que seguiram de perto a sua evolução num dos pais, o medo vive com eles em permanência, sobretudo se continuam integrados no ambiente familiar. Por isso alguns fogem, encontrando emprego noutras ilhas ou no continente. Muitos não gostam de serem com ela confrontados, evitando visitar familiares afectados ou vir às consultas que organizamos nos Açores. É frequente as pessoas em risco faltarem quando contactadas e serem depois muito receptivas se as procuramos em casa. Nos EUA, muitos membros de famílias atingidas deixaram de frequentar as reuniões clínicas organizadas pela IJDF. Com raras excepções, a maioria não procura auxílio médico, nem para aconselhamento, nem para diagnóstico, a não ser quando já muito incapacitados. Curiosamente, alguns não revelam a existência de casos semelhantes na família, donde a frequência do diagnóstico de esclerose em placas. Uma doente referida por Boutté³⁴ afirmava: "Sei que tenho a doença de Machado-Joseph, foi diagnosticada há anos numa sessão clínica. Mas nunca digo isso: digo que tenho esclerose múltipla, porque é mais fácil perceberem e não é hereditária. Não quero que se reflita sobre os meus filhos".

As pessoas em risco ficam pois sozinhas na sua ansiedade, o que constitui só por si uma segunda doença³². Habitua-se a auto-observar-se, todo o pequeno desequilíbrio é interpretado como o primeiro sinal. Quando ia com regularidade aos Açores, apercebi-me que algumas começavam, a partir da primeira consulta, a repetir em casa o exame neurológico, e iam comentando o que fazia dizendo: "isto faço bem, não há problemas" ou "isto eu não costume fazer". Do mesmo modo, tornam-se peritas na identificação de pequenos sinais em parentes, às vezes durante festas familiares ou comunitárias (é sabido que a ingestão de álcool pode potenciar uma ligeira ataxia), e corrigem por vezes o início apontado pelos próprios, dizendo que já anos antes se notavam, nos olhos ou na marcha, sinais da doença.

A permeabilidade deste grupo ao aconselhamento genético clássico, feito na base dos 50% de risco (a roleta russa a que se refere Wexler³³), é praticamente nula. Claro que nem sempre ele é feito de um modo profissional e regular, aparecendo integrado nas consultas neurológicas e dependendo de visitas ocasionais aos Açores. Em relação às famílias do continente que seguimos, tem acontecido o mesmo que com a PAF: se observamos periodicamente os filhos dos nossos doentes até aos vinte anos, a regra é desaparecerem, para regressarem depois já com filhos e, por vezes, já afectados.

O estudo de Boutté revela que cerca de 50% dos indivíduos em risco fariam um teste pré-clínico, se existisse um marcador. O que aconteceu com a doença de Huntington foi que 56 a 84% se mostraram dispostos a fazê-lo antes dele existir, mas que muitos mudaram de opinião quando ele se tornou possível³⁴. Um inquérito por carta feito a 387 indivíduos em risco de doença de Huntington³⁵ revelou que só 12,6% estariam dispostos a entrar num programa de rastreio. A nossa experiência com a PAF mostra que o diagnóstico pré-clínico é, evidentemente, excelente para as pessoas com resultado negativo (quando acreditam nele), libertando-os da angústia da espera da doença e do sentimento de culpabilidade em relação aos filhos, mas que não altera significativamente o comportamento reprodutor das que têm resultado positivo. Mesmo a possibilidade de diagnóstico pré-natal, já existente para aquela doença, tem sido ainda muito pouco utilizada.

Informação e divulgação

Aconselhamento genético é, no fundo, informação: conseguir esclarecer as pessoas em risco sobre a natureza, modo de transmissão e risco da doença, de uma maneira clara e neutra, de modo a fornecer todos os elementos necessários a uma decisão, sem no entanto a forçar. Para além do contacto médico-doente, parece-me essencial a divulgação da doença através da comunicação social e, sobretudo, através de outras pessoas na mesma situação. Quantas vezes me tenho sentido inadequada ao expor a questão a pessoas cuja angústia, escondida ou expressa, conheço bem. É impossível, por muita experiência que se tenha, contornar o facto, por demais evidente, de que se está a falar “de fora”. E assisti, nos primeiros anos de actividade da Associação Portuguesa de Paramiloidose, ao impacto das palavras de um doente ou de uma pessoa em risco. Daí a importância das associações de doentes: são pessoas que estão no mesmo barco, habituando-se a falar de problemas comuns e a defender interesses comuns. Ninguém as pode substituir.

DMJ: Que futuro?

No plano científico, o primeiro passo terá de ser, inevitavelmente, a identificação de um marcador genético e localização do locus da doença, seguida da sequenciação do gene. A partir daí virão, espero, pistas para o possível defeito proteico básico. Conhecido o terreno, será fascinante assistir ao estudo da sua interferência funcional nos diferentes sistemas anatómicos envolvidos, a nível de metabolismo e morte celular, e da repercussão secundária sobre os diversos neurotransmissores. Tornar-se-á então possível tentar influenciar de um modo lógico a claudicação dos diferentes sistemas atingidos, tornando a intervenção terapêutica *racional*. Um tratamento causal, dirigido contra os efeitos directos do gene mutante, será outra possível consequência, se bem que neste momento ainda remota.

No plano da investigação genética seguir-se-á a tentativa de identificação e localização dos genes modificadores, cuja existência se presume do estudo da variação fenotípica da doença^{12,36}.

Mais próxima, e imediatamente útil na contenção da doença, se bem conduzida, seria a possibilidade de um diagnóstico pré-natal, obviamente a melhor e menos injusta arma na prevenção de uma doença genética. Se bem que seguramente muito difícil e demorada, essa será uma luta que vale a pena travar.

Também no plano assistencial quase tudo está por fazer, mesmo após um rastreio mais completo das famílias afectadas: campanhas de sensibilização aos mais diversos níveis, do público em geral, dos médicos assistentes das famílias atingidas, dos seus membros, das autoridades locais, regionais e nacionais, de modo a permitir melhorar a informação e conseguir algumas medidas de protecção e apoio aos doentes e às famílias, até agora os únicos a suportar toda a carga, de trabalho e de angústia, que a doença traz consigo.

Bibliografia

1. Kark RAP, Blass JP, Spence A: Physostigmine in familial ataxias. *Neurology* 1977; 27: 70-72.
2. Sorbi S, Piacentini S, Marini P, et al: Lack of efficacy of phosphatidylcholine in ataxias. *Neurology* 1988; 38: 649-650.
3. Trouillas P, Brudon F, Adeleine P: Improvement of cerebellar ataxia with levorotatory form of 5-hydroxytryptophan. A double-blind study with quantified data processing. *Arch Neurol* 1988; 45: 1217-1222.
4. Klein P: Cerebellar ataxia (Letter). *Arch Neurol* 1989; 46: 1166.
5. Trouillas P: Cerebellar ataxia (Letter). *Arch Neurol* 1990; 47: 12.

6. Subramony SH, Currier RD, Jackson JF, Collins GM, Jackson MS: Presumed Joseph disease: three new kindreds and response to anti-parkinson drugs (Abs). *Ann Neurol* 1990; 28: 233.
7. Guo-Xiang W: Clinical research on MJD. (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
8. Woods BT, Schaumburg HH: Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia; a unique and partially treatable clinico-pathological entity. *J Neurol Sci* 1972; 17:149-166.
9. Mello FA, Abbot BP: Effect of sulfamethoxazole and trimethoprim on neurologic dysfunction in a patient with Joseph's disease. *Arch Neurol* 1988; 45:210-213.
10. Sangla S, De Broucker Th, Cheron F, Cambier J, Dehen H: Amélioration d'une maladie de Joseph par la sulfaméthoxazole-triméthoprime. *Rev Neurol* 1990; 146: 213-214.
11. Coutinho P, Correia M, Silva C, Guimarães J, Lemos AP, Amado J, Matos E: Machado-Joseph disease: a double-blind trial with sulphametoxazole and trimethoprim in nine patients (em publicação).
12. Sequeiros J: Análise genética das causas de variação fenotípica na doença de Machado-Joseph. Tese de doutoramento. Porto, 1989.
13. Coutinho P: Machado-Joseph disease: minor neurologic abnormalities in individuals at risk. *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
14. Schut JW, Book JA: Hereditary ataxia: difference between progeny of male and female affected members and a definition of certain signs useful in detecting the disease prior to onset of clinical symptoms. *Arch Neurol Psychiat* 1953. 70: 169-179.
15. Dawson DM, Feudo P, Zubich HH, Rosenberg RN, Fowler HL: Electro-oculographic findings in Machado-Joseph disease. *Neurology* 1982; 32: 1272-1276.
16. Hotson JR, Langston EB, Louis AA, Rosenberg RN: The search for a physiologic marker of Machado-Joseph disease. *Neurology* 1987; 37: 112-116.
17. Mallinson AI, Longridge NS, MacLeod PM: Machado-Joseph disease: the vestibular presentation. *J Otolaryngol* 1988; 15: 184-188.
18. Gatti RA, Berkel I, Boder E et al: Localization of an ataxia-telangiectasia gene to chromosome 11q22-23. *Nature* 1988; 336: 577-580.
19. Chamberlain S, Shaw J, Wallis J et al: Genetic homogeneity at the Friedreich ataxia locus on chromosome 9. *Am J Hum Genet* 1989; 44: 518-521.
20. Jackson JF, Currier RD, Terasaki PI, Morton NE: Spinocerebellar ataxia and HLA linkage: risk prediction by HLA typing. *N Engl J Med* 1977; 296: 1138-1141.
21. Haines JL, Schut LJ, Weitkamp LR et al: Spinocerebellar ataxia in a large kindred: age at onset, reproduction and genetic linkage studies. *Neurology* 1984; 34: 1542-1548.
22. Frontali M, Iodice C, Spadaro M et al: Spinocerebellar ataxia (SCA 1) in two large Italian kindreds: evidence in favour of a locus position distal to G1O1 and the HLA cluster. *Ann Hum Genet* 1991; 55: 7-15.
23. Foster-Gibson CJ, Myers SM, Simpson NE, Rosenberg RN, Sequeiros J, MacLeod PM: Investigation of linkage in twelve kindreds with Machado-Joseph's disease (Abs). *Am J Med Genet* 1984; 36: 95
24. Myers SM, MacLeod PM, Forse RA et al: Machado-Joseph disease: Linkage analysis between the loci for the disease and 18 protein markers. *Cytogenetic Cell Genet* 1986; 43: 226-228.
25. Sequeiros J: Genetic linkage studies in MJD: Portuguese-Azorean population. (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.

26. Carson WJ, MacLeod PL, Vincent D, Nezarati M, Radvany J, Sequeiros J, Coutinho P, White B, Forse RA, Rosenberg RN, Rouleau GA: Linkage studies in Machado-Joseph disease. (Abs). *Am J Hum Genet* 1991; 49 (4 Supp.): 337.
27. Wakisaka A, Sasaki H, Takada A, Tashiro K, Yoshiki T: Molecular genetic studies in OPCA and MJD in Japan. (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
28. Amorim A, Prata MJ, Veiga I, Almeida VM, Santos MT, Loureiro JL, Coutinho P, Sequeiros J: Machado-Joseph disease: linkage relationships (Abs). *Am J Med Genet* 1991; 49 (4 Supp.): 355.
29. Sasaki H, Wakisaka A, Takada A et al: Linkage study of dominant OPCA and Machado-Joseph disease in Japan. (Abs). *International Symposium on Ataxia*. Boston, 1991.
30. MacLeod PM, Rouleau G, Simpson NE et al: Machado-Joseph disease: linkage analysis between the loci for the disease and a number of conventional and DNA markers. (Abs). *International Symposium on Ataxia*. Boston, 1991.
31. Harper PS, Clarke A: Should we test children for "adult" genetic disease? *Lancet* 1990; 335: 1205-1206
32. Boutté MI: Waiting for the family legacy: the experience of being at risk for Machado-Joseph disease. *Social Sci & Med* 1990; 30: 839-847.
33. Wexler N: "Russian Roulette": the experience of being "at risk" for Huntington disease. *Commission for the control of Huntington's disease and its consequences*. Vol II: Technical report. DHEW Publ N° (NIH) 78-1502, pp 397-420. US Government Printing Office, Washington, DC, 1977.
34. Boutté MI: "The stumbling disease": A case study of stigma among Azorean-Portuguese. *Soc Sci Med* 1987; 24: 209-217.
35. Quaid KA, Brandt J, Folstein SE: The decision to be tested for Huntington's disease. *JAMA* 1987; 257: 3362.
36. Sequeiros J, Grossman A, Rosenberg RN: Modifier and epistatic genes in Machado-Joseph disease (Abs). *Clin Res* 1985; 33: 331A.

Resumo.....	1
<i>Abstract</i>	2
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. A doença de Machado-Joseph (DMJ)	3
1.1.1. Identificação e caracterização da DMJ	3
1.1.2. Caracterização genética e molecular da DMJ	6
1.2. Importância das regiões 3'UTR	11
2. PERTINÊNCIA E OBJECTIVOS DO TRABALHO	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. População de estudo.....	20
3.2. Análise de regiões dos exões 10 e 11 do gene <i>A7XN3</i>	20
3.2.1. Amplificação	20
3.2.2. Sequenciação	21
3.2.3. Análise bioinformática	23
3.3. Análise estatística	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5. CONCLUSÕES GERAIS	34
6. BIBLIOGRAFIA	37
7. ANEXOS	43

Resumo

A doença de Machado-Joseph (DMJ), também denominada ataxia espinocerebelosa do tipo 3 (SCA3), é uma doença neurodegenerativa de início tardio (média 40,2 anos), transmitida de um modo autossômico dominante. A DMJ é causada por uma expansão do trinucleótido CAG na região codificante do gene *ATXN3* (14q32.1). O tamanho do tracto repetitivo explica apenas 50-75% da variação na idade de início desta doença, pelo que deverão existir outros factores responsáveis pela variabilidade clínica observada. Assim, apesar da mutação causal, no gene *ATXN3*, estar bem estabelecida, a informação acerca das regiões reguladoras deste gene, tais como a região 3'UTR, que podem influenciar os níveis de expressão do mesmo (e, em última instância, contribuir para a variabilidade clínica observada), é ainda muito reduzida. Com a realização deste trabalho pretendeu-se descrever e analisar, pela primeira vez, a variação genética na região 3'UTR (3' "untranslated region") do gene *ATXN3*, em amostras de doentes com DMJ e, analisar a eventual presença de variabilidade específica dos doentes. Pretendeu-se, para além disso verificar se a existência de polimorfismos, nesta região reguladora, podia interferir com os sinais de poliadenilação já descritos. Para tal, foram utilizadas 40 amostras de DNA genómico, das quais 30 eram de doentes DMJ (casos), pertencendo as restantes 10 amostras a indivíduos aparentemente saudáveis, sem história familiar de DMJ (controlo). Para cada amostra, foram amplificadas e sequenciadas porções do exão 10 e exão 11 do referido gene, que definem a maior parte da sua região 3'UTR. Por comparação das sequências obtidas com três sequências de cDNA, correspondendo a transcritos distintos, confirmou-se que as regiões analisadas correspondiam, efectivamente, à porção do DNA genómico que codifica para a região 3'UTR deste gene. A análise detalhada das 360 sequências obtidas, passíveis de serem analisadas, permitiu identificar, nas regiões estudadas, 10 posições polimórficas correspondentes a 10 SNPs, que já tinham sido previamente descritos. Constatou-se que os alelos mais frequentes, para cada um dos 10 SNPs detectados, eram coincidentes entre os dois grupos estudados (casos e controlos). Para além disso, verificou-se que não existiam diferenças significativas, relativamente às frequências genotípicas, entre estes dois grupos. Os dados obtidos no presente trabalho apontam no sentido de que a região analisada do gene *ATXN3* não apresente variação exclusiva nos doentes. As regiões estudadas neste trabalho abrangem quatro sequências consenso para sinais de poliadenilação. A comparação das sequências obtidas com a sequência de referência permitiu constatar que os polimorfismos observados não implicam a eliminação dos sinais de poliadenilação. No entanto, também não originam sequências consenso para novos sinais de poliadenilação. Com base nos resultados obtidos, não será expectável que a poliadenilação na região 3'UTR, do gene *ATXN3*, que foi analisada neste trabalho, possa ter influência na regulação da expressão deste gene.

O presente estudo permitiu obter dados que permitiram conhecer o tipo de variação existente na região 3'UTR do gene *ATXN3* em amostras de doentes DMJ, visando contribuir para uma melhor compreensão das bases moleculares desta doença. Para além disso, os dados aqui gerados poderão servir de base para trabalhos futuros, nomeadamente os que visem analisar a variação genética em regiões reguladoras do gene *ATXN3* e a sua relação com a variabilidade fenotípica da DMJ.

Abstract

Machado-Joseph disease (MJD), also called spinocerebellar ataxia, type 3 (SCA3), is a late onset neurodegenerative disorder (average age at onset of 40.2 years), transmitted as autosomal dominant. MJD is caused by the expansion of a CAG repeat in the coding region of the *ATXN3* gene (14q32.1). The size of the CAG tract explains only 50-75% of the variation of the age at onset for this disorder, and other factors should be responsible for the clinical variability observed in MJD. Although the causative mutation, at the *ATXN3* locus, is well established, information concerning the regulatory regions of this gene, such as the 3'UTR (3' untranslated), which can influence its levels of expression (and, ultimately, contribute to the clinical variability observed) is still very scarce. The aim of this work was to describe and analyze, for the first time, the variation in the 3'UTR region of the *ATXN3* locus, in MJD patients, and to infer the presence of variability specific of patients. The analysis of the impact of the polymorphisms identified, in terms of interference with the polyadenylation signs, already described for this gene, was, furthermore, an important objective of this work. Forty samples of genomic DNA were used, 30 belonging to MJD patients (cases), the remaining 10 corresponding to apparently healthy individuals without family history of MJD (controls). For each sample, portions of the exons 10 and 11 of the *ATXN3* gene, which define most of the 3'UTR region, were amplified and sequenced. The comparison of the sequences obtained with three DNA sequences, corresponding to different transcripts, confirmed that the analyzed regions corresponded, in fact, to the portion of the genomic DNA which encodes for the 3'UTR region of the *ATXN3* gene. The detailed analysis of the 360 analyzable sequences obtained allowed the identification of 10 polymorphic positions, corresponding to 10 SNPs, which had already been described. The most frequent alleles, for each of the SNPs identified, were coincident between the two groups analyzed (cases and controls). No significant differences on what concerns the genotypic frequencies, were found between the two groups. Data obtained in this work points to the lack of variation exclusive of the patients, in this region of the *ATXN3* gene. The regions analyzed in this work encompass four consensus sequences for polyadenylation signals. The comparison of the sequences obtained with the reference sequence showed that the observed polymorphisms are not implicated in the elimination of polyadenylation signals; however, they also fail to originate consensus sequences for new polyadenylation signals. Based on the results obtained, it does not seem expectable that polyadenylation in the 3' region of the *ATXN3* gene studied, can influence the expression of this gene.

The present study has generated data which will improve our knowledge concerning the variation of the 3'UTR region of the *ATXN3* gene in MJD patients, aiming to contribute to a better understanding of the molecular basis of this disease. Data here in generated, furthermore, can be the basis for future work, namely for those who will be targeted at analyzing the genetic variability in regulatory regions of the *ATXN3* gene and its relation with the phenotypic variability of MJD.

1. INTRODUÇÃO

1.1. A doença de Machado-Joseph (DMJ)

1.1.1. Identificação e caracterização da DMJ

A doença de Machado-Joseph (DMJ), também denominada ataxia espinocerebelosa do tipo 3 (SCA3), é uma doença neurodegenerativa de início tardio (média de 40,2 anos), transmitida de modo autossômico dominante (Coutinho, 1992). Apesar de ser considerada uma doença de manifestação tardia, foram já reportados casos extremos, com idades de início aos 4 e aos 70 anos (Coutinho, 1992; Carvalho *et al.*, 2008). A sobrevida média estimada é de 21 anos (Coutinho, 1992).

Nos anos 70, mais precisamente entre 1972 e 1976, foram descritas “três novas” doenças neurológicas, em três famílias com ascendência açoriana, residindo nos Estados Unidos da América. A família Machado, identificada por Nakano e colaboradores, em 1972 (Nakano *et al.*, 1972 *fide* Coutinho, 1992), foi a primeira família a ser estudada, tendo sido a doença presente nessa família então denominada de “doença de Machado”. No mesmo ano, foi descrita, numa família que ficou conhecida como Thomas, o que se pensou ser uma segunda doença, que tomou a designação de “degenerescência nigro-espino-dentada com oftalmoplegia nuclear” (Woods e Schaumburg, 1972 *fide* Coutinho, 1992). A terceira descrição da doença, que mais tarde viria a ser conhecida como DMJ, foi feita em 1976 por Rosenberg e colaboradores, na família Joseph, sendo então designada de “forma autossômica dominante da degenerescência estriatonígrica” (Rosenberg *et al.*, 1976 *fide* Coutinho, 1992).

Ao longo dos anos esta doença teve várias designações, tais como “doença açoriana do sistema nevoso”, “doença de Joseph”, “doença de Machado” (já anteriormente mencionada), entre outras. Após a unificação da doença como uma única entidade clínica, a designação actualmente utilizada de “doença de Machado-Joseph” foi-lhe atribuída, em 1981, por Coutinho e Sequeiros. Essa designação foi-lhe atribuída pelo facto da família Machado ter sido a primeira a ser estudada, e da família Joseph incluir o maior grupo de indivíduos afectados, até então conhecido. Para além disso, estas duas famílias apresentavam os dois fenótipos extremos, em relação à idade de início da doença, bem como à severidade do quadro clínico (Coutinho e Sequeiros, 1981 *fide* Coutinho, 1992).

Clinicamente, a DMJ é caracterizada por um quadro complexo e heterogéneo, uma vez que envolve vários sistemas neurológicos, nomeadamente, o cerebeloso, o oculomotor, o piramidal, o extrapiramidal e o periférico (Coutinho, 1992). As principais manifestações desta doença são a ataxia cerebelosa (incoordenação dos movimentos, manifestação clínica mais frequente, presente em 98,6% dos doentes) e a oftalmoparésia externa progressiva - OEP (limitação dos movimentos oculares, segunda manifestação clínica mais frequente, presente em 93,1% dos doentes). A estas manifestações principais podem estar associados, em graus variáveis, sinais piramidais, extrapiramidais e periféricos (Coutinho, 1992).

Devido à elevada variabilidade fenotípica que caracteriza a DMJ, foram propostos três tipos clínicos principais (Coutinho e Andrade, 1978 *fide* Coutinho, 1992). O tipo 1 tem um início mais precoce, em média aos 24 anos, apresenta uma evolução mais grave, sendo caracterizado por ataxia

cerebelosa, OEP e sinais piramidais e extrapiramidais marcados. O tipo 2 tem uma idade de início intermédia (média aos 40 anos), é o tipo clínico mais frequente, no qual se manifestam a ataxia cerebelosa, a OEP, com ou sem sinais piramidais associados, e com sinais extrapiramidais e periféricos que, quando existem, são ligeiros. O tipo 3 tem um início mais tardio (média aos 47 anos), com desenvolvimento mais lento, caracterizado por ataxia cerebelosa, OEP, sinais piramidais e extrapiramidais ligeiros ou ausentes, e sinais periféricos muito evidentes. Um quarto tipo, que se caracteriza por sinais cerebelosos e parkinsonismo, foi descrito, mais tarde, por Suite e colaboradores (Suite *et al.*, 1986 *fide* Bettencourt, 2009). De um modo geral, todos os casos se manifestam, na fase mais inicial, por ataxia cerebelosa e OEP, diferenciando-se *a posteriori*, após um período de 5 a 10 anos, em tipo 1 ou 3, com o aparecimento de sinais piramidais e extrapiramidais ou sinais periféricos evidentes, respectivamente; podem, por outro lado, após o período anteriormente referido, estabelecerem-se como tipo clínico 2 (Coutinho, 1992).

Apesar de a DMJ ser, à semelhança de outras ataxias espinocerebelosas (SCAs), actualmente incurável, é possível a diminuição da intensidade de alguns dos sintomas, manifestados durante o curso da doença, mediante a administração de fármacos adequados, que podem, assim, melhorar a qualidade de vida destes pacientes (Paulson, 2007).

A DMJ é considerada a SCA mais comum a nível mundial, representando cerca de 15 a 45% da totalidade das SCAs em diversos países e etnias (Paulson, 2007). No arquipélago dos Açores, mais precisamente na ilha das Flores, a doença atinge os mais elevados valores de prevalência a nível mundial (1:239) (Bettencourt *et al.*, 2008a). Dada a elevada representação

desta doença, nas ilhas açorianas, a DMJ tem sido objecto de estudo por diversos investigadores desta área. Assim, em 1996 foi feito um extenso levantamento epidemiológico e genealógico das trinta e quatro famílias açorianas com DMJ (Lima, 1996). A investigação da origem da mutação nos Açores, com base na reconstituição das famílias afectadas, foi também alvo de análise (Lima, 1996; Lima *et al.*, 1997). Estudos dos mecanismos relacionados com a dinâmica mutacional do *locus* da DMJ foram também empreendidos (Lima *et al.*, 2005; Bettencourt *et al.*, 2008a; b). Do mesmo modo, trabalhos que incidem sobre aspectos moleculares relacionados com o gene causal da DMJ têm sido desenvolvidos, nomeadamente no que se refere ao estudo da variação existente a nível dos transcritos deste gene (Bettencourt *et al.*, 2010a; b). Será ainda pertinente referir os trabalhos sobre o programa açoriano de Aconselhamento Genético e Teste Preditivo para a DMJ (Lima *et al.*, 2001; Gonzalez *et al.*, 2004).

1.1.2. Caracterização genética e molecular da DMJ

As doenças genéticas de transmissão dominante são, normalmente, raras. A DMJ, cuja transmissão é autossómica dominante, como foi referido anteriormente, está inserida nesse grupo de doenças raras, sendo os doentes, na sua grande maioria, heterozigóticos (Zlotogora, 2006).

Nos indivíduos homozigóticos, descritos em número muito reduzido, o fenótipo apresenta-se com uma maior severidade e com um início mais precoce, devido ao facto de possuírem o alelo mutado em ambos os cromossomas (Carvalho *et al.*, 2008). Isto indica que a dosagem génica é

importante na determinação da idade de início desta doença, bem como da sua severidade (Lima, 2010).

O gene da DMJ apresenta uma penetrância praticamente completa, com um valor estimado de 98% (Sequeiros, 1996 *fide* Bettencourt *et al.*, 2008a). Os "saltos de gerações" são raros nas famílias com esta doença e os casos de portadores obrigatórios assintomáticos parecem ser explicados quer pela morte precoce dos indivíduos, em relação à idade média de início da doença, quer pela emigração, o que impede a confirmação do estatuto para a doença, nesses indivíduos (Coutinho, 1992). No entanto, o padrão penetrância é dependente da idade, o que significa que o risco residual depende da idade do indivíduo, ou seja, à medida que a idade avança, e o indivíduo em risco permanece assintomático, a probabilidade de vir a desenvolver a doença tornar-se-á cada vez mais reduzida (Bettencourt *et al.*, 2008a).

A DMJ é causada por uma expansão do trinucleótido CAG na região codificante do gene causal (Kawaguchi *et al.*, 1994), que conduz, ao nível da proteína, a uma expansão de um tracto de poliglutamina. A DMJ insere-se, desta forma, num grupo de doenças denominadas "doenças de poliglutamina" (doenças "poly-Q").

O gene responsável pela DMJ (*ATXN3*) está localizado no braço longo do cromossoma 14 (14q32.1) (Takiyama *et al.*, 1993) e tem uma extensão de aproximadamente 48,2kb (Ichikawa *et al.*, 2001). A mutação da DMJ consiste, como mencionado anteriormente, na expansão de um triplete CAG, que se localiza no exão 10 do referido gene, a 5' (Kawaguchi *et al.*, 1994).

Foram, inicialmente descritos 11 exões para o gene *ATXN3* (Ichikawa *et al.*, 2001); 2 exões adicionais foram, posteriormente, descritos (o exão 6a e o 9a) (Bettencourt *et al.*, 2010a) (Figura 1). Algumas porções do exão 10 e do exão 11, que correspondem às regiões estudadas no presente trabalho, são utilizadas por "splicing" alternativo e poliadenilação diferencial para formar a região 3'UTR ("untranslated region", ou seja, região não traduzida) do RNA mensageiro (mRNA). Segundo a descrição de Ichikawa e colaboradores (2001), o exão 10 tem uma extensão de 1099pb e contém uma sequência consenso (AATAAA), para um sinal de poliadenilação (Figura 1); o exão 11, por sua vez, é composto por 6046pb e contém sete sequências consenso (AATAAA) para sete sinais de poliadenilação. Dependendo da porção dos exões 10 e 11 que é incluída no mRNA, a região 3'UTR poderá ter uma maior ou menor extensão.

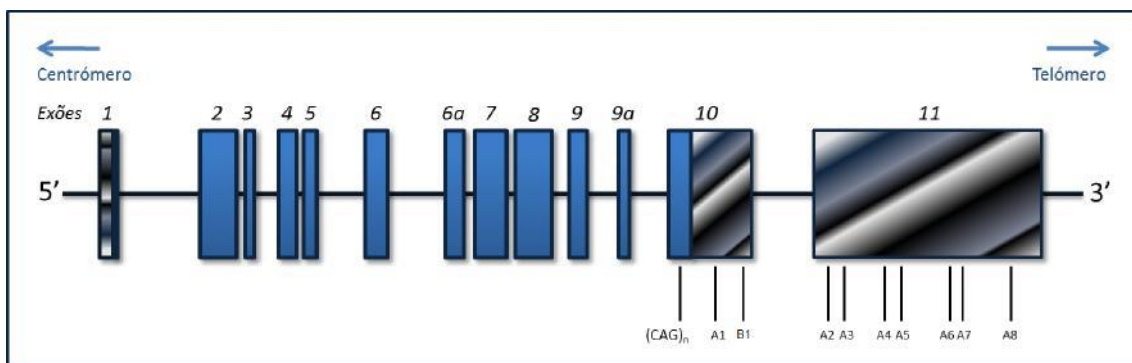


Figura 1. Representação esquemática do gene *ATXN3*. Os exões estão numerados de 1 a 11 e estão representados como rectângulos. Os rectângulos preenchidos a azul indicam as regiões codificantes, o rectângulo com linhas horizontais representa a região 5'UTR e os rectângulos com linhas diagonais correspondem à região 3'UTR. A localização do tracto polimórfico $(CAG)_n$ está indicado. As sequências consenso para os 8 sinais de poliadenilação previamente descritos estão indicadas de A1 a A8 (Ichikawa *et al.*, 2001). B1 é um possível sinal de poliadenilação adicional localizado no final do exão 10 (adaptado de Bettencourt, 2009).

O gene *ATXN3* codifica uma proteína, denominada ataxina-3. A ataxina-3 pertence ao grupo das cisteína-proteases e tem um peso molecular de 42 kDa, na sua forma nativa. Estruturalmente é composta por 339 aminoácidos e por um número variável de glutaminas, que constituem o tracto poly-Q (Kawaguchi *et al*, 1994). A ataxina-3 é composta por um domínio Josefina (JD), na porção N-terminal, enquanto na extremidade C-terminal contém dois ou três motivos de interacção com a ubiquitina (UIMs) e o tracto poly-Q. Sabe-se que a forma nativa da proteína tem uma função de enzima desubiquitinante, na via proteossoma das ubiquitinas. Assim, e dadas as várias funções que têm sido propostas para a ataxina-3, pensa-se que a proteína normal participa em vias de controlo celular da qualidade das proteínas (Lima, 2010).

O gene *ATXN3* expressa-se ubiquamente, em tecidos neuronais e não neuronais. Nos neurónios, a proteína nativa encontra-se essencialmente no citoplasma; a proteína mutada, no entanto, é observada quer no núcleo quer no citoplasma das células (Paulson, 1997). Pensa-se que patologia poderá surgir, como consequência de um ganho de função neurotóxica pela proteína mutada, uma vez que, contém uma expansão do tracto poly-Q. Na presença da ataxina-3 mutada observa-se a formação de inclusões neuronais intranucleares (Paulson, 2007). Este tipo de inclusões intranucleares é frequentemente encontrado no cérebro de pacientes, portadores desta e outras doenças "poly-Q". Apesar destas inclusões existirem em doentes com DMJ, o padrão observado não se correlaciona totalmente com as regiões afectadas do cérebro e, portanto, o seu papel na neurodegeneração, ainda não está estabelecido (Paulson, 2007).

No locus da DMJ, os alelos normais apresentam entre 12 e 44 repetições do tripleto CAG, enquanto os alelos expandidos apresentam consensualmente um número de repetições que varia entre 61 a 87 (Maciel *et al.*, 2001). O número de repetições CAG está inversamente relacionado com a idade de início da DMJ, ou seja, quanto maior o número de tripletos CAG, menor será a idade de início. No entanto, o tamanho do tracto repetitivo explica apenas cerca de 50 a 75% da variação na idade de início (Lima, 1996; Bettencourt *et al.*, 2010b). Para além de o tamanho do alelo expandido estar correlacionado de modo inverso com a idade de início, a extensão do tracto CAG correlaciona-se, ainda, com a frequência de sinais clínicos particulares, tais como sinais piramidais, que são mais frequentes em indivíduos com tractos repetitivos maiores (Takiyama *et al.*, 1995). O facto da correlação entre o tamanho do tracto CAG e a idade de início da doença ser incompleta implica que terão de existir outros factores que contribuam para a explicação da restante variação na idade de início da doença, nomeadamente genes modificadores, que poderão interagir com o gene da DMJ. Para além disso, poderão, ainda, ocorrer variações no próprio gene *ATXN3* (para além do próprio tracto CAG), quer na sua região codificante, quer em zonas reguladoras (nomeadamente a nível do promotor, da região 5'UTR e da região 3'UTR). Estas zonas têm, portanto, potencial para melhorar as correlações genótipo-fenótipo. Polimorfismos localizados, por exemplo, na região 3'UTR, que afectem o processamento e estabilidade do mRNA, poderão ter efeitos a nível da expressão génica, podendo dessa forma influenciar o fenótipo da doença (Cooper e Krawczak, 1993).

1.2. Importância das regiões 3'UTR

Nos seres eucariotas os precursores do mRNA, pré-mRNAs ou transcritos primários, são transcritos no núcleo, a partir do DNA genómico, pela enzima RNA polimerase II. Estes ainda não representam o mRNA maduro, ou seja, o mRNA funcional. Para que tal aconteça, esses transcritos têm que sofrer um conjunto de alterações bioquímicas, mecanismos denominados globalmente por "processamento do mRNA"; só então o mRNA pode ser transportado para o citoplasma, onde ocorre a sua tradução em proteínas. Os mecanismos que ocorrem a nível da maturação do mRNA são (Figura 2): o "capping", o "splicing" e a poliadenilação que, seguidamente, serão descritos em maior detalhe (Mandel *et al.*, 2008).

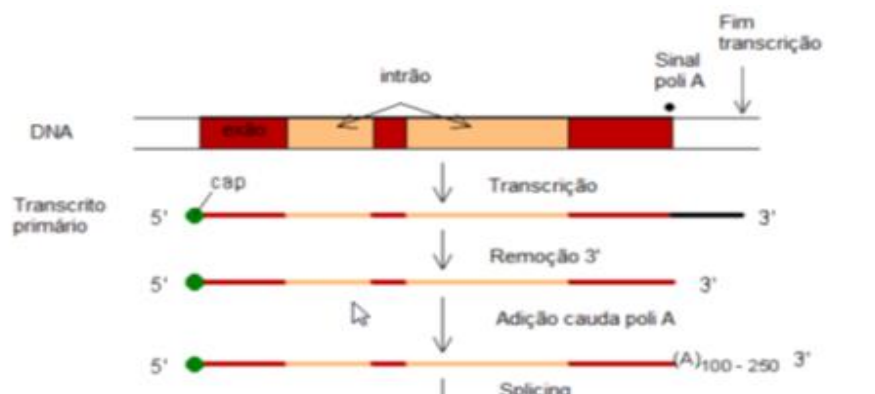


Figura 2. Mecanismos envolvidos na maturação do mRNA (adaptado de *Molecular Biology Web Book: Chapter 5*, disponível em: <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch5A.htm>).

O "capping" ocorre logo após a transcrição e consiste na adição de um resíduo de guanina metilada (7-metilguanosina) ao primeiro nucleótido do pré-mRNA, por uma ligação fosfodiéster (5'-5'), formando uma estrutura denominada de "cap". Todas essas reações são catalisadas por enzimas específicas. O "cap" tem algumas funções peculiares tais como: proteger a extremidade 5' do transcrito do ataque de exonucleases, facilitar o transporte do núcleo para o citoplasma e facilitar o "splicing" do pré-mRNA, tendo ainda um papel importante na síntese proteica (Strachan e Read, 2004).

O processo de poliadenilação, consiste na adição de uma cauda de poliadeninas (poly-A) à região 3'UTR e inclui duas etapas intimamente ligadas, a primeira das quais envolve a clivagem do pré-mRNA num local específico e, a segunda, a adição de múltiplos resíduos de adenina ao pré-mRNA. A poliadenilação, na região 3' UTR, desempenha um papel fundamental na expressão génica, porque as moléculas de mRNA processadas indevidamente não são transportadas do núcleo para o citoplasma para serem traduzidas. Para além disso, a cauda poly-A influencia a estabilidade do mRNA, bem como a sua tradução. Desta forma a poliadenilação é uma etapa fundamental na regulação da expressão génica (Lutz, 2008).

A sequência consenso do sinal de poliadenilação é altamente conservada. O hexanucleótido AAUAAA, é usado na maior parte dos genes (cerca de 80%) como sinal de poliadenilação, enquanto o hexanucleótido AUUAAA é usado com menor frequência (Edwalds-Gilbert *et al.*, 1997). O sinal de poliadenilação consiste numa sequência reconhecida pelos factores de mRNA, sendo essencial para o final da transcrição e para a eficácia da

poliadenilação do mRNA (Chatterjee e Pal, 2009). Um esquema ilustrativo do mecanismo de poliadenilação pode ser observado na Figura 3

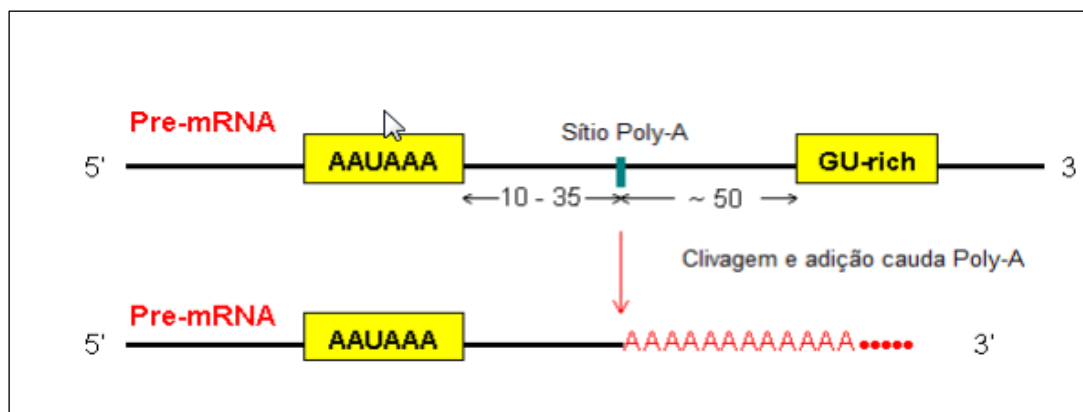


Figura 3. Poliadenilação na região 3' do pré-mRNA. O sinal importante para a clivagem é a sequência consenso **AAUAAA**. A clivagem ocorre 10-35 nucleótidos a 3' desta sequência específica. Um segundo sinal, rico em GU, está localizado cerca de 50 nucleótidos a 3' do local de clivagem (adaptado de *Molecular Biology Web Book: Chapter 5*, disponível em: <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch5A.htm>).

Nos eucariotas, os transcritos primários (pré-mRNA) apresentam dois tipos de sequências: os exões, porções codificantes do transcrito primário e que estão presentes no mRNA maduro; e os intrões, sequências não codificantes e que não estão presentes no mRNA maduro (Strachan e Read, 2004). Os intrões precisam ser retirados para dar origem a um mRNA funcional. Assim, após a adição do “cap” e da cauda poly-A, o pré-mRNA precisa sofrer o processo de excisão dos intrões e junção dos exões adjacentes. Esse mecanismo é conhecido como “splicing” do pré-mRNA. Para que o “splicing” ocorra correctamente existem sequências consenso (sequência dadora, sequência aceitadora e *branch point*), localizadas nas fronteiras

exões/intrões; as sequências dadoras e aceitadoras têm a finalidade de sinalizar o local onde irá ser efectuado o “splicing”. O “splicing” no pré-mRNA é mediado por um vasto complexo RNA-proteínas denominado “spliceossoma”, este complexo é constituído por 5 tipos de “small nuclear RNA” (snRNA) e por mais de 50 proteínas, as moléculas snRNA associam-se com proteínas para formar as pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNP) (Strachan e Read, 2004). Um esquema ilustrativo do mecanismo de “splicing” pode ser observado na Figura 4.

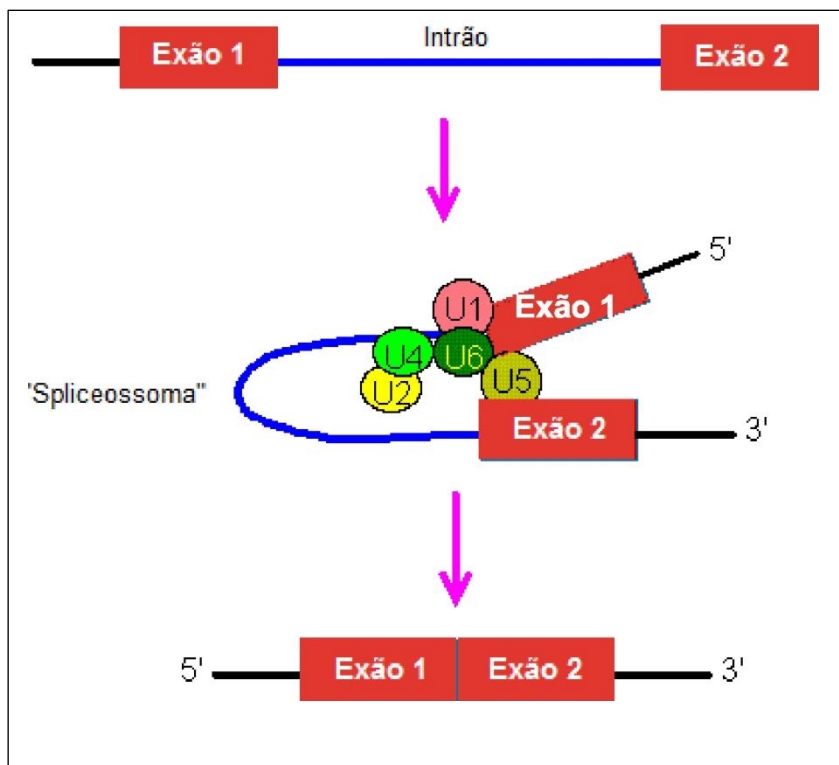


Figura 4. Esquema representativo da actuação do “spliceossoma” durante o processo de “splicing” do pré-mRNA. U1, U2, U4, U5, U6 correspondem às pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNPs) envolvidas (adaptado de *Molecular Biology Web Book: Chapter 5*, disponível em: <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch5A4.htm>).

Até há relativamente pouco tempo existia uma percepção consensual de que as únicas secções do mRNA com impacto funcional eram as regiões codificantes. Durante as últimas décadas essa visão tem sido alterada, como consequência dos estudos que têm demonstrado que as regiões 5' e 3'UTR do mRNA contêm motivos capazes de regular muitos aspectos da função do mRNA (Hughes, 2006).

A expressão génica é um processo dinâmico e sujeito a vários mecanismos de regulação. No sistema nervoso, distúrbios a nível da regulação génica não só podem causar diversas formas de cancro, como podem levar ao desenvolvimento de várias doenças neurológicas, tais como: síndrome de Rett e síndrome de X frágil (Bolognani e Perrone-Bizzozero, 2008). O primeiro passo na expressão génica é a transcrição, um processo regulado por uma grande variedade de factores de transcrição e proteínas que afectam a metilação do DNA e a estrutura da cromatina. Para além da transcrição, importantes mecanismos de regulação génica estão presentes ao nível do processamento do pré-mRNA, ao nível da tradução e ao nível pós-tradução (Regateiro, 2003). As regiões UTRs do mRNA são ricas em elementos reguladores importantes, para a exportação nuclear do mRNA, para a sua localização citoplasmática e para a própria estabilidade do mRNA, bem como para a eficiência da sua tradução (Strachan e Read, 2004). Assim sendo, tanto a região 3'UTR como a região 5'UTR do mRNA desempenham um papel importante na regulação pós-transcricional da expressão génica (Day e Tuite, 1998). A região 5'UTR contém sequências responsáveis pelo início da tradução, de forma que tem que ser mais conservada que a região 3'UTR. A região 3'UTR, contudo, é decisiva para o destino de um mRNA específico, na

maioria dos casos (Grzybowska *et al.*, 2001). A região 3'UTR também é caracterizada por formar estruturas secundárias, que desempenham um papel importante na interacção dos mRNAs com as proteínas que se ligam ao RNA (“RNA binding proteins”). Uma perturbação nessas estruturas, devido a uma mudança na sequência, alterará a interacção do mRNA com essas proteínas. Existem várias doenças que são causadas por mutações nas sequências das regiões 3'UTR ou nas “RNA binding proteins”, das quais se podem destacar alguns carcinomas, artrite crónica e algumas doenças inflamatórias (Grzybowska *et al.*, 2001). Um estudo realizado por Chen e colaboradores (2006b), em 83 variantes na região 3'UTR de vários mRNAs humanos de genes associados a doenças, revelou uma correlação entre a funcionalidade destas variantes e alterações na estrutura secundária prevista.

A investigação sobre a fisiopatologia das doenças e as mutações que afectam as funções da região 3'-UTR ainda é escassa. No entanto, os dados disponíveis sugerem que esta região do mRNA, que é muitas vezes negligenciada durante a selecção de variação genética em genes candidatos, desempenha um papel importante em várias doenças, nomeadamente na progressão da própria doença. Segundo o conhecimento actual, as doenças resultantes de mutações nos sinais de poliadenilação são raras (Chatterjee e Pal, 2009).

As doenças causadas por expansões de tripletos (grupo de cerca de 19 doenças genéticas humanas no qual também se inclui a DMJ), de acordo com a localização do motivo repetitivo, são classificadas em quatro classes: 5'UTR, exões, intrões e 3'UTR. Nesta última classe, destaca-se a distrofia miotónica do tipo 1, que é uma doença severa, causada por uma expansão do motivo CTG

na região 3'UTR do gene *DMPK*, cujo número de repetições CTG varia entre 5 e 37 nos alelos normais, podendo atingir até 3000 repetições nos alelos expandidos (Bettencourt *et al.*, 2007).

A investigação sobre as regiões 3'UTR pode ainda ser considerada incipiente, comparativamente aos dados disponíveis sobre a regulação da transcrição. Contudo, é cada vez mais claro que os mecanismos de regulação mediados pelas regiões 3'UTR poderão ter um grande impacto na patogénese. Algumas doenças multissistémicas são causadas por alterações em regiões 3'UTR, o que demonstra que um profundo conhecimento destas sequências reguladoras, bem como das proteínas específicas que se ligam a elas ("RNA binding proteins") poderá ser muito útil para a compreensão dos respectivos mecanismos da patogénese e para o desenvolvimento de uma terapia eficaz (Grzybowska *et al.*, 2001).

2. PERTINÊNCIA E OBJECTIVOS DO TRABALHO

Com a realização deste trabalho, pretendeu-se analisar e descrever, pela primeira vez em amostras de doentes DMJ, a variação genética na região 3'UTR do gene *ATXN3*, que corresponde ao gene causal da DMJ. Para tal, analisou-se, em amostras de DNA genómico (de 30 doentes DMJ e 10 indivíduos controlo), a sequência de porções do exão 10 e exão 11 do referido gene, que codificam para a região 3'UTR. O principal objectivo consistiu em identificar, nestes dois grupos de indivíduos, polimorfismos que possam, nomeadamente, interferir com os sinais de poliadenilação, eliminando os previamente descritos ou criando novos sinais. Para além disso, pretendeu-se, efectuar comparações entre o grupo de doentes DMJ e o grupo de indivíduos controlo, no que se refere aos polimorfismos encontrados, visando determinar se existe variabilidade que seja específica dos doentes.

A pertinência do estudo realizado está relacionada com o facto de, no presente momento, se conhecer muito pouco acerca da variabilidade genética presente na região que se analisou, principalmente em doentes. À semelhança de outras doenças, mencionadas na introdução do presente trabalho, também na DMJ as alterações na região 3'UTR poderão ter consequências na expressão do gene *ATXN3*. No caso da DMJ, apesar da mutação causal estar bem estabelecida, alterações nestas regiões reguladoras poderão, em última instância, contribuir para a heterogeneidade clínica observada nesta doença.

Assim, com o presente estudo pretendeu-se obter informações que possam contribuir para uma melhor compreensão das bases moleculares da DMJ e que possam servir de base para trabalhos futuros, nomeadamente

sobre variação genética em regiões reguladoras do gene *ATXN3* e a sua relação com a variabilidade fenotípica da DMJ.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. População de estudo

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizadas 40 amostras de DNA. Da totalidade das amostras, 30 eram de doentes DMJ (casos), não aparentados e confirmados molecularmente, apresentando a mutação no exão 10 do gene *ATXN3* (número de repetições CAG superior a 61). As restantes 10 amostras pertenciam a indivíduos controlo, aparentemente saudáveis, sem história familiar de DMJ, e previamente excluídos para a mutação (número de repetições CAG inferior a 44). As amostras de DNA tinham sido previamente obtidas por extracção a partir de sangue total, por métodos “standard”. Todas as amostras foram colhidas após consentimento informado. As amostras relativas aos doentes foram colhidas no âmbito de consultas de neurologia coordenadas pelo Dr. João Vasconcelos (Director de Serviço de Neurologia do Hospital Divino Espírito Santo em Ponta Delgada).

3.2. Análise de regiões dos exões 10 e 11 do gene *ATXN3*

3.2.1. Amplificação

Regiões dos exões 10 (fragmento com uma extensão de 1300 a 1500 pb) e 11 (fragmento com uma extensão de cerca de 2700pb) do gene *ATXN3*, descritas como sendo transcritas mas localizadas *downstream* ao codão «stop» (codificando parte da região 3'UTR), foram amplificadas, por PCR, usando primers específicos. Para a amplificação do exão 10 foram utilizados os primers MJD-10F (5'-AGATTTCCCTAAGATCAGCACTTCC-3') e MJD-10R (5'-

CTTCATTAAGCCATACCTACAGG-3'); para o exão 11 foram utilizados os primers MJD-11F (5'-AGGAAATGGGGATCGACCACAAAG-3') e MJD-11R (5'-CACAAACACATTCAAACGCATCCAG-3').

A reacção de amplificação foi efectuada num volume total de 25µl com 0,3µM de cada primer, 300µM de dNTPs, 2mM de MgCl₂, 10x tampão de reacção de PCR [160mM (NH₄)₂SO₄, 670mM Tris-HCl (pH 8,8 a 25°C), 0,1% Tween-20], 1U de Biotaq DNA polimerase (Bioline) e aproximadamente 100ng de DNA genómico. Para o exão 10 foram utilizadas as seguintes condições: uma primeira desnaturação durante 5' a 95°C; seguida de 37 ciclos de 30" a 94°C, 30" a 58°C e 1'20" a 72°C; e uma extensão final de 7' a 72°C. Para o exão 11 as condições foram as seguintes: uma primeira desnaturação durante 5' a 95°C; seguida de 37 ciclos de 30" a 94°C, 30" a 59°C e 3' a 72°C; e uma extensão final de 10' a 72°C.

Os produtos de PCR foram purificados, utilizando o *Jetquick PCR Purification Spin Kit* (Genomed), de acordo com as instruções especificadas pelo fabricante.

3.2.2. Sequenciação

Os produtos de PCR anteriormente obtidos foram sequenciados segundo método de Sanger, utilizando o *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems), de acordo com as instruções do fabricante. As amostras foram sequenciadas, em ambos os sentidos ("forward" e "reverse"), utilizando os "primers" descritos na Tabela 1, cobrindo-se, com este conjunto de sequências, uma extensão total de ~1100pb correspondentes ao exão 10 e de ~2000pb correspondentes ao exão 11. Os produtos das 10 reacções de

sequenciação efectuadas, para cada amostra, foram posteriormente purificados com EDTA/Etanol, de acordo com o seguinte procedimento: adicionou-se 5 μ l de EDTA (125mM) ao produto de sequenciação, de seguida adicionou-se 60 μ l de Etanol a 100%, agitou-se bem no "vortex", deixou-se incubar à temperatura ambiente e ao abrigo de luz, durante 15'; seguidamente centrifugou-se 20' a 13000rpm, desprezou-se o sobrenadante e, após secagem, adicionou-se 60 μ l de Etanol a 70%, centrifugou-se novamente 20' a 13000 rpm, retirou-se o sobrenadante e secou-se o "pelet". As amostras foram ressuspendidas em 20 μ l de formamida e as leituras foram efectuadas num sequenciador ABI PRISM® 310 (Applied Biosystems).

Tabela 1. Sequências dos "primers" utilizados nas reacções de sequenciação.

Primers	Sequências
MJD 10aF	5'-GACCTATCAGGACAGAG1TCAC-3'
MJD 10bF	5'-TCCTGGGTTTCATGGCATTCTCC-3'
MJD 10R	5'-CTTCATTAAGCCATACCTACAGG-3'
MJD 10bR	5'-GTAAGTCTCCTTAATCCAGGG-3'
MJD 11F	5'-AGGAAATGGGGATCGACCACAAAG-3'
MJD 11aF	5'-GGATCTTTTGCAGACTAGC-3'
MJD 11bF	5'-CTAGGAGAAGCATAGTATGCAGG-3'
MJD 11aR	5'-CC1T1TGTGTAAGGGAACTTCAG-3'
MJD 11bR	5'-CACCTACATTCCATGACTCAACTG-3'
MJD 11cR	5'-CATGATGTGAGCCAACTTACC-3'

3.2.3. Análise bioinformática

As sequências obtidas foram visualizadas e alinhadas com uma sequência de referência (GenBank código de acesso AB038653.1), utilizando o software BioEdit v 7.0.5.3. (Hall,1999). Para a confirmação de que as regiões analisadas correspondiam à porção do DNA genómico que codifica a região 3'UTR do gene *ATXN3*, foram utilizadas três sequências de cDNA, disponíveis na base de dados do “National Center for Biotechnology Information (NCBI)” (www.ncbi.nlm.nih.gov/), com os seguintes códigos de acesso: NM 004993.4, S75313.1, U64821.1.

3.3. Análise estatística

As frequências genóticas e alélicas foram determinadas para os 10 “single nucleotide polymorphisms” (SNPs) observados. A conformidade com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (HW), nos grupos de casos e de controlos, foi avaliada com um teste exacto, de acordo com Guo e Thompson (1992). O valor da diversidade genética, tal como descrita por Nei (1987), foi calculado para os mesmos SNPs.

Foram efectuados testes exactos de diferenciação, usando as frequências genóticas, para comparar o grupo de casos e o de controlos, considerando cada SNP separadamente.

A independência alélica entre SNPs foi testada através de comparações entre pares de SNPs, em casos e controlos, considerando apenas as amostras genotipadas para todos os SNPs (n=16 para o grupo dos casos e n=10 para o

grupo dos controlos). O teste efectuado (“Likelihood ratio test of linkage disequilibrium” - LD) está adaptado a dados genotípicos, nos quais a fase gamética é desconhecida. Aos valores de p obtidos, para os pares de SNPs, foi aplicada a correcção de Bonferroni para testes múltiplos.

Todos os testes acima referidos foram efectuados recorrendo ao programa Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, 1998-2010) e foi considerado um nível de significância de 0,05.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A sequenciação de uma região de cerca 1100pb do exão 10 e de uma região de cerca 2000pb do exão 11 do gene *ATXN3* permitiu obter um total de 360 sequências, passíveis de serem analisadas. A porção estudada destes dois exões abrange um total de quatro sequências consenso para sinais de poliadenilação, cobrindo os sinais de poliadenilação A1, A2 e A3, descritos por Ichikawa e colaboradores (2001). Para além desses três, abrange ainda um outro possível sinal de poliadenilação (uma vez que está presente o hexanucleótido AATAAA), existente no final do exão 10 (representado como B1 na Figura 1). Para toda a região sequenciada foi possível analisar a presença de polimorfismos, com excepção de uma região do exão 10 de cerca de 300pb para a qual, por motivos de ordem técnica (existência de motivos repetitivos nessa zona), não se obtiveram sequências de boa qualidade.

As sequências obtidas foram comparadas com três sequências de cDNA, correspondendo a transcritos distintos, para confirmar que as regiões analisadas correspondiam realmente à porção do DNA genómico que codifica para a região 3'UTR deste gene. Num dos transcritos utilizados para comparação (sequência com o código de acesso NM_004993.4), devido à ocorrência de "splicing" alternativo é excluída a parte do exão 10 que está *downstream* ao tracto CAG e é utilizado um codão "stop" no início do exão 11, pelo que a região 3'UTR corresponderia aos aproximadamente 1500pb do exão 11 que se seguem, terminando cerca de 800pb após a sequência consenso para o segundo sinal de poliadenilação deste exão (A3, segundo Ichikawa *et al*, 2001). Nos outros dois transcritos (sequências com os códigos de acesso

S75313.1 e U64821.1), é utilizado um codão "stop" que está imediatamente a 3' do tracto repetitivo CAG no exão 10, pelo que as suas regiões 3'UTR corresponderiam aos aproximadamente 400pb ou 200pb, respectivamente, que se seguem e que pertenciam ao exão 10. As sequências obtidas no presente trabalho englobam uma região mais vasta e abrangem as regiões 3'UTR dos transcritos anteriormente referidos na sua totalidade. Após esta comparação foi então possível confirmar que as regiões estudadas correspondem a porções do DNA genómico que codificam a região 3'UTR do gene *ATXN3*.

A análise detalhada das 360 sequências obtidas permitiu identificar, nas regiões estudadas, 10 posições polimórficas correspondentes a 10 SNPs (ver Figura 1A constante nos anexos), que já tinham sido previamente descritos e que se encontram depositados na base de dados de SNPs do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). A localização relativa dos SNPs encontrados, identificados pelos respectivos rs, está evidenciada na Figura 5. Dos 6 SNPs identificados no exão 10, 3 correspondem a transições (rs7158238, rs7153696 e rs7153374) e 3 a transversões (rs7158733, rs3092822 e rs7153193). Dos 4 SNPs no exão 11, 2 correspondem a transições (rs709930 e rs55966267) e 2 a transversões (rs10151135 e rs910369).

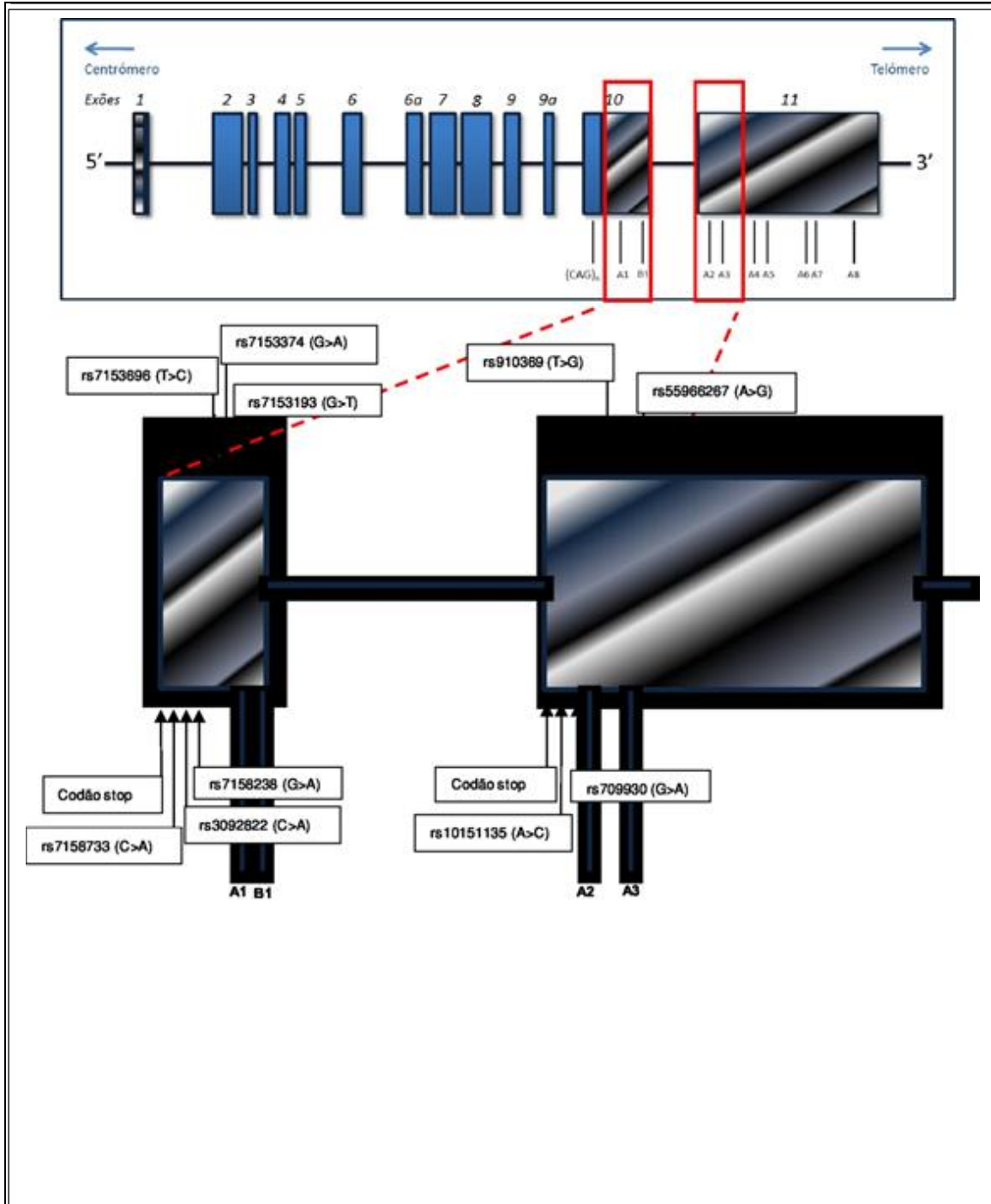


Figura 5. Representação esquemática do gene *ATXN3*, com destaque para as regiões analisadas no presente trabalho dos exões 10 e 11. A localização relativa dos SNPs encontrados em ambos os exões, identificados pelos respectivos rs, bem como a indicação dos respectivos alelos (ancestral e derivado) também está em evidência na figura. Os possíveis codões stop, em ambos os exões, estão indicados. Três dos sinais de poliadenilação identificados por Ichikawa *et al* (2001) estão representados com a numeração de A1 a A3. Com a designação de B1 está um possível sinal de poliadenilação adicional, localizado no final do exão 10 (adaptado de Bettencourt, 2009).

Os valores das frequências alélicas e genóticas para os 10 SNPs observados, para ambos os grupos de indivíduos estudados (casos e controlos), encontram-se descritos na Tabela 2. Na Tabela 1A constante dos anexos, encontram-se os genótipos de cada SNP para todas as amostras.

Tabela 2. Frequências genóticas e alélicas para os 10 SNPs encontrados nas regiões estudadas do gene *ATXN3*, nos grupos de casos e de controlos.

SNPs	Frequências	Casos (n)	Controlos (n)	SNPs	Frequências	Casos (n)	Controlos (n)
rs7158733	Genóticas			rs7153193	Genóticas		
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		GG	0,37 (9)	0,60 (6)
	CA	0,41 (9)	0,20 (2)		GT	0,46 (11)	0,20 (2)
	CC	0,41 (9)	0,50 (6)		TT	0,17 (4)	0,20 (2)
	Alélicas				Alélicas		
A	0,39	0,30	G	0,6	0,70		
C	0,61	0,70	T	0,4	0,30		
rs3092822	Genóticas			rs10151135	Genóticas		
	AA	0,35 (8)	0,60 (6)		CC	0,50 (15)	0,90 (9)
	AC	0,43 (10)	0,20 (2)		CA	0,43 (13)	0,10 (1)
	CC	0,22 (5)	0,20 (2)		AA	0,07 (2)	0,00
	Alélicas				Alélicas		
A	0,56	0,70	C	0,72	0,95		
C	0,44	0,30	A	0,28	0,05		
rs7158238	Genóticas			rs709930	Genóticas		
	GG	0,37 (8)	0,60 (6)		GG	0,34 (10)	0,60 (6)
	GA	0,45 (10)	0,20 (2)		GA	0,53 (16)	0,20 (2)
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		AA	0,13 (4)	0,20 (2)
	Alélicas				Alélicas		
A	0,41	0,30	G	0,77	0,70		
G	0,59	0,70	A	0,33	0,30		
rs7153696	Genóticas			rs910369	Genóticas		
	CC	0,41 (7)	0,60 (6)		GG	0,35 (10)	0,60 (6)
	CT	0,35 (6)	0,20 (2)		GT	0,55 (16)	0,20 (2)
	TT	0,24 (4)	0,20 (2)		TT	0,10 (3)	0,20 (2)
	Alélicas				Alélicas		
C	0,59	0,70	G	0,62	0,70		
T	0,41	0,30	T	0,38	0,30		
rs7153374	Genóticas			rs55966267	Genóticas		
	GG	0,41 (9)	0,60 (6)		AA	0,93 (28)	1,00 (10)
	GA	0,41 (9)	0,20 (2)		AG	0,07 (2)	0,00
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		Alélicas		
	Alélicas				A	0,96	1,00
A	0,61	0,70	G	0,04	0,00		
G	0,39	0,30					

Em ambos os grupos estudados, foram observados os 3 genótipos possíveis para cada SNP, à excepção do rs55966267, cujo alelo A está fixado, nos controlos, observando-se, para este grupo apenas um genótipo (AA). Nos doentes, apenas foi possível encontrar 2 genótipos para o referido SNP, não tendo sido observado o genótipo GG.

Após a análise da tabela acima mencionada, constata-se que o alelo mais frequente em cada SNP, para o grupo dos casos, é também o mais frequente para o grupo dos controlos. No que diz respeito aos genótipos, verifica-se que os indivíduos do grupo dos casos tendem a ser, na sua maioria, heterozigóticos, para pelo menos 5 dos SNPs, enquanto os indivíduos do grupo dos controlos são, maioritariamente, homozigóticos para todos os SNPs identificados. Tendo em conta os alelos ancestrais descritos na base de dados do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), para cada SNP, a maioria dos indivíduos deste último grupo estaria em homozigotia para o alelo ancestral em 6 dos SNPs (rs7158733, rs7158238, rs7153374, rs7153193, rs709930 e rs55966267) e para o alelo derivado nos restantes 4 SNPs (rs3092822, rs7153696, rs10151135 e rs910369).

Os testes efectuados para verificar a conformidade com o equilíbrio de HW no grupo dos casos, bem como no grupo dos controlos, produziram valores de p não significativos, constatando-se, desta forma, que as frequências genótípicas para todos os SNPs estão de acordo com a situação de equilíbrio.

Os valores de diversidade genética obtidos para os 10 SNPs estão descritos na Tabela 3. Estes valores variaram entre zero e 0,50242, correspondendo o valor zero ao rs55966267, no grupo dos controlos, que, tal como previamente referido, apenas apresenta o alelo ancestral, neste mesmo grupo de indivíduos. O valor mais elevado de diversidade foi encontrado para o SNP rs3092822 que, no grupo de doentes, produziu valores de heterozigotia da ordem dos 50,24%. Após a comparação de ambos os grupos, para cada SNP, constatou-se que a diversidade genética é, em geral, ligeiramente mais elevada para o grupo de casos, o que está de acordo com o que se constatou

anteriormente, ao verificar-se que os indivíduos deste grupo eram mais frequentemente heterozigóticos. Por outro lado, o facto de o grupo dos controlos apresentar valores de diversidade mais baixos poderá estar relacionado com o reduzido número de indivíduos incluídos neste grupo.

Tabela 3. Valores de diversidade genética (DG) para os grupos de casos e de controlos. O número de indivíduos utilizado para o cálculo da DG, para cada um dos 10 SNPs, é idêntico ao apresentado na Tabela 2.

SNPs	DG	
	Casos	Controlos
rs7158733	0,48520	0,44211
rs3092822	0,50242	0,44211
rs7158238	0,49471	0,44211
rs7153696	0,49911	0,44211
rs7153374	0,48520	0,44211
rs7153193	0,48848	0,44211
rs10151135	0,41299	0,10000
rs709930	0,48814	0,44211
rs910369	0,47913	0,44211
rs55966267	0,06554	0,00000

Entre o grupo de casos e o grupo dos controlos, os resultados dos testes exactos de diferenciação, com base nas frequências genóticas de cada um dos SNPs, separadamente, permitiram confirmar a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre estes dois grupos.

A análise à independência alélica entre SNPs foi empreendida, separadamente, para casos e controlos. Os resultados, em termos de

significância estatística e após correcção de Bonferroni, estão evidenciados nas tabelas 4 (casos) e 5 (controlos).

Tabela 4. Significância dos resultados do teste de LD para todos os pares de SNPs, no grupo de casos (n =16).

SNPs	Exão 10						Exão 11			
	rs7158733	rs3092822	rs7158238	rs7153696	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55966267
rs7158733		+	+	+	+	+	+	+	+	-
rs3092822	+		+	+	+	+	-	+	+	-
rs7158238	+	+		+	+	+	+	+	+	-
rs7153696	+	+	+		+	+	+	+	+	-
rs7153374	+	+	+	+		+	+	+	+	-
rs7153193	+	+	+	+	+		+	+	+	-
rs10151135	+	-	+	+	+	+		-	+	-
rs709930	+	+	+	+	+	+	-		+	-
rs910369	+	+	+	+	+	+	+	+		-
rs55966267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(+ significativo, após Bonferroni)

Tabela 5. Significância dos resultados do teste ao LD para todos os pares de SNPs, no grupo de controlos (n=10).

SNPs	Exão 10						Exão 11			
	rs7158733	rs3092822	rs7158238	rs7153696	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55966267
rs7158733		+	+	+	+	+	-	+	+	-
rs3092822	+		+	+	+	+	-	+	+	-
rs7158238	+	+		+	+	+	-	+	+	-
rs7153696	+	+	+		+	+	-	+	+	-
rs7153374	+	+	+	+		+	-	+	+	-
rs7153193	+	+	+	+	+		-	+	+	-
rs10151135	-	-	-	-	-	-		-	-	-
rs709930	+	+	+	+	+	+	-		+	-
rs910369	+	+	+	+	+	+	-	+		-
rs55966267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(+ significativo, após Bonferroni)

Todos os SNPs localizados no exão 10, quer no grupo de casos, quer no grupo dos controlos, estão em LD, o que seria previsível considerando que estes SNPs têm uma grande proximidade física no gene *ATXN3*. Relativamente aos SNPs localizados no exão 11, verifica-se que em ambos os grupos o rs55966267 não se encontra em LD, o que poderá estar associado ao facto de, no grupo de casos, o alelo A apresentar uma frequência de 96%, sendo que nos controlos esta frequência é de 100%. Este SNP apresenta uma particularidade relativamente aos restantes encontrados, pois está fisicamente mais afastado dos restantes SNPs no exão 11; para além disso, localiza-se após a segunda sequência consenso para o sinal de poliadenilação no referido exão. No grupo dos controlos, para além do SNP anteriormente referido, o rs10151135 também não se encontra em LD; a frequência para o alelo C deste SNP é de 95%, o que estará associado ao resultado obtido para o LD neste grupo. No grupo dos casos o rs10151135 produziu valores de p consistentes com LD, na maior parte das comparações entre pares de SNPs.

Como referido no início desta secção, as regiões estudadas neste trabalho abrangem quatro sequências consenso para sinais de poliadenilação. A comparação das sequências obtidas com a sequência de referência permitiu constatar que os polimorfismos observados, não implicam a eliminação nem dos sinais de poliadenilação A1, A2 e A3, descritos anteriormente por Ichikawa *et al.* (2001), nem do B1. No entanto, também não originam sequências consenso para novos sinais de poliadenilação. Com base nos resultados obtidos, não será expectável que ocorram alterações a nível da poliadenilação devido aos SNPs presentes na porção 3'UTR do gene *ATXN3* que foi

analisada, não se prevendo portanto que, a este nível, exista uma influência na regulação da expressão deste gene.

5. CONCLUSÕES GERAIS

A importância da região 3'UTR é essencialmente atribuída ao papel que a mesma desempenha na regulação da expressão génica. Alterações na sequência destas regiões, tal como referido anteriormente neste trabalho, poderão ter consequências drásticas, nomeadamente no que se refere à ocorrência de doenças genéticas. No caso de muitos genes, como é o caso do gene *ATXN3*, que corresponde ao gene causal da DMJ, a informação existente sobre a variabilidade genética na região 3'UTR, especialmente em doentes, é muito reduzida ou inexistente. Apesar de, na DMJ, a mutação causal estar bem estabelecida, alterações nestas regiões reguladoras poderão, em última instância, contribuir para a heterogeneidade clínica observada nesta doença. Este trabalho pretendeu analisar e descrever pela primeira vez, a variação genética na região 3'UTR do gene *ATXN3*, usando amostras de doentes DMJ. Foi detectado um total de 10 SNPs que já tinham sido previamente descritos. Todos os SNPs anteriormente referidos foram identificados quer no grupo dos casos quer no grupo de controlos, não se tendo identificado variantes exclusivas dos doentes.

Pretendeu-se, também, efectuar comparações entre o grupo de doentes DMJ e o grupo de indivíduos controlo. Após a análise dos resultados obtidos, constatou-se que os alelos mais frequentes, para cada um dos 10 SNPs detectados, eram coincidentes entre os dois grupos estudados. Para além disso, verificou-se que não existiam diferenças significativas relativamente às frequências genotípicas entre estes dois grupos. Os dados obtidos no presente

trabalho apontam no sentido de que a região analisada do gene *ATXN3* não apresenta variação exclusiva nos doentes.

Outro dos objectivos deste trabalho era verificar se a existência de polimorfismos podia interferir com os sinais de poliadenilação. A análise da porção 3'UTR do gene *ATXN3*, estudada neste trabalho, demonstrou que os polimorfismos encontrados não implicam a eliminação dos sinais de poliadenilação anteriormente descritos (A1, B1, A2 e A3) nem a criação de sequências consenso para novos sinais de poliadenilação. Assim, poder-se-á concluir que não deverão existir alterações, causada pelos SNPs encontrados, no que respeita à poliadenilação desta porção da região 3'UTR, pelo que não se prevêem alterações nos níveis de expressão deste gene, que sejam mediadas por esse tipo de regulação. Contudo, é de salientar o facto de a região 3'UTR do gene *ATXN3*, não ter sido estudada na sua totalidade, uma vez que a restante porção do exão 11 que abrange as cinco últimas sequências consenso para sinais de poliadenilação (A4-A8), descritos por Ichikawa *et al.* (2001), não foi analisada, não permitindo desta forma extrapolar a mesma conclusão relativamente à influência dos sinais de poliadenilação para toda a região 3'UTR do gene em causa.

Esta e outras limitações do estudo conduzem a que haja uma série de perspectivas futuras interessantes que, se colocadas em execução, poderiam dar continuidade a este trabalho.

Em termos de perspectivas futuras, poder-se-ia aumentar o número de indivíduos estudados, quer no grupo dos controlos para poder ter uma maior percepção da variação normal, quer no grupo dos doentes, dividindo-os de

acordo com características fenotípicas, por exemplo pela idade de início da doença. No que se refere à região analisada, seria interessante estender a análise à restante região do exão 11 cobrindo toda a extensão do gene *ATXN3* capaz de formar a região 3'UTR. Poder-se-iam também fazer análises *in silico* dos factores que actuam em *trans*, de modo a tentar perceber efeitos adicionais de toda a variação encontrada.

Este trabalho, visando contribuir para uma melhor compreensão das bases moleculares da DMJ, permitiu obter informação sobre a variação existente na região 3'UTR do gene *ATXN3* em amostras de doentes DMJ, sobre a qual, até à data, o conhecimento era praticamente inexistente. Para além disso, os dados aqui gerados, poderão servir de base para trabalhos futuros, nomeadamente sobre variação genética em regiões reguladoras do gene *ATXN3* e a sua relação com a variabilidade fenotípica da DMJ.

6. BIBLIOGRAFIA

- BETTENCOURT C, SILVA-FERNANDES A, MONTIEL R, *ET AL.* (2007): Triplet repeats: Features, dynamics and evolutionary mechanisms. *In: Santos C, Lima M (Eds) Recent advances in molecular biology and evolution: applications to biological anthropology.* Research Signpost, Kerala; pp 83-114.
- BETTENCOURT C, SANTOS C, KAY T, VASCONCELOS J, LIMA M (2008a): Analysis of segregation patterns in Machado-Joseph disease pedigrees. *Journal of Human Genetics*; 53: 920-923.
- BETTENCOURT C, FIALHO R, SANTOS C *ET AL.* (2008b): Segregation distortion of wild-type alleles at the Machado-Joseph disease locus: a study in normal families from Azores islands (Portugal). *Journal of Human Genetics*; 53: 333-339.
- BETTENCOURT C (2009): *Machado-Joseph disease: From genetic variability to clinical heterogeneity*, 204 pp. Dissertação de Doutoramento, Universidade dos Açores.
- BETTENCOURT C, SANTOS C, MONTIEL R *ET AL.* (2010a): Increased transcript diversity: novel splicing variants of Machado-Joseph Disease gene (*ATXN3*). *Neurogenetics*; 11: 193-202.
- BETTENCOURT C, SANTOS C, MONTIEL R *ET AL.* (2010b): The (CAG)_n tract of Machado-Joseph disease gene (*ATXN3*): a comparison between DNA and mRNA in patients and controls. *European Journal of Human Genetics*; 18: 621-623.

- BOLOGNAMI F, PERRONE-BIZZOZERO N (2008): RNA-protein interactions and control of mRNA stability in neurons. *Journal of Neuroscience Research*; 86: 481-489.
- CARVALHO D R, LA ROCQUE-FERREIRA A, RIZZO I M ET AL. (2008): Homozygosity Enhances Severity in Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Pediatric Neurology*; 38: 296-299.
- CHATTERJEE S, PAL J K (2009): Role of 5'- and 3'- untranslated regions of mRNAs in human diseases. *Biology of the Cell*; 101: 251-262.
- CHEN J M, FÉREC C, COOPER D (2006a): A systematic analysis of disease-associated variants in the 3' regulatory regions of human protein-coding genes I: general principles and overview. *Human Genetics*; 120: 1-21.
- CHEN J M, FÉREC C, COOPER D (2006b): A systematic analysis of disease-associated variants in the 3' regulatory regions of human protein-coding functionality of 3'UTR variants. *Human Genetics*; 120: 301-333.
- COOPER D N e KRAWCZAK M (1993): *Human Gene Mutation*, 402 pp. Bios Scientific Publishers Limited Oxford U.K.
- COUTINHO P (1992): *Doença de Machado-Joseph: Tentativa de definição*, 254 pp. Dissertação de Doutoramento, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Porto.
- COUTINHO P, ANDRADE C (1978): 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. (não consultado)

- COUTINHO P, SEQUEIROS J (1980): Aspects cliniques, génétiques et pathologiques de la maladie de Machado-Joseph. *Journal de Génétique Humaine*; 29(3): 203-209.
(não consultado)
- DAY D, TUIE M (1998): Post-transcriptional gene regulatory mechanisms in eukaryotes: an overview. *Journal of Endocrinology*; 157: 361-371.
- EDWALDS-GILBERT G, VERALDI K, MILCAREK C (1997): Alternative poly (A) site selection in complex transcription units: means to an end? *Nucleic Acids Research*; 25: 2547-2561.
- EXCOFFIER L G, LAVAL SCHNEIDER S, ARLEQUIN (1998-2010): An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, versão 3 5.5 1: 47-50.
- GONZALEZ C, LIMA M, KAY T, ET AL. (2004): Short-Term impact of predictive testing for the Machado-Joseph disease: Depression and Anxiety levels in individuals at risk from the Azores (Portugal). *Community Genetics*; 7(4): 196-201.
- GRZYBOWSKA E, WILCZYNSKA A, SIEDLECKI J A (2001): Breakthroughs and views Regulatory Functions of 3'UTRs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 288: 291-295.
- Guo S e Thompson E (1992): Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*; 48: 361-372.
- HALL TA (1999): BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98NT. *Nucleic Acids Symposium Series*: 41:95-98.
- HUGHES T (2006): Regulation of gene expression by alternative untranslated regions. *Trends in Genetics*; 22: 119-122.

- ICHIKAWA Y, GOTO J, HATTORI M *ET AL.* (2001): The genomic structure and expression of MJD, the Machado- disease gene. *Journal of Human Genetics*; 46: 413-422.
- KAWAGUCHI Y, OKAMOTO T, TAN IWAKI M *ET AL.* (1994): CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nature Genetics*; 8: 221-228.
- LIMA M (1996): *Doença de Machado-Joseph nos Açores: Estudo epidemiológico, biodemográfico e genético*, 299pp. Dissertação de Doutoramento Universidade dos Açores.
- LIMA M, MAYER M, COUTINHO P *ET AL.* (1997): Prevalence, geographical distribution and genealogical investigation of Machado-Joseph disease in the islands of Azores (Portugal). *Human Biology*; 69(3): 383-391.
- LIMA M, KAY T, VASCONCELOS J *ET AL.* (2001): Disease Knowledge and attitudes toward Predictive Testing and Prenatal Diagnosis in families with Machado-Joseph disease from the Azores islands (Portugal). *Community Genetics*; 4(1):36-42.
- LIMA M, COSTA M C, MONTIEL R *ET AL.* (2005): Population genetics of wild-type CAG repeats in the Machado-Joseph disease gene in Portugal. *Human Heredity*; 60: 156-163.
- LIMA M (2010): *Exceções ao Paradigma Mendeliano: A doença de Machado-Joseph como caso de estudo*, 39 pp. Provas de Agregação, Plano de Lição. Universidade dos Açores.
- LUTZ C (2008): Alternative polyadenylation: A twist on mRNA 3' end formation. *Acs Chemical Biology*; 3: 609-617.

- MACIEL P, COSTA M C, FERRO A *ET AL.* (2001): Improvement in the molecular diagnosis of Machado-Joseph disease. *Archives of Neurology*; 58: 1821-7.
- MANDEL C R, BAI Y, TONG L (2008): Protein factors in pre-mRNA 3'-end processing. *Cellular and Molecular Life Sciences*; 65: 1099-1122.
- NAKANO K, DAWSON D M, SPENCE A (1972): Machado disease-A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. *Neurology*; 22: 49-55. (não consultado)
- NEI M (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA.
- PAULSON H L, DAS S S, CRINO P B *ET AL.* (1997): Machado-Joseph disease gene product is a cytoplasmatic protein widely expressed in brain. *Annals of Neurology*; 41(4): 453-62.
- PAULSON H L (2007): Dominantly inherited ataxias: lessons learned from Machado-Joseph disease/ spinocerebellar ataxia type 3. *Seminars in Neurology*, 27: 133-142.
- REGATEIRO F (2003): *Genética Médica*, 496 pp. Imprensa da Universidade de Coimbra. Coimbra.
- ROSENBERG R, NYHAN W L, BAY C, SHORE P (1976): Autosomal dominant striatonigral degeneration. A clinical, pathologic and biochemical study of a new genetic disorder. *Neurology*; 26: 703-714. (não consultado)
- SUITE ND, SEQUEIROS J, MCKHANN GM (1986): Machado-Joseph disease in a Sicilian-American family. *J Neurogenet*; 3: 177-182. (não consultado)
- STRACHAN T e READ A P (2004): *Human Molecular Genetics* 3a Ed., 674 pp. Garland Publishing New York, USA.

TAKIYAMA Y, NISHIZAWA M, TANAKA H *ET AL.* (1993): The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nature Genetics*; 4: 300-304.

TAKIYAMA Y, Igarashi S, Rogaeva E A *ET AL.* (1995): Evidence for inter-generational instability in the CAG repeat in the MJD1 gene and for conserved haplotypes of flanking markers amongst Japanese and Caucasian subjects with Machado-Joseph disease. *Human Molecular Genetics*; 4 (7): 1137-46.

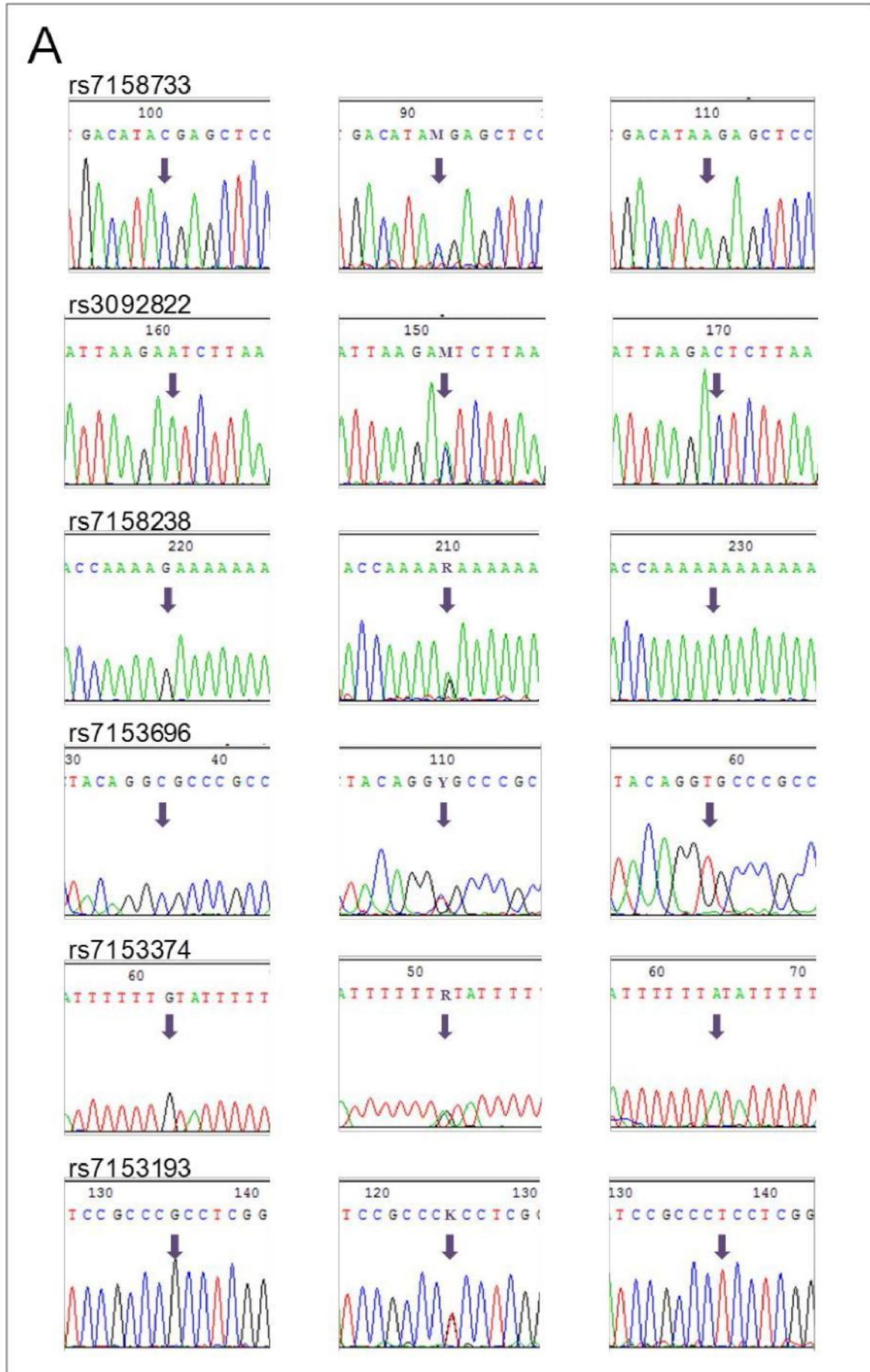
WOODS B T, SCHAUMBURG H H (1972): Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia: A unique and partially treatable clinico-pathological entity. *Journal of the Neurological Sciences*; 17: 149-166. (não consultado)

ZLOTOGORA J 2006: Genetic diseases: Prevalence. *Encyclopedia of Life Sciences*. (D01:101038/npg/els.0006004).

7. Anexos

Tabela 1A. Representação dos genótipos para cada um dos SNP por indivíduo, para o grupo dos casos e dos controlos.

Código Amostra	Exão 10						Exão 11			
	rs7158733	rs3092822	rs7158258	rs7153606	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55066267
DMJ 1	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA
DMJ 2	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 8	CC	AA	GG	CC	GG	GG	AA	GG	GG	AA
DMJ 10	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 14	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA
DMJ 17	CA	-	-	-	GA	GT	CA	GA	GT	AA
DMJ 18	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA
DMJ 19	CA	AC	GA	-	GA	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 20	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA
DMJ 21	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA
DMJ 22	CA	AC	GA	-	-	GT	CC	GA	GT	AG
DMJ 30	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 32	CC	AA	GG	-	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 33	CC	AA	-	-	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 35	CC	AA	GG	CC	GG	GG	AA	GG	GG	AA
DMJ 38	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 39	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 40	CC	CC	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA
DMJ 41	-	AC	GA	-	-	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 42	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA
DMJ 43	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AG
DMJ 45	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA
DMJ 46	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	-	AA
DMJ 47	-	AC	GA	-	GA	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 48	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 49	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA
DMJ 50	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA
DMJ 51	-	-	-	-	-	-	CA	GA	GT	AA
DMJ 57	-	-	-	-	-	-	CA	GA	GT	AA
DMJ 59	-	-	-	-	-	-	CA	GG	GG	AA
ContDMJ 9	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 10	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 20	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 21	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA
ContDMJ 22	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 23	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA
ContDMJ 30	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 31	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA
ContDMJ 32	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA
FL012	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA



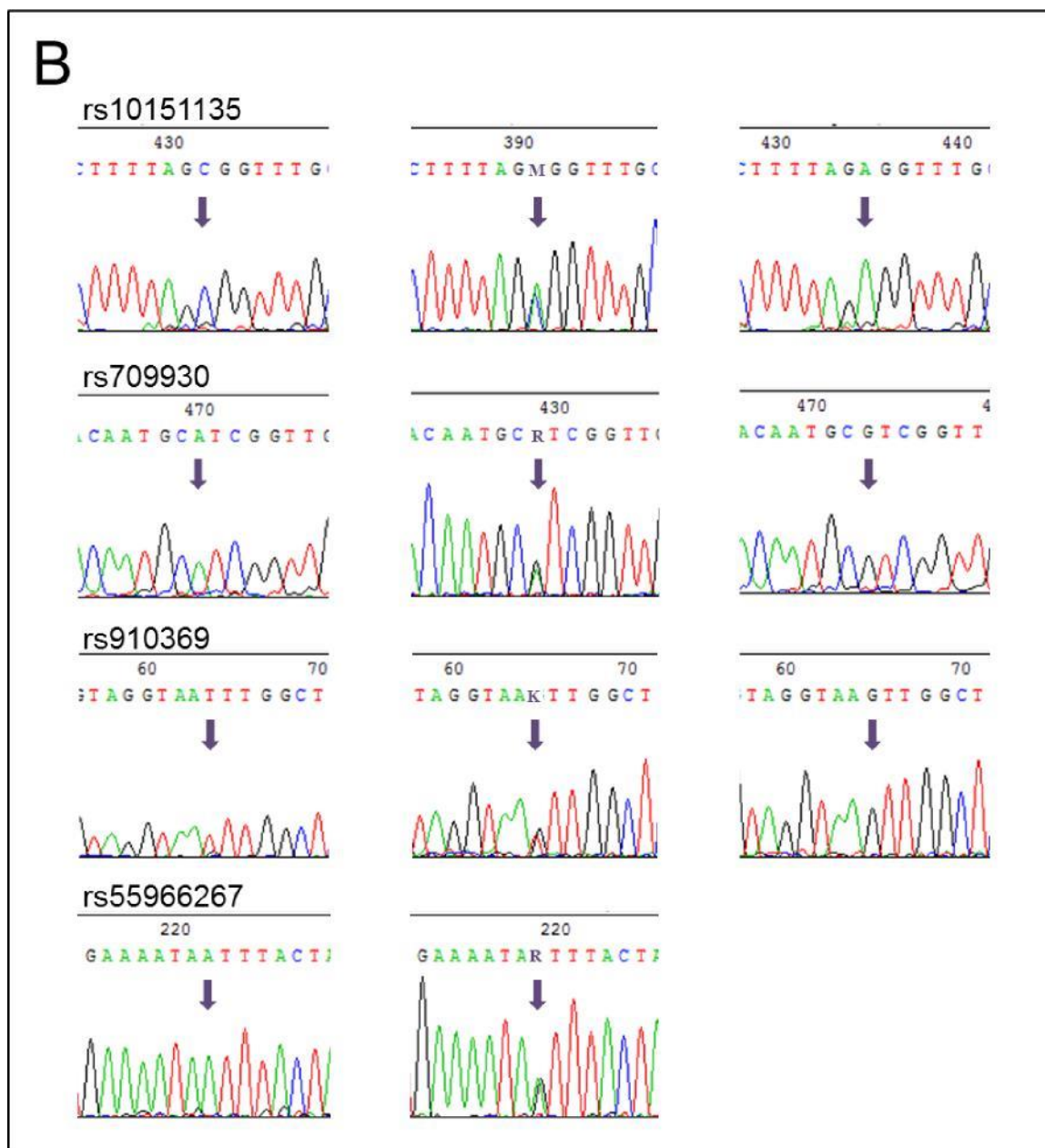


Figura 1A. Electroferogramas exemplificativos de cada um dos genótipos observados, para cada um dos 10 SNPs identificados nos exões 10 e 11 do gene *ATXN3*. A) SNPs encontrados no exão 10 (rs7158733, rs3092822, rs7158238, rs7153696, rs7153374, rs7153193); B) SNPs encontrados no exão 11 (rs10151135, rs709930, rs910369, rs55966267). A localização de cada SNP está destacada com uma seta. Nos electroferogramas correspondentes à situação de heterozigotia, o nucleótido correspondente ao SNP foi representado pelo código para bases degeneradas, assim: K=G/T, M=C/A, R=G/A, Y=C/T.

CAPÍTULO VIII

CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A elaboração deste trabalho permitiu-me reflectir sobre diversos problemas ligados à DMJ, clarificando vários dos conceitos apriorísticos que sobre ela tinha e criando bases para algumas especulações. Algumas afirmações foram sendo feitas ao longo dos diferentes capítulos, mas vou agora discuti-las, procurando fazer, para cada questão, a síntese do que actualmente penso e do que este estudo permitiu estabelecer.

QUADRO CLÍNICO

Definição do padrão clínico

A DMJ é definida clinicamente pela associação de *ataxia cerebelosa* e *oftalmoparésia externa progressiva*, comuns a todos os doentes. Estes dois síndromes básicos têm uma evolução progressiva em todos os casos.

Por ordem de frequência, segue-se o *síndrome piramidal*, cujo comportamento é muito irregular. De aparecimento precoce (alguns sinais piramidais são observados em indivíduos em risco mesmo antes das primeiras manifestações subjectivas da doença), atinge uma grande intensidade em doentes jovens. Pelo contrário, está ausente ou vai-se atenuando nos casos de início mais tardio, certamente encoberto pelo quadro periférico.

O *quadro periférico* tem um comportamento inverso: surge tardiamente, entre os 5 e os 10 anos de evolução, atinge sobretudo doentes de idade mais avançada e vai-se acentuando progressivamente. O mesmo perfil se encontra

nos sinais de lesão dos nervos cranianos motores, com a diferença de que estes não são dependentes da idade de início da doença, isto é, exprimem-se em todos os grupos etários. A sua manifestação mais frequente são as *fasciculações de contração da face*.

Mais raros são os *sinais extrapiramidais*, também marcadamente dependentes do factor idade. Nos casos de início mais precoce surge distonia, presente em repouso mas agravada pelos movimentos, envolvendo os membros e, por vezes, a face e a musculatura axial. Um quadro parkinsoniano acinético-rígido importante é raro na nossa série, surgindo num reduzido grupo de adultos de idade superior aos que manifestam a distonia.

Cerca de um terço dos doentes têm *retração palpebral* associada a olhar fixo, manifestação esta característica (mas não exclusiva) da DMJ. Tende também a ser mais marcada nos casos de início precoce.

Manifestações clínicas pouco conhecidas

Esta revisão permitiu pôr em evidência dois aspectos clínicos da DMJ ainda não descritos: 1. as *alterações do sono*, com agitação nocturna e acordar frequente, correspondendo nos registos poligráficos de sono à rarefacção ou desaparecimento das fases REM; 2. o *emagrecimento*, independente da disfagia e das amiotrofias. Ambos são mais comuns e precoces nos doentes jovens e evoluem de modo paralelo. Podem estar relacionados com a alteração de sistemas monaminérgicos centrais, nomeadamente do locus ceruleus.

Formas clínicas especiais

Conhecem-se 3 casos que devem corresponder ao estado de *homozigotia* para a DMJ, caracterizando-se por: 1. início na infância; 2. associação de ataxia cerebelosa, síndrome piramidal e distonia importantes; 3. evolução rápida com incapacidade precoce; 4. sobrevida curta; 5. evidência, pela história familiar, de ambos os pais poderem ser portadores do gene mutante (quer sejam já doentes ou ainda assintomáticos).

Problemas de diagnóstico

Diagnóstico clínico

Penso que é possível fazer-se o diagnóstico da DMJ, mesmo sem confirmação patológica, segundo os seguintes critérios clínicos e *em determinadas circunstâncias*:

1. Transmissão autossómica dominante
2. Início habitual na idade adulta (média: 40,2 anos). Os casos infantis e juvenis deverão ser considerados num contexto de diagnóstico familiar certo, e os primeiros em circunstâncias de possível homozigotia.
3. Presença, em *todos* os doentes com mais de cinco anos de evolução, de ataxia e oftalmoparésia supranuclear.
4. Associação frequente, mas não obrigatória, de sinais piramidais, extrapiramidais e/ou periféricos, em regra condicionados pela idade (os dois primeiros em formas mais precoces, o último em formas mais tardias).
5. Presença de sinais menores, mas muito sugestivos, como as fasciculações de contração da face e a retração palpebral.
6. Integridade das funções superiores.
7. Sobrevida média de 21,4 anos.

Para este diagnóstico é indispensável ter em conta a *cronologia habitual* de aparecimento dos diferentes síndromes: embora a distonia seja o sinal extrapiramidal mais característico, a sua presença é rara antes de quatro anos de evolução. O síndrome periférico só surge com algum significado a partir dos sete anos de evolução. Por isso, o diagnóstico será mais seguro se pelo menos um membro da família a diagnosticar for observado a meio da sua evolução (cerca dos 10 anos), quando o seu quadro clínico possa estar plenamente desenvolvido.

Diagnóstico neuropatológico

Fora das zonas de maior prevalência, é confortável ter uma confirmação neuropatológica do diagnóstico. A revisão de 18 autópsias de casos de DMJ permitiram definir um padrão neuropatológico característico:

1. Atingimento quase sistemático das seguintes estruturas: locus niger, núcleo subtalâmico, núcleos vermelhos, pânticos e dentados (pedúnculos cerebelosos médios e superiores), feixe longitudinal médio, núcleos vestibulares e dos nervos cranianos motores, cornos anteriores da medula (raízes anteriores), colunas de Clarke (feixes espino-cerebelosos), gânglios raquidianos (cordões posteriores). É ainda controverso, mas quase certo, o envolvimento do pálido e do locus ceruleus.
2. Integridade quase sistemática das seguintes estruturas: córtex cerebral, estriado, córtex cerebeloso, olivas bulbares e feixe piramidal.

Diagnóstico diferencial

Os critérios de diagnóstico diferencial da DMJ com outras afecções próximas podem ser enunciados do seguinte modo:

1. O modo de transmissão (autossômico dominante) permite excluir as afecções esporádicas ou recessivas.
2. O início habitual na idade adulta é um ponto de menor importância, visto a maior parte das afecções dominantes o terem também.
3. O perfil sempre progressivo exclui as ataxias periódicas familiares e as formas congénitas, não evolutivas (a progressão mais lenta da DMJ em relação a outras entidades próximas pode ser um ponto auxiliar de diagnóstico).
4. O estado dos reflexos, utilizado em várias classificações, não é de qualquer utilidade, uma vez que todas as modalidades são possíveis na DMJ.
5. A ausência de epilepsia mioclónica, deterioração mental e/ou coreia, no doente ou noutros membros da família, parece ser a chave do diagnóstico diferencial com a atrofia dentato-rubro-pálido-luysiana.
6. A ausência de demência, alterações retinianas ou atrofia óptica frequentes permitem a exclusão de certas atrofias olivo-ponto-cerebelosas "plus".
7. A atrofia olivo-ponto-cerebelosa com movimentos oculares lentos e a ataxia com fasciculações permanentes são tão especiais que não levantam dificuldades de diagnóstico clínico.
8. Finalmente, resta a questão mais difícil: a do diagnóstico diferencial com as restantes atrofias olivo-ponto-cerebelosas (sem movimentos oculares lentos, sem demência, sem atrofia óptica ou degenerescência tapeto-retiniana predominantes). Penso que aqui o diagnóstico diferencial é *quantitativo*. Do ponto de vista clínico, certos aspectos são mais frequentes ou até constantes na DMJ: *todos* os doentes têm oftalmoparésia após cinco anos de evolução, as fasciculações de contração da face são *muito frequentes* após sete anos de evolução, *quase todos* os casos tardios têm sinais periféricos. O mesmo se passa do ponto de vista patológico: nas atrofias olivo-ponto-cerebelosas o córtex cerebeloso (particularmente o neocórtex) e as olivas bulbares estão *muito* atingidas, na DMJ estão íntegros ou mostram só uma *ligeira* rarefacção celular. Na primeira a substância negra e outras estruturas extrapiramidais estão *ocasionalmente* atingidas, enquanto que na DMJ o seu envolvimento é quase constante.

9. A não ligação da DMJ aos loci do sistema HLA no cromossoma 6 permite excluir pelo menos algumas das atrofias olivo-ponto-cerebelosas clássicas, sem necessidade de observar vários doentes nem esperar pelo estudo neuropatológico.

Problemas neuropatológicos especiais

A revisão neuropatológica efectuada, além de permitir estabelecer critérios de diagnóstico, pôs em evidência alguns aspectos interessantes, merecedores de estudo ulterior. O mais interessante é certamente a integridade do feixe piramidal em todo o seu trajecto, em doentes que apresentam quadros piramidais irritativos por vezes muito marcados. Este facto (que não é exclusivo da DMJ) sugere que nem sempre o que chamamos síndrome piramidal corresponde a uma lesão do feixe cortico-espinal, e pode depender do envolvimento de outras vias, nomeadamente dos feixes vestibulo, reticulo e tecto-espinais. Outro problema diz respeito à integridade do córtex cerebeloso, apesar do atingimento, por vezes maciço, das suas aferências (com excepção das originadas nas olivas bulbares) e eferências.

A estas duas questões deveria ser dada, em futuros estudos, uma atenção especial. Do mesmo modo, será importante avaliar, nos próximos exames patológicos, o sistema reticular do tronco cerebral, que se pressente poder estar envolvido na DMJ, quer pelas suas conhecidas ligações com os movimentos oculares e com a actividade do locus ceruleus, quer pela evidência de lesão do feixe reticulo-espinal no caso por nós estudado.

Posicionamento nosológico da DMJ

Foi definido um padrão de lesão preferencial de determinadas estruturas neuronais, sem qualquer especificidade para além da sua distribuição, que permite integrar a DMJ no grupo nosológico das atrofias de sistemas múltiplos. São os seguintes os sistemas envolvidos:

1. Sistema cerebeloso, com integridade do córtex mas atingimento de algumas das suas conexões: aferências (vias espino-cerebelosas, ponto-cerebelosas e vestibulo-cerebelosas, com excepção das olivo-cerebelosas), e eferências (vias dentato-rúbricas).
2. Complexo pálido-luysiano.
3. Estruturas melanínicas, como o locus niger, o locus ceruleus e o núcleo dorsal do vago.
4. Sistemas motores principais, como os núcleos dos nervos cranianos motores e os cornos anteriores da medula.

Tanto do ponto de vista clínico como neuropatológico, a DMJ é pois sobretudo próxima de duas outras atrofias de sistema também geneticamente condicionadas: a forma clássica de atrofia olivo-ponto-cerebelosa (ligada ao

cromossoma 6) e a atrofia dentato-rubro-pálido-luysiana. Constitui, no entanto, uma entidade nosológica bem definida, perfeitamente diferenciável e correspondendo seguramente a um erro genético distinto.

Perfil epidemiológico da DMJ: mutação única e viagens do gene

O paralelismo da distribuição geográfica da DMJ e da PAF (com diferenças explicadas por acontecimentos aleatórios e pelas origens provavelmente distintas das mutações primitivas) é um forte argumento a favor de uma mutação original única (comum à maioria das famílias com DMJ), sobretudo quando comparada com a distribuição ubíqua de outras ataxias hereditárias, como a atrofia olivo-ponto-cerebelosa. A mutação deve ser anterior ao século XVI, dada a existência do foco japonês, e estava já nos Açores pelo menos no século XVIII, uma vez que o maior foco brasileiro até agora conhecido se situa no estado de Santa Catarina, maciçamente colonizado por açoreanos em meados desse século. A difusão do gene mutante da DMJ (e do da PAF) deve ter ocorrido através das viagens dos portugueses pelo mundo, tanto no período dos descobrimentos e da actividade evangelizadora e comercial subsequente (casos do Japão, China e Índia), como nos sucessivos movimentos migratórios das populações continentais e açoreanas (casos do Brasil e, para a DMJ, da América do Norte).

Mais difícil é decidir sobre a origem desta mutação primitiva da DMJ: discutiram-se argumentos a favor e contra uma origem sefárdica (continental) ou açoreana da mutação, baseados em dados epidemiológicos e em relações históricas conhecidas (da grande história e da pequena história das famílias afectadas). Qualquer que tenha sido, é evidente que a DMJ (e a PAF) se comportam como marcadores das viagens e migrações portuguesas.

Análise dos tipos clínicos

A grande variabilidade fenotípica da DMJ (que levou a que, na fase inicial de exploração da doença, se admittissem genótipos múltiplos), obrigou, a princípio por necessidade de sistematização, à definição de três tipos clínicos mais comuns. A análise estatística dos doentes estudados permitiu clarificar alguns pontos, abrindo ainda um interessante campo de especulação fisiopatológica.

A identidade dos tipos 1 e 3 é bem evidente, dado o seu comportamento claramente distinto em relação a quase todos os parâmetros: idade de início, predominância e intensidade dos diferentes síndromes, agregação em determinadas famílias e gerações, distribuição geográfica e étnica. A identidade

do tipo 2 é definida por uma idade de início intermédia e, apesar disso, por um comportamento mais benigno em relação ao quadro clínico (menor intensidade dos síndromes, ausência de manifestações tão incapacitantes como as extrapiramidais e as periféricas) e à sobrevida. Se tende a esgotar-se, por transformação nos outros tipos, doentes há, contudo, que se mantêm neste tipo por vezes até à morte, após longas evoluções. O tipo 2 contempla assim duas situações: os doentes em fase inicial, antes da diferenciação nos outros tipos, e os casos, habitualmente com idades de início intermédia, que nunca sofrem essa diferenciação ao longo de toda a evolução da doença.

A definição inicial dos tipos clínicos não foi feita do modo mais claro, o que contribuiu para algumas deficientes interpretações ulteriores. Justifica-se, por isso, pôr em relevo certos pontos: 1. O tipo 2 pode ser transicional, os tipos 1 e 3 são definitivos. 2. Nenhuma análise estatística que utilize tipos deveria ser feita nos primeiros anos de evolução da doença, antes dos tipos 1 e 3 terem tempo para se definirem. 3. Em fases terminais, todos os síndromes podem estar sobrepostos, tornando a definição dos tipos pouco adequada.

Factores de variabilidade fenotípica

Uma das questões mais interessantes no estudo clínico da DMJ é exactamente a sua extrema variabilidade fenotípica. Podem suspeitar-se dois tipos de factores condicionantes desta expressão variável de um mesmo gene mutante:

1. *Factores genéticos*: A expressão da mutação genética única deve ser influenciada por genes modificadores, particularmente no que respeita à idade de início (menor variação dentro de cada fratria e geração do que dentro de uma mesma família, menor variação intrafamiliar do que entre famílias, menor variação regional e intracomunitária). Há também alguma evidência de uma ligeira protecção conferida pelo sexo, correspondendo o sexo feminino, em regra, a formas mais tardias e benignas.

2. *Vulnerabilidade estrutural segundo a idade*: Por outro lado, parece existir uma vulnerabilidade especial das estruturas envolvidas em determinadas idades, que condiciona parte da expressão clínica: nos doentes jovens predomina a distonia e o síndrome piramidal, nos doentes mais velhos predominam os sinais de lesão dos cornos anteriores da medula, exprimindo-se as idades intermédias apenas pelo quadro comum de ataxia cerebelosa e oftalmoparésia externa progressiva. Esta susceptibilidade, dependente da idade, de determinadas estruturas do sistema nervoso central a noxas diversas (tóxicas, genéticas), é também evidente noutras doenças: as discinésias agudas medicamentosas, a doença de Wilson e a doença de Segawa atingem preferencialmente os jovens, certas doenças dos cornos anteriores da medula como a esclerose lateral

amiotrófica são características de grupos etários mais avançados. A vulnerabilidade selectiva das estruturas-alvo segundo a idade (isto é, segundo o seu grau de imaturidade ou de envelhecimento) pode explicar a diferente expressão clínica de um mesmo erro genético, conforme a idade de início.

Um modelo etiopatogénico para a DMJ

Para concluir, eis uma possível sucessão de acontecimentos que poderá determinar a expressão da DMJ:

1. Mutação genética primitiva.
2. Erro de codificação na síntese de uma proteína.
3. Interferência dessa proteína anormal (ou da falta da proteína normal) no metabolismo dos sistemas neuronais envolvidos, levando à morte celular precoce.
4. Influência de outros genes, situados em loci diferentes, e, eventualmente, de factores ambientais na expressão desse erro, condicionando a idade da descompensação (início clínico), a partir da qual a percentagem de neurónios desaparecidos não pode ser equilibrada pela hipersensibilidade de desnervação dos receptores.
5. A claudicação dos diferentes sistemas (particularmente dos responsáveis pela distonia e pelo síndrome piramidal e dos cornos anteriores da medula) poderá ser função da idade do doente, por condições locais de imaturidade para as primeiras, de envelhecimento para os segundos, que lhes confirmam uma maior vulnerabilidade ou resistência à proteína patológica (ou a um déficite da proteína normal).
6. Do jogo dos diferentes factores — genes modificadores, ambiente, vulnerabilidade selectiva das estruturas-alvo segundo a idade — dependerá o padrão patológico da doença e a sua expressão clínica.

Como era de esperar, não foi possível encontrar uma resposta definitiva para todas as questões levantadas. Algumas terão ficado mais clarificadas, e desta clarificação novas perspectivas se abriram para estudos ulteriores. Muito depende, no entanto, da identificação de um marcador genético para a doença de Machado-Joseph, o que parece ser o próximo e inevitável passo no seu conhecimento. Será fascinante saber que pistas surgirão depois, nesta cadeia tão harmoniosa, apesar de saltos, avanços e retrocessos, que é a investigação de uma doença “nova”.



2. *Corpus* de chegada

Pathologies Neurodégénératives

Le cas particulier de la Maladie de Machado-Joseph



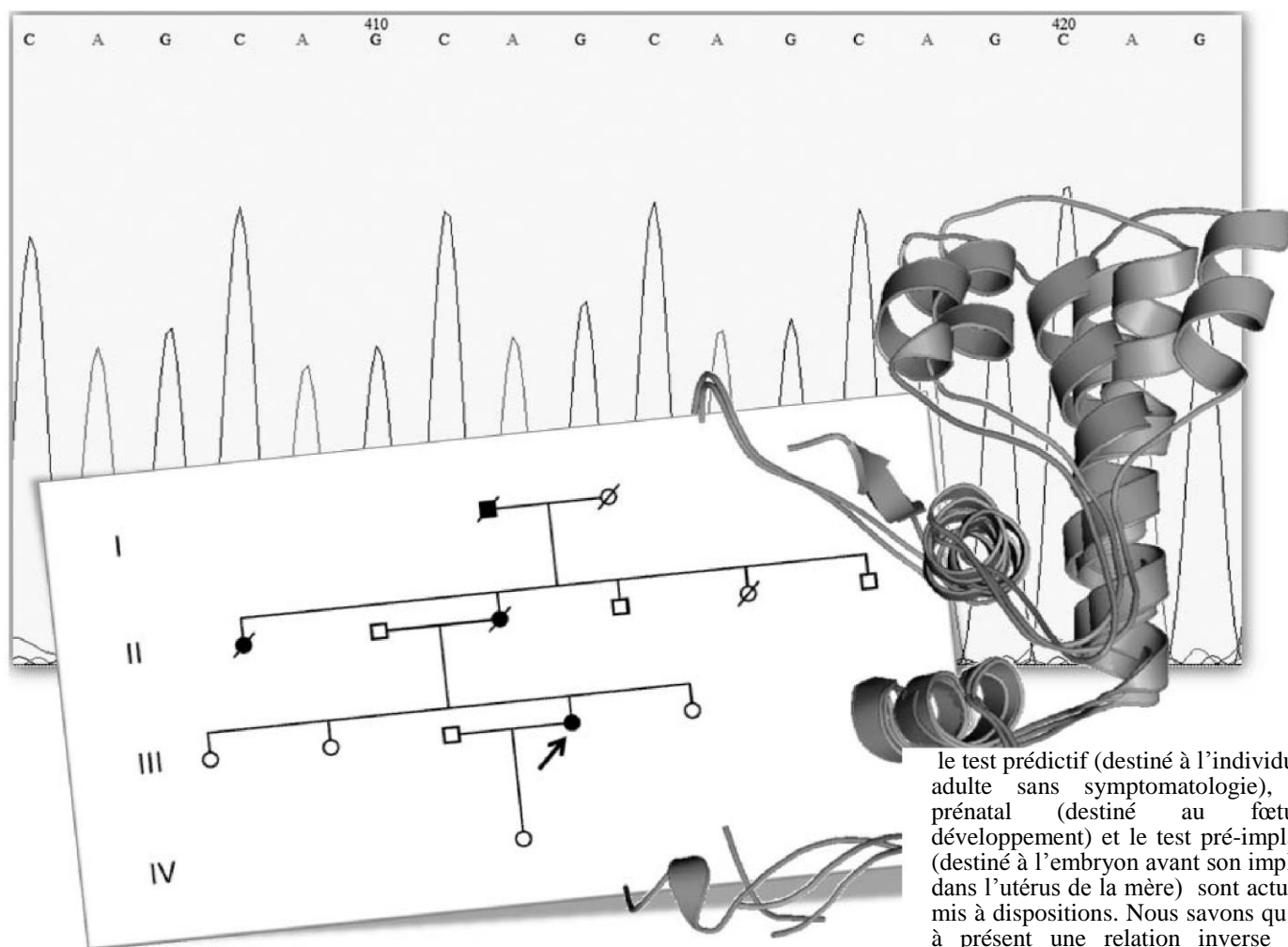
CONCEIÇÃO BETTENCOURT
CHERCHEUSE
POST-DOCTORANTE

● La MMJ est une maladie neurodégénérative, provoquée par un changement génétique transmis de génération en génération, qui atteint ses plus hauts niveaux de prévalence aux Açores.

Certaines maladies se caractérisent par la destruction progressive et irréversible de différents types de neurones (cellules de notre système nerveux), qui entraîne une perte progressive des capacités motrices, physiologiques et/ou cognitives. Ces maladies sont qualifiées de neurodégénératives et incluent, parmi tant d'autres, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington et la maladie de Machado-Joseph (MMJ).

Qu'est-ce qui peut bien entraîner l'apparition de ces maladies? Serait-ce le style de vie? Serait-ce les habitudes alimentaires? Serait-ce la génétique ou une conjugaison de plusieurs facteurs? Cela dépend! Au sein de ce grand groupe, il existe des maladies connues comme étant "purement" génétiques comme c'est le cas de la maladie de Huntington et de la MMJ. Toutes deux sont dues à un changement génétique (mutation). Mais il en existe d'autres, par exemple la maladie de Parkinson, dont la cause est plus complexe. Il existe ainsi des formes "purement" génétiques, provoquées par des mutations de certains gènes (on connaît 8 gènes associés à des formes héréditaires de la maladie de Parkinson, parmi lesquels les plus importants sont ceux qui codifient les protéines appelées parkine et alpha-synucléine), alors que d'autres sont le fruit de l'interaction de plusieurs facteurs, notamment environnementaux et génétiques.

Comme mentionné précédemment, la MMJ appartient au groupe des maladies dégénératives dites "purement" génétiques. La MMJ est, à l'échelle mondiale, également connue sous le nom d'ataxie spinocérébelleuse de type 3 (ASC3), et est rare, touchant moins de 2 individus sur 100 000. Cependant, la MMJ est fortement prévalente aux Açores, touchant environ 1 habitant sur 3500. Dans certaines îles, comme c'est le cas dans l'île des Fleurs, la MMJ atteint ses plus hauts niveaux de prévalence à l'échelle mondiale, touchant 1 habitant sur 240. Les premiers symptômes, généralement un déséquilibre de la marche ou une altération de la vision apparaissent normalement déjà à l'âge adulte (en moyenne vers 40 ans). Cependant, l'âge d'apparition ainsi que la progression et la sévérité de la maladie varient assez bien d'un malade à l'autre, (y compris parmi



● Les premiers symptômes de la MMJ (déséquilibre de la marche) apparaissent généralement à l'âge adulte

● Il existe des tests génétiques permettant de détecter de façon précoce la mutation de la MMJ

les malades d'une même famille). Il existe des cas extrêmes pour lesquels les premiers signes de la maladie sont apparus à l'âge de 4 ans et d'autres à l'âge de 70 ans seulement. La MMJ est causée par une mutation transmise de génération en génération, c'est-à-dire, des parents aux enfants. Son mode de

transmission est autosomique dominante, ce qui signifie qu'il suffit d'hériter, de la copie modifiée du gène d'un seul des progéniteurs pour que la maladie se manifeste, touchant sans distinction hommes et femmes. Les individus qui ne possèdent pas cette mutation ont un motif avec le codon "CAG" qui se répète jusqu'à un maximum de 44 fois (CAG1CAG2CAG3CAG4... CAG44), alors que les individus porteurs de la mutation ont une augmentation exacerbée du nombre de « CAGs », présentant plus de 52 répétitions de ce même codon. Cette erreur provoque des changements au niveau de la protéine codée par le gène affecté, qui dans ce cas est l'ataxine-3. La présence de cette mutation peut être détectée de façon précoce, avant même que la maladie ne se soit manifestée, grâce à une analyse génétique. Pour les membres d'une famille porteuse de cette maladie, dûment suivis grâce à un programme de conseil génétique,

le test prédictif (destiné à l'individu adulte sans symptomatologie), le test prénatal (destiné au fœtus en développement) et le test pré-implantatoire (destiné à l'embryon avant son implantation dans l'utérus de la mère) sont actuellement mis à dispositions. Nous savons qu'il existe à présent une relation inverse entre le nombre de « CAGs » que l'individu possède et l'âge de début de la MMJ, c'est-à-dire que plus le nombre de « CAG » est élevé, plus la maladie apparaîtra tôt.

Cependant, nous n'en savons pas suffisamment pour nous permettre de prévoir l'âge exact des premiers symptômes chez chacun des porteurs de cette mutation. Tout comme pour d'autres maladies neurodégénératives, la MMJ n'a pas encore de guérison. Cependant, il existe un traitement qui permet de minimiser certains de ses symptômes, comme par exemple, la douleur, l'insomnie, le tremblement ou la rigidité. En outre, la physiothérapie peut aider à retarder la perte de capacités motrices, de même que la thérapie du langage peut aider à améliorer la capacité de communication des malades souffrants de dysarthrie (incapacité d'articuler correctement les mots due au fait que les muscles impliqués dans le langage sont affectés).◇

Neurogénétique à l'Université des Açores

Le groupe de l'académie des Açores, sous la direction du Docteur Manuela Lima a dernièrement réalisé plusieurs études dans le domaine de la neurogénétique, avec un intérêt particulier pour la maladie de Machado-Joseph (MMJ). La recherche effectuée par ce groupe, dans lequel je m'inclus, se concentre sur l'origine de la mutation à la base de la MMJ, sa transmission et sa représentation au sein de la population des Açores ainsi que sur d'autres facteurs génétiques contribuant à la variabilité clinique observée.

À la recherche des causes inconnues des ASCs.

On connaît plus de 30 sous-types d'ataxies spinocérébelleuses (ASCs), parmi lesquels la MMJ (ASC3). Les ASCs sont rares et certains des sous-types ont été décrits dans un nombre très restreint de familles, ce qui rend difficile leur étude du point de vue clinique et génétique. Même si nous savons déjà quels sont les changements génétiques qui provoquent près de la moitié des ASCs, il reste encore à découvrir quelles sont les causes de l'autre moitié. En collaboration avec d'autres groupes de recherche, nous essayons de mieux connaître ces maladies et d'atteindre cet objectif. ◇

CHAPITRE VII

MALADIE DE MACHADO JOSEPH: QUEL AVENIR?

MALADIE DE MACHADO-JOSEPH: QUEL AVENIR?

Après discussion de divers aspects de la MMJ, maintes questions demeurent en suspens. Néanmoins, ce sont celles que, les malades posent, de façon invariable et légitime, lors de nombreuses consultations. S'il est vrai qu'ils s'informent en premier lieu, sur les progrès de l'évolution de la recherche concernant la maladie il n'en est pas moins vrai que leur intérêt se centre naturellement sur le traitement, la «cure» et éventuellement la prévention. Pour ces dernières, il n'y a pas encore de réponses/solutions.

Tentatives de traitement

Pour des raisons évidentes, le traitement de la MMJ est purement symptomatique et se trouve encore plutôt limité. Le fait que le symptôme le plus fréquent et incapacitant soit l'ataxie cérébelleuse en dit long sur les frustrations dans ce domaine. Quelques tentatives thérapeutiques ont été réalisées, la plupart sans succès. Les premières ont utilisé des agonistes cholinergiques (en premier lieu la physostigmine¹, et ensuite des dérivées de la choline²). Dernièrement Trouillas³ essaye des précurseurs sérotoninergiques (L-5 hydroxytryptophane, associé à de la benzamide) dans des cas de syndromes cérébelleux de différentes étiologies, y compris dans le cas des atrophies cérébelleuses corticales tardives et atrophies olivo-cérébelleuses. La justification physiopathologique serait l'existence de terminaisons sérotoninergiques provenant des noyaux du raphé, situés au niveau du cortex du vermis cérébelleux et des olives bulbaires. Certains de ces résultats ont été contestés^{4,5}. Trouillas fait référence à la résistance des malades atteints de MMJ à ce traitement, alors que des malades présentant des atrophies olivo-ponto-cérébelleuses y sont sensibles.

Grâce au baclofène, on obtient un raisonnable contrôle de la spasticité qui facilite la marche ou qui permet une meilleure adaptation au fauteuil roulant. Les amyotrophies et les parésies peuvent être en partie récupérées grâce à une physiothérapie bien adaptée. Elle est cependant inaccessible à la plupart des malades. Les signes extrapyramidaux, plus rares, font partie des plus susceptibles du traitement: la dystonie répond bien aux anticholinergiques; moins bien aux dopaminergiques qui, d'autre part, équilibrent le syndrome de Parkinson, peu incapacitant sur nos malades. Dans d'autres pays, le résultat obtenu avec la L-dopa est mis en avant^{6,7}, tout d'abord au niveau du titre de la publication originale de Woods et Schaumburg⁸, qui considèrent, avec un certain optimisme, la MMJ comme étant «une entité partiellement soignable».

En 1988, Mello et Abbot⁹ ont publié un essai thérapeutique doublement aveugle à base de sulfaméthoxazole et triméthoprime [Bactrim]^R effectué sur un malade de type 2, présentant des améliorations au niveau de la spasticité et de la marche. De bons résultats à base des mêmes drogues ont été mentionnés deux ans après, dans un cas français de type 1 présentant un bénéfice supplémentaire au niveau de la dystonie¹⁰. L'éventuel mécanisme d'action de l'association reste inconnu, mais si nous prouvons que celui-ci est efficace, nous saurons lequel de ses composants est responsable de l'effet thérapeutique.

Nous avons eu l'occasion¹¹ d'effectuer un essai croisé et doublement aveugle avec la même association dans neuf cas de MMJ compris entre 24 et 78 ans et de 9 à 23 ans d'évolution, quatre de type 1 et 2 et cinq de type 3, grâce à l'utilisation d'un protocole d'évaluation semblable à celui de Mello et Abbot, qui comprend un questionnaire subjectif, une échelle pour les signes neurologiques et des tests moteurs chronométrés. Les résultats analysés par le test de Wilcoxon pour l'effet thérapeutique et par le test de Mann-Whitney pour l'effet d'ordre, indiquent une nette amélioration au niveau de la marche et lors de certains tests chronométrés (articulation verbale, coordination motrice), sans modification significative des résultats neurologiques.

L'essai a des limitations évidentes: il comprend peu de malades, certains d'entre eux dans des états avancés pour lesquels une nette amélioration ne pourrait être raisonnablement attendue et, surtout une prédominance de cas de type 3, sans spasticité ni dystonie, deux des manifestations apparemment sensibles au [Bactrim]^R lors de précédents essais.

Nous sommes évidemment bien loin d'une thérapie efficace. La MMJ étant une atrophie multisystémisée, les traitements de substitution doivent alors être nombreux, avec des interférences et additions d'effets collatéraux. Cependant, les malades que nous hospitalisons pour un ajustement de la thérapie bénéficient considérablement, aux dépens d'un important investissement, que ce soit du point de vue médical ou du personnel d'infirmiers et de réhabilitation. C'est grâce à toute notre expérience depuis les tout débuts que la plupart

des malades retrouvent leur état primitif peu de mois après, à cause de l'abandon du traitement (pour des raisons financières ou au non-intérêt de la famille et des médecins auxiliaires) et de l'impossibilité de suivre une physiothérapie.

Les malades de MMJ souffrent comme tous, des déficiences de la santé et de l'assistance au Portugal, et leurs familles du manque de services d'aide à domicile un minimum organisés. Dans ce domaine, tout comme au niveau de la prévention, le rôle d'une association de malades serait fondamental. Nous savons qu'une association de ce type est en cours de formation aux Açores. Celle-ci devra faire face à la difficulté supplémentaire au niveau de la coordination du travail entre les différentes îles.

Prévention

Essayer de prévenir une maladie génétique semble, dès le début, une tâche presque impossible, surtout lorsque celle-ci est dominante, à début tardif, et qu'elle se trouve encore sans marqueur biochimique ou génétique. Cependant, sa haute prévalence dans certaines régions et la gravité de ces formes précoces justifient la nécessité de sa contention.

Cette prévention passe par un conseil génétique comprenant diverses étapes: diagnostic sûr de la maladie, connaissance exacte du risque de transmission et des facteurs qui peuvent l'augmenter (mariage entre individus à risque) ou la diminuer (âge de l'éventuel transmetteur, apprécié au moment de l'âge habituel d'apparition dans chaque famille, génération et fratrie), critères de suspicion des porteurs, divulgation de la maladie et de son mode de transmission, perméabilité des membres des familles touchées.

Diagnostic : Nous en avons déjà parlé plus en détails et avons proposé des critères de distinction avec d'autres affections proches, telles que les atrophies olivo-ponto-cérébelleuses et dentato-rubro-pallido-luysiennes. Bien que le mode d'héritage soit identique, et donc les risques de transmission aussi, l'intérêt porté à cette distinction n'est pas purement académique, étant donné que toutes deux ont pour principe des évolutions plus rapides et des implications plus graves (démence, cécité) que la MMJ. Il est également évident que les études de liaison génétique doivent être effectuées en ayant pour base un diagnostic solide.

Risque de transmission: Le risque est a priori de 50%. Commun aux maladies autosomiques dominantes, il peut être réajusté en fonction de la connaissance de la maladie. Il existe actuellement dans l'île des Fleurs, quatre couples constitués de porteurs possibles ou obligatoires, ce qui augmente la probabilité de transmission à 75% (parmi lesquels 25% de risques d'homozygotie, avec probablement des formes plus graves). Cependant, le risque baisse bien évidemment avec l'âge,

sans jamais disparaître (on a connaissance d'un cas d'hétérozygote obligatoire âgé de 90 ans¹²). Sequeiros¹² a pour cela proposé l'utilisation de la pénétration selon l'âge, lors du conseil génétique, grâce au calcul bayésien, ce qui permettra de tranquilliser relativement les individus à risque, en termes de faible probabilité de développer la maladie. D'autres informations devraient être rattachées puisque nous savons que celles-ci ont une influence sur la date de début, telles que l'âge de début chez le transmetteur et l'âge de début habituel dans cette famille, génération et fratrie. Cependant, les risques diminuent lentement étant donné le début tardif, rendant ainsi difficile la transmission à temps de cette information pour les personnes à risque, en connaissance de cause, afin qu'elles puissent prendre une décision au sujet de leur procréation.

Détection de porteurs

Nous avons vu précédemment que seul dans le cas de type 1, avec un début précoce, la maladie interfère avec le comportement reproducteur. Le fait que la plupart des cas aient manifesté la maladie après l'âge habituel de mariage et de procréation rend indispensable, la recherche de méthodes de détection précoce de porteurs, pour un conseil suivi.

Détection en clinique et au laboratoire: La première possibilité est d'utiliser les critères cliniques et ceux du laboratoire. Il est connu que dans le cas de la MMJ¹³ et d'autres ataxies héréditaires¹⁴, certains individus à risques présentent de légers changements lors de l'examen neurologique, en l'absence de toute manifestation subjective. Ce sont ceux que nous avons pris l'habitude de nommer « suspects » depuis 1976. Ce groupe se compose dans notre série de 53 personnes, 16 de sexe masculin et 37 de sexe féminin de 6 à 73 ans. Ils représentent 25,1% des individus à risque.

Les changements observés chez ces 53 «suspects» étudiés ont été une hyperréflexie ostéotendineuse, associée ou pas au clonus inépuisable des pieds (81,1%), une rétraction palpébrale (33,9%), une légère ataxie de la marche dans les épreuves sensibles (28,3%), un nystagmus horizontal épuisable (20,7%). La propre valorisation de ces petits signes est délicate: nous savons tous que l'anxiété (état habituel des individus à risque soumis à un examen neurologique, persuadés que celui-ci va leur établir un diagnostic) peut contribuer à un régime de reflexes plus élevé, tout comme pour le nystagmus inépuisable et le déséquilibre. La valorisation de la rétraction palpébrale est également difficile chez certains malades.

Les études imagiologiques réalisées auprès de quatre des individus «suspects» -trois tomographies cérébrales et une résonance magnétique ont révélé une atrophie vermienne et du tronc cérébral chez tous (chez deux d'entre eux, environ trois ans avant le

début clinique). Aucun contrôle n'a été effectué chez les individus à risque ayant un examen neurologique normal.

Le groupe des «suspects» a été suivi durant une période allant de 1 à 15 ans, malheureusement non régulièrement, tout comme ce fut le cas pour celui des malades. Durant ce *système de relance*, 11 personnes (18.8% des «suspects») ont vu la maladie apparaître (ils présentaient les premiers symptômes et l'examen neurologique était absolument anormal) 1 à 12 ans après la mise en évidence de ces petits changements décrits. Le pourcentage est plus élevé si l'on considère qu'ils sont, logiquement, tous inclus dans le groupe ayant plus d'un an de suivi (45.5%). Les 42 «suspects» restants se sont maintenus stables ou ont développé d'autres changements sans se plaindre et mènent une vie normale. À l'inverse, seuls trois des individus à risque (1.9% de ceux considérés asymptomatiques), ayant un examen neurologique normal effectué entre 8 à 12 ans avant le début clinique sont passés dans le groupe des malades.

Des 11 «suspects» qui ont fini par contracter la maladie, 10 avaient des signes pyramidaux (entre 1 et 12 ans avant le début), deux des rétractions palpébrales (2 et 8 ans), un nystagmus (1 an), une ataxie (1 an), une légère limitation du regard vertical (1 an). L'hyperréflexie semble être l'indicateur de risque le plus fréquent et précoce, suivie de la rétraction palpébrale. Les autres signes sont des indicateurs de l'apparition proche de la maladie.

Étant donné la grande irrégularité de suivi, ceci n'est évidemment pas une étude prospective. Cependant, je pense qu'il serait intéressant de contrôler un groupe de personnes à risque à des intervalles de temps réguliers (dans l'idéal tous les ans), de façon à obtenir une notion plus précise du temps et une valeur du pronostic des changements survenus. En l'absence d'un marqueur génétique, ils pourraient représenter une certaine aide dans la détection de porteurs du gène mutant. Un autre point intéressant mis en avant dans l'étude des «suspects» est le fait que les changements anatomiques évalués par la neuro-imagerie (avec la réserve imposée par le nombre réduit de cas et l'absence de contrôles), sembleraient précéder les manifestations cliniques.

Certaines études ont été faites en Amérique du Nord¹⁵⁻¹⁷ à l'aide de pointages des mouvements oculaires, des pointages potentiels évoqués visuels et somato-sensitifs et d'épreuves vestibulaires lors de la détection préclinique de porteurs, avec des résultats encourageants mais sans suivi adéquat qui permettrait d'évaluer leur degré de sensibilité. De toute manière, ces changements n'étaient pas suffisamment précoces ni spécifiques pour être utiles au moment de la détection préclinique des porteurs.

La recherche d'un marqueur génétique

Si nous suivons l'évolution de la recherche actuelle effectuée dans les plus diverses maladies génétiques, il est évident que le pas suivant à franchir dans l'étude de la MMJ serait, inévitablement, la découverte d'un marqueur génétique. D'autres ataxies héréditaires ont déjà été localisées au niveau chromosomique: l'ataxie télangiectasie¹⁸ (au niveau du bras long du chromosome 11), l'ataxie de Friedreich¹⁹ (au niveau du bras long du chromosome 9), l'atrophie classique²⁰⁻²² (au niveau du bras court du chromosome 6, relié aux loci des antigènes HLA).

Plusieurs études de liaisons dans des familles souffrant de MMJ ont dernièrement été réalisées dans divers centres, grâce à l'utilisation soit des polymorphismes cellulaires et sériques traditionnels ou des polymorphismes d'ADN²³⁻²⁸. Même s'il a été possible de faire quelques exclusions importantes, comme celle de la liaison du chromosome 6²⁹ (prouvant ainsi que la OPCA classique et la MMJ sont bien distinctes et non alléliques) et celle de la liaison au locus de la maladie de Huntington au niveau du chromosome 4³⁰, nous ne sommes toujours pas parvenus à un résultat définitif pour l'identification d'un marqueur et de la localisation d'un gène mutant. En dehors de l'utilité immédiate lors d'un conseil génétique suivi, la découverte du gène mutant amènera nécessairement au séquençage et, plus tard, à l'identification de la protéine anormale que la mutation induit et qui serait à la base des manifestations de la maladie. En plus d'éclairer sur le mécanisme physiopathologique, discuté actuellement en termes purement théoriques, cela permettra aussi de rechercher des armes thérapeutiques logiques pour la MMJ et, à une autre échelle, d'aider à la définition nosologique correcte des ataxies héréditaires.

L'utilisation de ce marqueur lors de la détection de porteurs va certainement soulever des problèmes éthiques, sociologiques et même légaux, comme c'est le cas pour d'autres affections. À l'exception des formes à début plus précoce, la MMJ est relativement bénigne dans de nombreux cas et peut se manifester dans des âges avancés, c'est pourquoi, une réflexion sera indispensable au préalable avant d'essayer de l'appliquer de façon systématique. Les facteurs à considérer seront certainement ceux qui, comme nous l'avons vu, influencent l'apparition de formes précoces, tels que l'âge moyen de début dans la famille et chez le transmetteur.

Les règles de base du diagnostic préclinique, notamment la confidentialité absolue et la liberté de décision des personnes à risque, sans aucune forme de pression de la part des médecins, proches, entités patronales, compagnies d'assurances ou tout autre groupe potentiellement intéressé, doivent, bien évidemment, être garanties. Il y a aussi une tendance à y avoir un accord général sur le fait que les enfants ne doivent pas être soumis à des tests précliniques³¹.

Perméabilité des personnes à risque au conseil génétique.

"Oh we were told of the 50% risk factor of the disease several years ago in the clinic, but we both only heard the 50% about *not getting* the disease because we desperately wanted to have children. Of course now that my husband is sick and we have two children I wish we had heard and paid attention to the 50% chance of *getting* the disease.»¹

Il s'agit d'une citation extraite d'une étude de l'anthropologue Marie Boutté³² portant sur les réactions des membres de familles souffrant de MMJ des Açores et des USA, le risque de la maladie et sa transmission. Cette étude est semblable à certaines de Nancy Wexler sur la maladie de Huntington³³ (la différence étant que Wexler appartient elle-même au groupe à risque).

La maladie étant habituellement bien connue des membres de la famille qui ont suivi de près l'évolution chez l'un des parents. Ils vivent en permanence dans la peur, surtout s'ils continuent à vivre dans le foyer familial. C'est pourquoi, certains fuient et trouvent un emploi dans l'une des autres îles ou au Portugal continental. Nombre d'entre eux n'aiment pas être confrontés à elle et évitent alors de rendre visite aux membres affectés de la famille ou de se rendre aux consultations que nous organisons aux Açores. Il est fréquent que les personnes à risque ne se présentent pas lorsque l'on prend contact avec elles et sont ensuite très réceptives si nous allons à leur rencontre chez elles. Aux États-Unis, beaucoup de membres de familles touchées ont cessé de se rendre aux réunions cliniques organisées par la IJDF. À quelques exceptions près, la plupart ne demandent pas d'aide médicale, ni de conseil, ni de diagnostic, sauf lorsqu'ils se trouvent déjà dans un état très incapacitant. Curieusement, certains n'affirment pas l'existence de cas similaires dans la famille d'où, tout comme pour la fréquence du diagnostic de la sclérose en plaque. Une des malades mentionnée par Boutté a affirmé: «Je sais que je souffre de Machado-Joseph, elle a été diagnostiquée il y a des années lors d'une session clinique. Mais je ne le dis jamais. Je dis que j'ai une sclérose car c'est plus facile de comprendre ce dont il s'agit et ce n'est pas héréditaire. Je ne veux pas que cela se répercute sur mes enfants».

Les personnes à risque restent alors seules avec leur anxiété, ce qui constitue à elle-seule une deuxième maladie³². Ils s'habituent à s'auto-observer, chaque petit déséquilibre est interprété comme un premier signe. Lorsque j'allais régulièrement aux Açores, je me rendais compte que certains d'entre eux commençaient, dès le premier rendez-vous, à réaliser à nouveau l'examen neurologique à la maison et commentaient ce qu'ils faisaient en disant: «ceci je le fais bien, pas de soucis» ou «je n'ai pas l'habitude de faire ceci». Ils deviennent ainsi des experts dans l'identification de petits signes chez leurs proches. Parfois lors de fêtes en familles ou en communauté (il est connu que l'ingestion d'alcool peut provoquer une légère ataxie), ils rectifient le début annoncé par leurs propres proches, en leur disant que quelques années auparavant, on remarquait déjà des signes de la maladie, au niveau des yeux et de la marche.

¹ On nous a dit il y a plusieurs années à la clinique que le facteur de risque de contracter la maladie était de 50 % mais nous n'avons tenu compte que des 50% de chances de ne pas contracter la maladie car nous voulions désespérément avoir des enfants. Bien sûr, maintenant que mon mari est malade et que nous avons deux enfants je regrette que nous n'ayons pas pris en compte la probabilité de 50% de contracter la maladie.

La perméabilité de ce groupe au conseil génétique, pratiqué sur une base de 50% de risque (la roulette russe à laquelle Wexler fait référence³³), est pratiquement nulle. Il est bien évident qu'il n'est pas toujours réalisé avec professionnalisme et régularité, étant alors inclus lors des consultations neurologiques et dépend des visites occasionnelles aux Açores. Par rapport aux familles du Portugal continental que nous suivons, il arrive la même chose qu'avec la PAF (Polyneuropathie Amyloïde Familiale): si nous observons périodiquement les enfants de nos malades jusqu'à l'âge de vingt ans, on remarque qu'en règle générale, ils disparaissent, et reviennent ensuite avec des enfants, parfois, déjà affectés.

L'étude de Boutté révèle qu'environ 50% des individus à risque feraient un test préclinique, s'il existait un marqueur. Dans le cas de la maladie de Huntington, 56 à 84% des individus se sont montrés partants pour le faire avant que celui-ci n'existe, mais beaucoup d'entre eux ont changé d'avis lorsque celui-ci est devenu possible³⁴. Une enquête effectuée par courrier auprès de 387 individus courant le risque d'avoir la maladie de Huntington³⁵ a indiqué que seulement 12.6% seraient disposés à intégrer un programme de dépistage. Notre expérience avec la PAF montre que le diagnostic préclinique est, évidemment, excellent pour les personnes avec des résultats négatifs (lorsqu'elles croient en celui-ci), les libérant de l'angoisse de l'attente de la maladie et du sentiment de culpabilité par rapport aux enfants, mais ne change pas considérablement le comportement reproducteur de ceux qui ont des résultats positifs. Même s'il y a la possibilité du diagnostic prénatal, déjà existant pour cette maladie, celui-ci n'a été que très peu effectué.

Information et divulgation

Un conseil génétique est, en définitif, une information : réussir à éclairer les personnes à risque sur la nature, mode de transmission et risque de la maladie, de façon claire et neutre, afin de fournir tous les éléments nécessaires à une décision, sans pour autant la forcer. En plus du contact médecin-malade, il me semble essentiel de divulguer la maladie à travers la communication social et, surtout, à travers d'autres personnes se trouvant dans la même situation. Combien de fois me suis-je sentie mal-à l'aise en posant la question à des personnes souffrant d'angoisse cachée ou exprimée, et dont je ressens si bien. Il est impossible même s'il on possède beaucoup d'expérience, de contourner le fait, plus qu'évident, lorsque l'on a un « regard extérieur ». J'ai assisté, lors de mes premières années d'activité à l'association Portugaise de Paramyloidose, à l'impact des mots d'un malade ou d'une personne à risque. D'où l'importance des associations de malades. Il s'agit de personnes se trouvant dans le même bateau, qui s'habituent à parler de leurs problèmes communs et à défendre des intérêts communs. Personne ne peut les remplacer.

MMJ: Quel futur?

Au niveau scientifique, le premier pas à réaliser serait inévitablement identifier un marqueur génétique et localiser le locus de la maladie, et devrait être suivi d'un séquençage du gène. À partir de là, d'autres pistes pour le possible défaut protéique basique verront le jour, je l'espère. Connaissant déjà le terrain, il serait fascinant d'assister à une étude de son interférence fonctionnelle dans les différents systèmes anatomiques utilisés, au niveau du métabolisme et de la mort cellulaire, ainsi que de la répercussion secondaire sur les différents neurotransmetteurs. À ce moment-là, il sera alors possible d'essayer d'influencer de façon logique la claudication des différents systèmes touchés rendant l'intervention thérapeutique *rationnelle*. Un traitement causal, contre les effets directs du gène mutant, sera une autre conséquence possible, bien que pour le moment cela soit encore lointain.

Au niveau de la recherche génétique, on continuera à chercher une tentative d'identification et de localisation des gènes modificateurs, dont l'existence se présume de l'étude de la variation phénotypique de la maladie^{12,36}.

Dans un futur plus proche et immédiatement utile dans la contention de la maladie, si celle-ci est bien menée, la possibilité d'un diagnostic prénatal serait bien évidemment la meilleure et moins injuste arme dans la prévention d'une maladie génétique. Bien qu'elle soit sans aucun doute très difficile et longue, celle-ci sera une lutte qui vaudra la peine d'être engagée.

Au niveau de l'assistance aussi, presque tout reste à faire, même après un dépistage plus complet des familles affectées, des campagnes de sensibilisation sont réalisées aux plus divers niveaux, du public en général, des médecins auxiliaires, des familles touchées, de leurs membres, des autorités locales, régionales et nationales, de façon à permettre l'amélioration de l'information et de mettre en place certaines mesures de protection et d'aides aux malades et aux familles, jusqu'à présent les seuls à supporter toute la charge de travail et d'angoisse que la maladie encourt.

Bibliographie

1. Kark RAP, Blass JP, Spence A: Physostigmine in familial ataxias. *Neurology* 1977; 27: 70-72.
2. Sorbi S, Piacentini S, Marini P, et al: Lack of efficacy of phosphatidylcholine in ataxias. *Neurology* 1988; 38: 649-650.
3. Trouillas P, Brudon F, Adeleine P: Improvement of cerebellar ataxia with levorotatory form of 5-hydroxytryptophan. A double-blind study with quantified data processing. *Arch Neurol* 1988; 45: 1217-1222.
4. Klein P: Cerebellar ataxia (Letter). *Arch Neurol* 1989. 46: 1166.
5. Trouillas P: Cerebellar ataxia (Letter). *Arch Neurol* 1990. 47: 12.

6. Subramony SH, Currier RD, Jackson JF, Collins GM, Jackson MS: Presumed Joseph disease: three new kindreds and response to anti-parkinson drugs (Abs). *Ann Neurol* 1990; 28: 233.
7. Guo-Xiang W: Clinical research on MJD. (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
8. Woods BT, Schaumburg HH: Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia; a unique and partially treatable clinico-pathological entity. *J Neurol Sci* 1972; 17:149-166.
9. Mello FA, Abbot BP: Effect of sulfamethoxazole and trimethoprim on neurologic dysfunction in a patient with Joseph's disease. *Arch Neural* 1988; 45:210-213.
10. Sangla S, De Broucker Cheron F, Cambier J, Dehen H: Amelioration d'une maladie de Joseph par la sulfamethoxazole-trimethoprime. *Rev Neurol* 1990; 146: 213-214.
11. Coutinho P, Correia M, Silva C, Guimarães J, Lemos AP, Amado J, Matos E: Machado Joseph disease: a double-blind trial with sulphamethoxazole and trimethoprim in nine patients (em publicação).
12. Sequeiros J: Análise genética das causas de variação fenotípica na doença de Machado-Joseph. Tese de doutoramento. Porto, 1989.
13. Coutinho P: Machado-Joseph disease: minor neurologic abnormalities in individuals at risk. *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
14. Schut JW, Book JA: Hereditary ataxia: difference between progeny of male and female affected members and a definition of certain signs useful in detecting the disease prior to onset of clinical symptoms. *Arch Neurol Psychiat* 1953. 70: 169-179.
15. Dawson DM, Feudo P, Zubich HH, Rosenberg RN, Fowler HL: Electro-oculographic findings in Machado-Joseph disease. *Neurology* 1982; 32: 1272-1276.
16. Hotson JR, Langston EB, Louis AA, Rosenberg RN: The search for a physiologic marker of Machado-Joseph disease. *Neurology* 1987; 37: 112-116.
17. Mallinson AI, Longridge NS, MacLeod PM: Machado-Joseph disease: the vestibular presentation. *J Otolaryngol* 1988; 15: 184-188.
18. Gatti RA, Berkel I, Bader E. et al: Localization of an ataxia- telangiectasia gene to chromosome 11q22-23. *Nature* 1988; 336: 577-580.
19. Chamberlain S, Shaw J, Wallis] et al: Genetic homogeneity at the Friedreich ataxia locus on chromosome 9 *Am J Hum Genet* 1989; 44: 518-521.
20. Jackson JF, Currier RD, Terasaki PI, Morton NE: Spinocerebellar ataxia and HLA linkage: risk prediction by HLA typing. *N Engl J Med* 1977; 296: 1138-1141.
21. Haines JL, Schut LJ, Weitkamp LR et al: Spinocerebellar ataxia in a large kindred: age .at onset, reproduction and genetic linkage studies. *Neurology* 1984; 34: 1542-1548.
22. Frontali M, Iodice C, Spadaro M et al: Spinocerebellar ataxia (SCA 1) in two large Italian kindreds: evidence in favour of a locus position distal to GLO1 and the HLA cluster. *Ann Hum Genet* 1991; 55: 7-15.
23. Foster-Gibson CJ, Myers SM, Simpson NE, Rosenberg RN, Sequeiros J, MacLeod PM: Investigation of linkage in twelve kindreds with Machado-Joseph's disease (Abs). *Am J Med Genet* 1984; 36: 9S
24. Myers SM, MacLeod PM, Forse RA et al: Machado-Joseph disease: Linkage analysis between the loci for the disease and 18 protein markers. *Cytogenetic Cell Genet* 1986; 43: 226-228.
25. Sequeiros J: Genetic linkage studies in MJD: Portuguese-Azorean population. (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
27. Carson WJ, MacLeod PL, Vincent D, Nezarati M, Radvany J, Sequeiros J, Coutinho P, White B, Forse RA, Rosenberg RN, Rouleau GA: Linkage studies in Machado-Joseph disease, (Abs), *Am J Hum Genet* 1991; 49 (4 Supp.): 337.
28. Wakisaka A, Sasaki H, Takada A, Tashiro K, Yoshiki T: Molecular genetic studies in OPCA and MJD in Japan, (Abs). *Research Initiatives on Machado-Joseph disease*. Bethesda, 1991.
29. Amorim A, Prata MJ, Veiga I, Almeida VM, Santos MT, Loureiro JL, Coutinho P, Sequeiros J: Machado-Joseph disease: linkage relationships (Abs). *Am J Med Genet* 1991; 49 (4 Supp.): 355.
29. Sasaki H, Wakisaka A, Takada A et al: Linkage study of dominant OPCA and Machado-Joseph disease in Japan. (Abs), *International Symposium on Ataxia*. Boston, 1991.
30. MacLeod PM, Rouleau G, Simpson NE et al: Machado-Joseph disease: linkage analysis between the loci for the disease and a number of conventional and DNA markers. (Abs). *International Symposium on Ataxia*. Boston, 1991.
31. Harper PS, Clarke A: Should we test children for "adult" genetic disease? *Lancet* 1990; 335: 1205-1206
- Boutté MI: Waiting for the family legacy: the experience of being at risk for Machado Joseph disease. *Social Sci & Med* 1990; 30: 839-847,
33. Wexler N: "Russian Roulette"; the experience of being "at risk" for Huntington disease. Commission for the control of Huntington's disease and its consequences. Vol II: Technical report. DHEW Publ N° (NIH) 78-4502, pp 397-420. US Government Printing Office, Washington, DC, 1977.
34. Boutté MI: "The stumbling disease": A case study of stigma among Azorean-Portuguese. *Sac Sci Med* 1987; 24: 209-217,
35. Quaid KA, Brandt J, Folstein SE: The decision to be tested for Huntington's disease. *JAMA* 1987; 257: 3362.
36. Sequeiros J, Grossman A, Rosenberg RN; Modifier and epistatic genes in Machado-Joseph disease (Abs). *Clin Res* 1985; 33: 331A.

Résumé.....	1
Abstract.....	2
1. INTRODUCTION.....	3
1.1 La maladie de Machado-Joseph (MMJ)	3
1.1.1 Identification et caractérisation de la MMJ	3
1.1.2 Caractérisation génétique et moléculaire de la MMJ	6
1.2 Importance des régions 3'UTR	11
2. PERTINENCES ET OBJECTIFS DU TRAVAIL	18
3. MATÉRIEL ET MÉTHODES	20
3.1. POPULATION D'ÉTUDE	20
3.2. Analyse de régions des exons 10 et 11 du gène <i>ATXN3</i>	20
3.2.1 Amplification	20
3.2.2 Séquençage	21
3.2.3 Analyse bioinformatique	23
3.3 Analyse statistique	23
4. RESULTATS ET DISCUSSION	25
5. CONCLUSIONS GÉNÉRALES	34
6. BIBLIOGRAPHIE	37
7. ANNEXES	43

Résumé

La maladie de Machado-Joseph (MMJ), appelée aussi ataxie spino-cérébelleuse de type 3 (SCA3), est une maladie neurodégénérative de début tardif (en moyenne 40,2 ans), de transmission autosomique dominante. La MMJ est causée par une expansion du trinucléotide CAG dans la région codante du gène *ATXN3* (14q32.1). La taille de la voie répétitive explique seulement de 50 à 75% de la variation de l'âge de début de la maladie, c'est pourquoi d'autres facteurs responsables de la variation clinique observée doivent exister. Ainsi, bien que la mutation causale, dans le gène *ATXN3*, soit bien établie, l'information concernant les régions régulatrices de ce gène, telles que celle de la région 3'UTR, peuvent influencer les niveaux d'expression du même (et, en dernier recours, contribuer à la variabilité clinique observée), et encore très réduite. Avec la réalisation de ce travail, on prétendait décrire et analyser pour la première fois, la variation génétique de la région 3'UTR (3' " région non traduite") du gène *ATXN3*, à partir des échantillons de patients MMJ et analyser l'éventuelle présence de variabilité spécifique des patients. On prétendait aussi vérifier si l'existence de polymorphismes, situés dans cette région régulatrice, pouvait interférer avec les signes de polyadénylation déjà décrits. Pour cela, 40 échantillons d'ADN génomique ont été utilisés parmi lesquels 30 étaient de patients MMJ (cas), les 10 restants appartenaient à des individus en bonne santé, sans histoire familiale de MMJ (témoins). Pour chaque échantillon, des portions de l'exon 10 et de l'exon 11 du gène mentionné, qui définissent la plupart de sa région 3'UTR ont été amplifiées et séquencées. Les séquences obtenues à partir de trois séquences de cADN ont été comparées, correspondant à des transcriptions différentes, et ont ainsi permis de confirmer que les régions analysées correspondaient réellement à la portion d'ADN génomique qui codifie la région 3'UTR de ce gène. L'analyse détaillée des 360 séquences obtenues, passibles d'être analysées, a permis d'identifier dans les régions étudiées, 10 positions polymorphiques correspondant à 10 SNPs, qui avaient déjà été antérieurement décrites. On a constaté que les allèles les plus fréquents, pour chacun des 10 SNPs détectés, coïncidaient entre les deux groupes étudiés (cas et témoins). En plus de cela, on a vérifié qu'il n'existait pas de différences significatives des fréquences génotypiques entre ces deux groupes. Les données obtenues dans le présent travail démontrent que la région analysée du gène *ATXN3* ne présente pas de variation exclusive auprès des patients. Les régions étudiées dans ce travail englobent quatre séquences consensus pour les signes de polyadénylation. La comparaison des séquences obtenues avec la séquence de référence a permis de constater que les polymorphismes observés n'étaient pas impliqués dans l'élimination des signes de polyadénylation. Cependant, elles n'engendrent pas non plus de séquences consensus pour de nouveaux signes de polyadénylation. En prenant pour base les résultats obtenus, il ne serait pas désirable que la polyadénylation de la région 3'UTR du gène *ATXN3* qui a été analysée dans ce travail, puisse avoir une influence dans la régulation de l'expression du gène.

La présente étude a permis d'obtenir des données qui ont permis de connaître le type de variation existant dans la région 3'UTR du gène *ATXN3* dans les échantillons de patients MMJ, et vise à contribuer à une meilleure compréhension des bases moléculaires de cette maladie. En dehors de cela, les données gérées dans le présent travail peuvent servir de base pour de futurs travaux, en particulier ceux servant à analyser la variation génétique dans les régions régulatrices du gène *ATXN3* et sa relation avec la variabilité phénotypique de la MMJ.

Abstract

Machado-Joseph disease (MJD), also called spinocerebellar ataxia, type 3 (SCA3), is a late onset neurodegenerative disorder (average age at onset of 40.2 years), transmitted as autosomal dominant. MJD is caused by the expansion of a CAG repeat in the coding region of the *ATXN3* gene (14q32.1). The size of the CAG tract explains only 50-75% of the variation of the age at onset for this disorder, and other factors should be responsible for the clinical variability observed in MJD. Although the causative mutation, at the *ATXN3* locus, is well established, information concerning the regulatory regions of this gene, such as the 3'UTR (3' untranslated), which can influence its levels of expression (and, ultimately, contribute to the clinical variability observed) is still very scarce. The aim of this work was to describe and analyze, for the first time, the variation in the 3'UTR region of the *ATXN3* locus, in MJD patients, and to infer the presence of variability specific of patients. The analysis of the impact of the polymorphisms identified, in terms of interference with the polyadenylation signs, already described for this gene, was, furthermore, an important objective of this work. Forty samples of genomic DNA were used, 30 belonging to MJD patients (cases), the remaining 10 corresponding to apparently healthy individuals without family history of MJD (controls). For each sample, portions of the exons 10 and 11 of the *ATXN3* gene, which define most of the 3'UTR region, were amplified and sequenced. The comparison of the sequences obtained with three DNA sequences, corresponding to different transcripts, confirmed that the analyzed regions corresponded, in fact, to the portion of the genomic DNA which encodes for the 3'UTR region of the *ATXN3* gene. The detailed analysis of the 360 analyzable sequences obtained allowed the identification of 10 polymorphic positions, corresponding to 10 SNPs, which had already been described. The most frequent alleles, for each of the SNPs identified, were coincident between the two groups analyzed (cases and controls). No significant differences on what concerns the genotypic frequencies, were found between the two groups. Data obtained in this work points to the lack of variation exclusive of the patients, in this region of the *ATXN3* gene. The regions analyzed in this work encompass four consensus sequences for polyadenylation signals. The comparison of the sequences obtained with the reference sequence showed that the observed polymorphisms are not implicated in the elimination of polyadenylation signals; however, they also fail to originate consensus sequences for new polyadenylation signals. Based on the results obtained, it does not seem expectable that polyadenylation in the 3' region of the *ATXN3* gene studied, can influence the expression of this gene.

The present study has generated data which will improve our knowledge concerning the variation of the 3'UTR region of the *ATXN3* gene in MJD patients, aiming to contribute to a better understanding of the molecular basis of this disease. Data here generated, furthermore, can be the basis for future work, namely for those who will be targeted at analyzing the genetic variability in regulatory regions of the *ATXN3* gene and its relation with the phenotypic variability of MJD.

1. INTRODUCTION

1.1 La maladie de Machado-Joseph (MMJ)

1.1.1 Identification et caractérisation de la MMJ

La maladie de Machado-Joseph (MMJ), appelée aussi ataxie spino-cérébelleuse de type 3 (SCA3), est une maladie neurodégénérative à début tardif (en moyenne 40,2 ans), de transmission autosomique dominante (Coutinho, 1992). Bien qu'elle soit considérée comme étant une maladie de manifestation tardif, des cas extrêmes ont déjà été reportés, avec des âges de début de 4 et 70 ans (Coutinho, 1992, Carvalho et al. 2008). La survie moyenne est estimée à 21 ans (Coutinho, 1992).

Dans les années 70, plus particulièrement entre 1972 et 1976, "trois nouvelles" maladies neurologiques ont été décrites, dans trois familles d'ascendance açorienne, vivant aux États-Unis d'Amérique. La famille Machado, identifiée par Nakano et collaborateurs, en 1972 (Nakano *et al.*, 1972 *fide* Coutinho, 1992), a été la première famille à être étudiée, puisque la maladie a touché cette famille, d'où la dénomination "maladie de Machado". Durant cette même année, elle a été décrite, dans une famille restée connue sous le nom de Thomas. On pensait qu'il s'agissait d'une seconde maladie désignée comme "dégénérescence nigro spinal-denté avec ophtalmoplégie nucléaire" (Woods et Schaumburg, 1972 *fide* Coutinho, 1992). La troisième description de la maladie, qui sera plus tard appelée MMJ a été effectuée en 1976 par Rosenberg et collaborateurs, chez la famille Joseph, qualifiée alors de "forme autosomique dominante de dégénérescence striato-nigrique" (Rosenberg *et al.*, 1976 *fide* Coutinho, 1992).

Au fur et à mesure des années, cette maladie a eu plusieurs désignations telles que "maladie açorienne du système nerveux", "maladie de Joseph", "maladie de Machado" (déjà mentionnée auparavant), entre autres. Après l'unification de la maladie comme une unique entité clinique, la désignation actuellement utilisée "maladie de Machado-Joseph" a été attribuée en 1981, par Coutinho et Sequeiros. Cette désignation lui a été attribuée du fait que la famille Machado fut la première à être étudiée et que la famille Joseph inclut le plus grand nombre d'individus touchés jusqu'à présent connu. De plus, ces deux familles présentaient les deux phénotypes extrêmes par rapport à l'âge de début de la maladie et à la sévérité du cadre clinique (Coutinho et Sequeiros, 1981 *vide* Coutinho, 1992).

Cliniquement, la MMJ se caractérise par un cadre complexe et hétérogène puisque que celle-ci regroupe plusieurs systèmes neurologiques, notamment, le cérébelleux, l'oculomoteur, le pyramidal, l'extrapyramidal et le périphérique (Coutinho, 1992). Les principales manifestations de cette maladie sont l'ataxie cérébelleuse (non coordination des mouvements, manifestation clinique la plus fréquente, présente chez 98.6 % des patients) et l'ophtalmoplégie externe progressive - OEP (Limitation des mouvements oculaires, deuxième manifestation clinique la plus fréquente, présente chez 93.1% des patients). Des signes pyramidaux, extrapyramidaux et périphériques à différents niveaux peuvent être associés à ces principales manifestations. (Coutinho 1992).

Etant donné la haute variabilité phénotypique qui caractérise la MMJ, trois types cliniques principaux ont été proposés (Coutinho et Andrade, 1978 *vide* Coutinho, 1992). Le type 1 a un début plus précoce, en moyenne à l'âge de 24 ans, et présente une évolution plus grave, caractérisée par une ataxie

cérébelleuse, une OEP et des signes pyramidaux et extrapyramidaux marqués. Le type 2 a un âge de début intermédiaire (en moyenne à l'âge de 40 ans). Il s'agit du type clinique le plus fréquent, dans lequel se manifestent l'ataxie cérébelleuse, l'OEP, avec ou sans signes pyramidaux associés, et avec des signes extrapyramidaux et périphériques qui, lorsqu'ils existent, sont légers. Le type 3 a un début plus tardif (en moyenne à l'âge de 47 ans), avec un développement plus lent, caractérisé par une ataxie cérébelleuse, une OEP et des signes pyramidaux et extrapyramidaux légers ou absents, et des signes périphériques très évidents. Un quatrième type qui se caractérise par des signes cérébelleux et de parkinson a été décrit plus tard par Suite et ses collaborateurs (Suite *et al.*, 1986 *vide* Bettencourt, 2009). De manière générale, tous les cas se manifestent durant la phase la plus initiale, par une ataxie cérébelleuse et une OEP, qui se différencient a posteriori, en type 1 ou 3, après une période de 5 à 10 ans, avec l'apparition de signes pyramidaux et extrapyramidaux ou des signes périphériques évidents, respectivement ; et peuvent, d'un autre côté, après l'espace de temps mentionné précédemment, se stabiliser comme type clinique 2 (Coutinho, 1992).

Bien que la MMJ soit, à l'image d'autres ataxies spinocérébelleuses (SCAs), actuellement sans cure, il est possible de diminuer l'intensité de certains symptômes se manifestant au cours de la maladie, à travers l'administration de médicaments adéquats qui peuvent ainsi améliorer la qualité de vie de ces patients (Paulson, 2007).

La MMJ est considérée comme la SCA la plus commune à l'échelle mondiale, représentant environ de 15 à 45 % de la totalité des SCAs dans divers pays et ethnies (Paulson, 2007). Dans l'archipel des Açores, plus précisément dans l'île de Flores (île des fleurs), la maladie atteint les plus hauts niveaux de prévalence à l'échelle mondiale (1:239) (Bettencourt *et al.*, 2008a). Étant donné la haute représentation

de cette maladie, dans les îles des Açores, la MMJ a été l'objet d'étude pour divers chercheurs de ce domaine. Ainsi, en 1996 un long relevé épidémiologique et généalogique des trente-quatre familles açoriennes souffrant de MMJ a été effectué (Lima, 1996). La recherche de l'origine de la mutation aux Açores ayant pour base la reconstitution des familles touchées, a également été cible d'analyse (Lima, 1996, Lima *et al.*, 1997). Des études des mécanismes en rapport avec la dynamique mutationnelle du locus de la MMJ ont également été entreprises (Lima *et al.*, 2005; Bettencourt *et al.*, 2008a; b). De la même manière, des travaux focalisant les aspects moléculaires en rapport avec le gène causal de la MMJ ont été entrepris, notamment en ce qui concerne l'étude de la variation existante au niveau des transcrits de ce gène (Bettencourt *et al.*, 2010a; b). Il sera également pertinent de faire référence aux travaux sur le programme açorien du Conseil Génétique et du Test Prédictif pour la MMJ (Lima *et al.*, 2001; Gonzalez *et al.*, 2004).

1.1.2 Caractérisation génétique et moléculaire de la MMJ

Les maladies génétiques de transmission dominante sont normalement rares. La MMJ dont la transmission est autosomique dominante, déjà mentionnée auparavant, s'inscrit dans ce groupe de maladies rares, les patients étant en grande partie hétérozygotes (Zlotogora, 2006).

Chez les individus homozygotes, décrits en nombre réduit, le phénotype se présente avec plus de sévérité et un début plus précoce, ce qui est dû au fait de posséder l'allèle muté dans les deux chromosomes (Carvalho *et al.*, 2008). Cela montre que le dosage génique est

important pour la détermination de l'âge de début de cette maladie, tout comme pour la sévérité (Lima, 2010).

Le gène de la MMJ présente une pénétrance pratiquement complète, avec une valeur estimée à 98% (Sequeiros, 1996 *vide* Bettencourt *et al* , 2008a). Les "sauts de générations" sont rares dans les familles touchées par cette maladie et les cas de porteurs obligatoires asymptomatique semblent s'expliquer soit par la mort précoce des individus par rapport à l'âge moyen de début de la maladie, soit par l'immigration, ce qui empêche la confirmation du statut de la maladie chez ces individus (Coutinho, 1992). Cependant, le modèle de pénétrance dépend de l'âge, ce qui signifie que le risque résiduel dépend de l'âge de l'individu, c'est à dire, qu'avec l'âge et si l'individu à risque reste asymptomatique, la probabilité de développer la maladie sera de plus en plus faible. (Bettencourt *et al.*, 2008a).

La MMJ est causée par une expansion du trinuéotide CAG dans la région codante du gène causal (Kawaguchi *et al.*, 1994) qui conduit au niveau de la protéine à une expansion de voies de polyglutamine. La MMJ s'inscrit ainsi dans le groupe des maladies dénommées de "maladie de polyglutamine" (maladies "poly-Q").

Le gène responsable de la MMJ (*ATXN3*) se situe au niveau du bras long du chromosome 14 (14q32.1) (Takiyama *et al.*, 1993) et possède une extension d'environ 48,2kb (Ichikawa *et al.*, 2001). La mutation de la MMJ consiste, comme mentionné précédemment, en l'expansion d'un triplet CAG qui se situe dans l'exon 10 du gène en question, à 5' (Kawaguchi *et al.*, 1994).

Au début, 11 exons ont été décrits pour le gène *ATXN3* (Ichikawa *et al.*, 2001); 2 exons supplémentaires ont ensuite été décrits (l'exon 6a et le 9a) (Bettencourt *et al.*, 2010a) (Figure 1). Quelques portions de l'exon 10 et 11, correspondant aux régions étudiées dans le présent travail, sont utilisées à travers l' "épissage" alternatif et la polyadénylation différentielle pour former la région 3'UTR ("untranslated region", c'est-à-dire, région non traduite) des ARN messagers (ARNm). Selon la description d'Ichikawa et de ses collaborateurs (2001), l'exon 10 possède une extension de 1099pb et contient une séquence consensus (AATAA), correspondant à un signe de polyadénylation (figure 1). L'exon 11 possède à son tour 6046 pb et contient sept séquences consensus correspondant à sept signes de polyadénylation. Selon la portion des exons 10 et 11 compris dans l' ARNm, la région 3'UTR pourra avoir une plus grande ou petite extension.

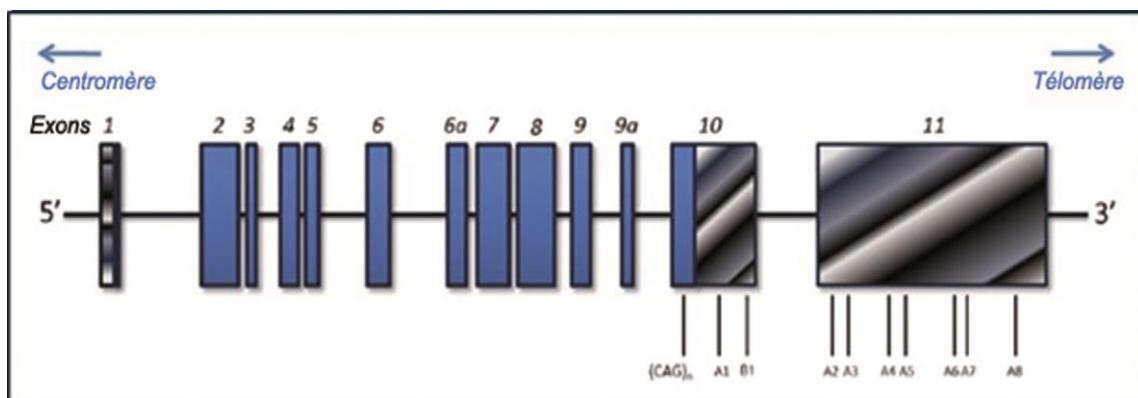


Figure 1. Représentation schématique du gène *ATXN3*. Les exons sont numérotés de 1 à 11 et sont représentés par des rectangles. Les rectangles en bleu indiquent les régions codantes, le rectangle avec des lignes horizontales représente la région 5'UTR et les rectangles avec des lignes diagonales correspondent à la région 3'UTR. La localisation de la voie polymorphique (CAG) n'est pas indiquée. Les séquences consensus pour les 8 signes de polyadénylation décrits auparavant sont indiquées de A1 à A8 (Ichikawa *et al.*, 2001). B1 est un possible signe supplémentaire de polyadénylation situé à la fin de l'exon 10 (adapté de Bettencourt, 2009).

Le gène *ATXN3* codifie une protéine dénommée ataxine-3. L'ataxine-3 appartient au groupe des protéases à cystéine et possède un poids moléculaire de 42 kDa dans sa forme native. Elle est structurellement composée de 339 acides aminés et d'un nombre variable de glutamines qui constituent la voie-poly-Q (Kawaguchi *et al*, 1994). L'ataxine-3 se compose d'un domaine Joséphin (JD), au niveau de la portion N-terminal, alors qu'à l'extrémité C-terminal elle contient deux ou trois motifs d'interaction avec l'ubiquitine (UIMs) et la voie poly-Q. Nous savons que la forme native de la protéine a une fonction d'enzyme de désubiquination, dans la voie ubiquitine-protéasome. Ainsi, et étant donné les différentes fonctions qui ont été proposées pour l'ataxine-3, on pense qu'une protéine normale participe aux voies de contrôle cellulaire de la qualité des protéines (Lima, 2010).

Le gène *ATXN3* s'exprime uniquement dans les tissus neuronaux et non neuronaux. Dans les neurones, la protéine native se trouve essentiellement dans le cytoplasme. Cependant, la protéine mutée est observée aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasme des cellules (Paulson, 1997). On pense qu'une pathologie pourra survenir comme conséquence d'un gain de fonction neurotoxique de la protéine mutée étant donné qu'elle contient une expansion de la voie poly-Q. En présence d'ataxine-3 mutée, on observe la formation d'inclusions neuronales intranucléaires (Paulson, 2007). Ce type d'inclusions intranucléaires se trouve fréquemment dans le cerveau de patients porteurs de cette maladie et d'autres maladies dites "poly-Q". Bien que ces inclusions existent chez les patients MMJ, le modèle observé n'est pas totalement en corrélation avec les régions du cerveau affectées, et son rôle dans la neurodégénération n'a donc pas encore été établi (Paulson, 2007).

Dans le locus de la MMJ, les allèles normaux présentent entre 12 et 44 répétitions du triplet CAG alors qu'il est consensuel que les allèles étendus présentent consensuellement un nombre de répétitions qui varie entre 61 et 87 (Maciel *et al.*, 2001). Le nombre de répétitions CAG est à l'inverse en rapport avec l'âge de début de la MMJ, c'est-à-dire que plus le nombre de triplets CAG est grand, plus tôt sera l'âge de début. Cependant, la taille de la voie répétitive explique seulement environ 50 à 75% de la variation de l'âge de début (Lima, 1996; Bettencourt *et al.*, 2010b). En plus du fait que la taille de l'allèle étendu soit en corrélation inverse avec l'âge de début, l'extension de la voie CAG est aussi en corrélation avec la fréquence des signes cliniques particuliers, tels que les signes pyramidaux, qui sont plus fréquents chez les individus avec des voies répétitives plus grandes (Takiyama *et al.*, 1995). Le fait que la corrélation entre la taille de la voie CAG et l'âge de début de la maladie ne soit pas sûre, implique qu'il devra exister d'autres facteurs qui contribuent à l'explication de la restante variation à l'âge de début de la maladie, notamment des gènes modificateurs, qui pourront interagir avec le gène de la MMJ. En plus de cela, des variations du propre gène *ATXN3* pourront aussi avoir lieu (en dehors de la propre voie CAG), tant au niveau de la région codante que dans les zones régulatrices (notamment au niveau du promoteur, de la région 5'UTR et 3'UTR). Ces zones ont alors un potentiel qui permet d'améliorer les corrélations génotype-phénotype. Des polymorphismes localisés, par exemple, dans la région 3'UTR affectant le processus et la stabilité de l'ARNm, pourront provoquer des effets au niveau de l'expression génétique, pouvant ainsi influencer le phénotype de la maladie (Cooper et Krawczak, 1993).

1.2 Importance des régions 3'UTR

Chez les êtres eucaryotes, les précurseurs de l'ARNm, des pré-ARNm ou des transcrits primaires sont transcrits dans le noyau, par l'enzyme ARN polymérase II, à partir de l'ADN génomique. Ces dernières ne représentent pas l'ARNm mature, c'est-à-dire, l'ARN fonctionnel. Pour ce faire, ceux qui ont été transcrits doivent subir un ensemble de changements biochimiques, des mécanismes qualifiés globalement de "processus de l'ARNm", et seulement à partir de ce moment, l'ARNm pourra alors être transporté vers le cytoplasme, où a lieu sa traduction en protéines. Les mécanismes qui ont lieu au niveau de la maturation de l'ARNm sont (figure 2): le "coiffage", l'"épissage" et la polyadénylation qui seront ensuite décrits plus en détails (Mandel *et al.*, 2008).

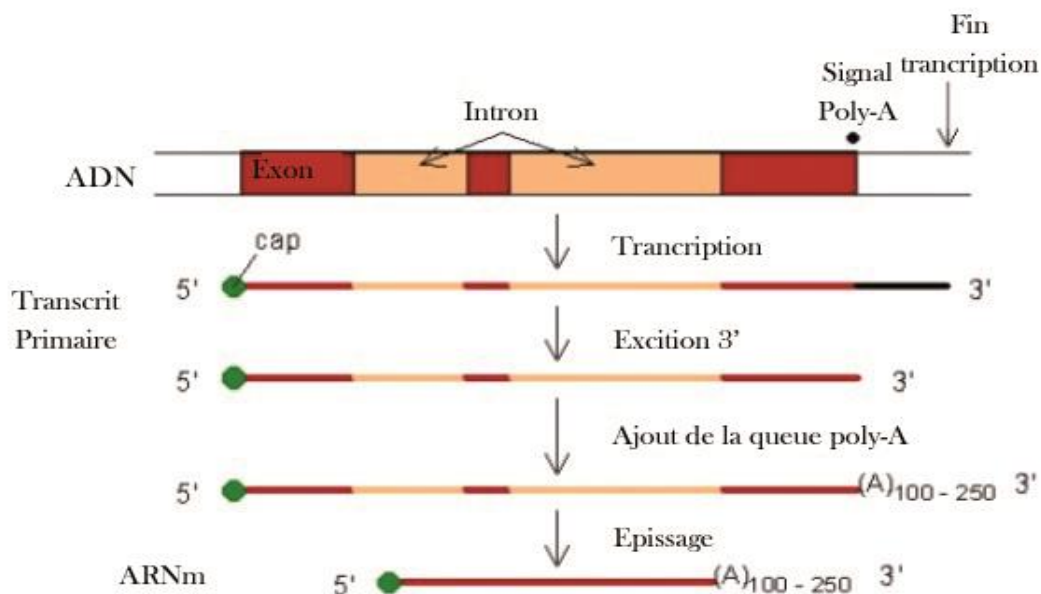


Figure 2. Mécanismes impliqués dans la maturation de l'ARNm (adapté de *Molecular Biology Web Book: Chapter 5*, disponible à l'adresse suivante: <http://web-books.com/MoBio/Free/Ch5A.htm>).

Le "coiffage" a lieu tout de suite après la transcription et consiste en l'addition d'un résidu de guanosine méthylé (7-méthylguanosine) au premier nucléotide du pré-ARNm, par une liaison phosphodiester (5'-5'), et forme une structure appelée "cap". Toutes ces réactions sont catalysées par des enzymes spécifiques. Le "cap" possède quelques fonctions particulières telles que: protéger l'extrémité 5' du transcrit de l'attaque d'exonucléases, faciliter le transport du noyau vers le cytoplasme, faciliter l'"épissage" du pré-ARNm, et joue aussi un rôle important dans la synthèse protéique (Strachan et Read, 2004).

Le processus de polyadénylation consiste en l'addition d'une queue de polyadénine (poly-A) à la région 3'UTR et inclut deux étapes intimement liées, la première englobe le clivage du pré ARNm, dans un endroit spécifique et la deuxième l'addition de multiples résidus d'adénine au pré-ARNm. La polyadénylation dans la région 3'UTR joue un rôle fondamental dans l'expression génique puisque les molécules d'ARNm procédées indûment ne sont pas transportées du noyau vers le cytoplasme afin d'être traduites. De plus, la queue poly-A influence la stabilité de l'ARNm tout comme sa traduction. Ainsi, la polyadénylation est une étape fondamentale dans la régularisation de l'expression génique (Lutz, 2008).

La séquence consensuelle du signe de polyadénylation est hautement conservée. L'hexanucléotide AAUAAA est utilisé pour la plupart des gènes (environ 80%) comme signe de polyadénylation, alors que l'hexanucléotide AUUAAA est moins fréquemment utilisé (Edwards-Gilbert *et al.*, 1997). Le signe de polyadénylation consiste en une séquence reconnue par les facteurs de l'ARNm et est essentiel à la fin de la transcription et au niveau de l'efficacité

de la polyadénylation de l'ARNm. (Chatterjee et Pal, 2009). Un schéma illustratif du mécanisme de polyadénylation peut être observé sur la figure 3.

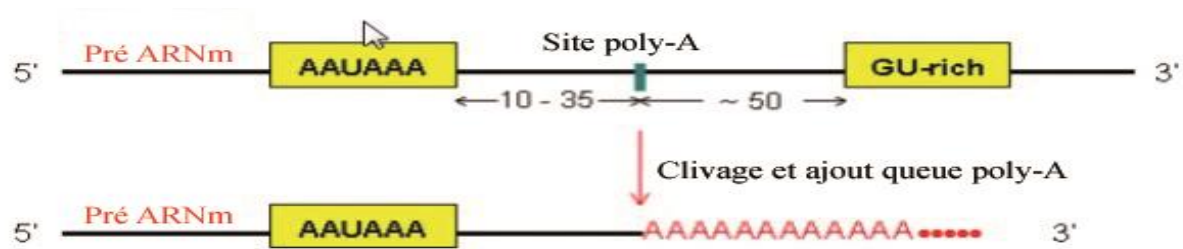


Figure 3. Polyadénylation de la région 3' du pré-ARNm. Le signe important pour le clivage est la séquence consensuelle **AAUAAA**. Le clivage a lieu à 10-35 nucléotides à 3' de cette séquence spécifique. Un deuxième signe, riche en GU, se situe près de 50 nucléotides à 3' du lieu de clivage (adapté de *Molecular Biology Web Book: chapter 5*, disponible à l'adresse suivante: <http://.web-books.com/MoBio/Free/Ch5A.htm>).

Au niveau des eucaryotes, les transcrits primaires (pré-ARNm) présentent deux types de séquences: les exons, portions codantes du transcrit primaire présentes dans l'ARNm mature, et les introns, séquences non codantes qui ne sont pas présentes dans l'ARNm mature (Strachan e Read, 2004). Les introns ont besoin d'être retirés pour donner naissance à un ARNm fonctionnel. Ainsi, après l'addition du "cap" et de la queue poly-A, il est nécessaire que le pré-ARNm subisse le processus d'excision des introns et de la jonction des exons adjacents. Ce mécanisme est connu sous le nom d'"épissage" du pré-ARNm. Afin que l'"épissage" ait lieu correctement, il existe des séquences consensus (séquence donneuse, séquence réceptrice et *point de branchement*) situées au niveau des frontières

exons/introns. Les séquences donneuses et réceptrices ont pour objectif de signaler le lieu où sera effectué l' "épissage". L' "épissage" du pré-ARNm et effectué à partir d'un vaste complexe ARN-protéines appelé "splicéosome". Ce complexe est constitué de 5 types de "petit ARN nucléaire" (snARN) et plus de 50 protéines. Les molécules snARN s'associent à des protéines pour former les petites ribonucléoprotéines nucléaires (snRNP) (Strachan et Read, 2004).c Un schéma illustratif du mécanisme de l'épissage peut être observé à la figure 4.

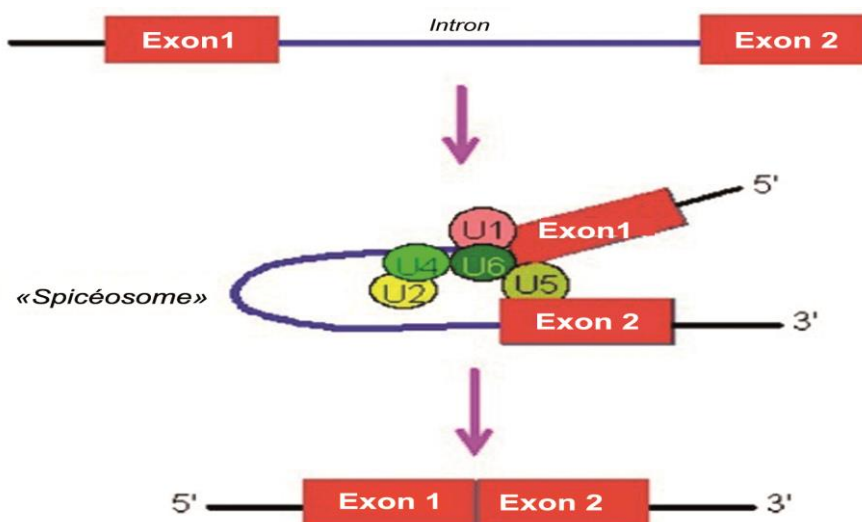


Figure 4. Schéma représentatif de l'action du "splicéosome" durant le processus d' "épissage" du pré-ARNm. U1,U2,U4,U5,U6 correspondent à des petits ribonucléoprotéides nucléaires (pRNPn) impliqués (adapté de *Molecular Biology Web Book*:) Chapter 5, disponible à l'adresse suivante: <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch5A4.htm>).

Jusqu'à récemment, une perception consensuelle était établie sur le fait que les seules sections d'ARNm, avec un impact fonctionnel étaient les régions codantes. Durant les dernières décennies, cette vision a eu tendance à changer, avec pour conséquences des études qui ont montré que les régions 5' et 3' UTR de l'ARNm contiennent des motifs capables de réguler de nombreux aspects de la fonction de l'ARNm (Hughes, 2006).

L'expression génique est un processus dynamique et soumis à plusieurs mécanismes de régulation. Au niveau du système nerveux, des troubles de la régulation génique peuvent non seulement provoquer diverses formes de cancer mais peuvent aussi entraîner un développement de plusieurs maladies neurologiques telles que le syndrome de Rett et le syndrome de l'X-fragile (Bolognani et Perrone-Bizzozero, 2008). Le premier pas dans l'expression génique est la transcription, un processus régulé par une grande variété de facteurs de transcription et de protéines qui touche la méthylation de l'ADN et la structure de la chromatine. En plus de la transcription, d'importants mécanismes de régulation génique sont présents au niveau du processus du pré-ARNm, au niveau de la traduction et au niveau de la post-traduction (Regateiro, 2003). Les régions UTR de l'ARNm sont riches en éléments régulateurs importants, pour l'exportation nucléaire de l'ARNm, pour sa localisation cytoplasmique et la propre stabilité de l'ARNm, ainsi que pour l'efficacité de sa traduction (Strachan et Read, 2004). Ainsi, que ce soit la région 3' UTR ou la région 5' UTR de l'ARNm, toutes deux jouent un rôle important dans la régulation post-transitionnelle de l'expression génique (Day et Tuite, 1998). La région 5' UTR contient des séquences responsables du début de la traduction, c'est pourquoi elle doit être plus conservée que la région 3' UTR. Cependant, la région 3' UTR est décisive pour le destin d'un ARNm spécifique,

dans la plupart des cas (Grzybowska *et al.*, 2001). La région 3' UTR est également caractérisée par sa capacité de formation de structures secondaires qui jouent un rôle important dans l'interaction des ARNm avec les protéines qui se lient à l'ARN ("RNA binding proteins" (*protéines de liaisons*)). Une perturbation de sa structure, due à un changement dans la séquence, modifiera l'interaction de l' ARNm avec ces protéines. Il existe plusieurs maladies causées par des mutations dans les séquences des régions 3' UTR ou dans les "ARN protéines de liaisons", parmi lesquelles se distinguent quelques carcinomes, arthrites chroniques" et quelques maladies inflammatoires (Grzybowska *et al.*, 2001). Une étude réalisée par Chen et ses collaborateurs (2006b), chez 83 variantes au niveau de la région 3' UTR de plusieurs ARNm humains de gènes liés à des maladies, a révélé qu'il existait une corrélation entre la fonctionnalité de ces variantes et les changements au niveau de la structure secondaire prévue.

La recherche sur la physiopathologie des maladies et les mutations qui touchent les fonctions de la région 3' UTR est encore insuffisante. Cependant, les données disponibles suggèrent que cette région d'ARNm, qui est très souvent négligée durant la sélection de variation génétique des gènes candidats, joue un rôle important dans le cas de plusieurs maladies notamment pour la progression de la propre maladie. Selon la connaissance actuelle, les maladies provoquées par des mutations des signes de polyadénylation sont rares (Chatterjee et Pal, 2009).

Les maladies provoquées par des expansions de triplets (groupe d'environ 19 maladies génétiques humaines y compris la MMJ), en accord avec la localisation du motif répétitif, sont classées en quatre catégories: 5' UTR, exons, introns et 3' UTR. Dans cette dernière catégorie, on distingue la dystrophie myotonique de type 1, qui est une maladie sévère, provoquée par une expansion du motif CTG de la région 3' UTR du gène *DMPK*, dont le nombre de répétitions

CTG varie entre 5 et 37 dans les allèles normaux, pouvant atteindre 3000 répétitions dans les allèles étendus (Bettencourt *et al.*, 2007).

La recherche sur les régions 3' UTR peut être considérée comme étant débutante, par rapport aux données disponibles sur la régulation de la transcription. Cependant, il est de plus en plus clair que les mécanismes de régulations grâce à l'aide des régions 3' UTR pourront avoir un grand impact dans la pathogénèse. Certaines maladies multisystémiques sont provoquées par des changements au niveau des régions 3'UTR, ce qui montre qu'une profonde connaissance approfondie de ces séquences régulatrices tout comme des protéines spécifiques qui se lient à celles-ci (ARN protéines de liaisons) pourra être très utile dans la compréhension des mécanismes respectifs de la pathogénèse et pour le développement d'une thérapie efficace (Grzybowska *et al.*, 2001).

2 PERTINENCES ET OBJECTIFS DU TRAVAIL

Grâce à la réalisation de ce travail, on prétendait analyser et décrire pour la première fois dans des échantillons de patients MMJ, la variation génique de la région 3' UTR du gène *ATXN3*, correspondant au gène causal de la MMJ. Nous avons pour cela analysé, à partir d'échantillons d'ADN génomique (de 30 patients atteints de MMJ et 10 témoins), la séquence de portion d'exon 10 et 11 du gène mentionné, codifiant la région 3' UTR. L'objectif principal consistait à identifier, dans ces deux groupes d'individus, des polymorphismes qui pourraient, notamment, interférer avec les signes de polyadénylation, éliminant ceux qui ont été précédemment décrits ou en créant de nouveaux signes. En plus de cela, on prétendait effectuer des comparaisons entre le groupe de patients MMJ et le groupe d'individus témoins, au niveau des polymorphismes trouvés, visant à déterminer s'il existe une variabilité qui soit spécifique aux patients.

La pertinence de l'étude réalisée est en rapport avec le fait que, au moment de la réalisation, on possédait peu d'informations sur la variabilité génétique présente dans la région que nous avons analysée, principalement chez les patients. À l'image d'autres maladies mentionnées dans l'introduction du présent travail, dans la MMJ les changements dans la région 3' UTR pourront aussi avoir des conséquences dans l'expression du gène *ATXN3*. Dans le cas de la MMJ, bien que la mutation causative soit bien établie, les changements dans ces régions régulatrices pourront en dernier recours contribuer à l'hétérogénéité clinique observée dans le cas de cette maladie.

Ainsi, avec la présente étude, nous prétendions obtenir des informations qui pourraient contribuer à une meilleure compréhension des bases moléculaires de la MMJ qui pourrait servir de base pour de futurs travaux,

notamment sur la variation génétique dans les régions régulatrices du gène *ATXN3* et au niveau de sa relation avec la variabilité phénotypique de la MMJ.

3 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1 POPULATION D'ÉTUDE

Pour la progression de ce travail, 40 échantillons d'ADN ont été utilisés. Trente du nombre total d'échantillons appartenaient à des patients MMJ (cas), sans lien de parenté et confirmés au niveau moléculaire, et présentaient la mutation dans l'exon 10 du gène *ATXN3* (nombre de répétitions CAG supérieur à 61). Les 10 échantillons restants appartenaient à des individus témoins, apparemment en bonne santé, sans histoire familiale de MMJ et préalablement exclus par la mutation (nombre de répétitions CAG inférieur à 44). Les échantillons d'ADN avaient été préalablement obtenus par extraction, à partir de la totalité du sang, par des méthodes standard. Tous les échantillons ont été recueillis après réception du consentement. Les échantillons des patients ont été recueillis lors de consultations de neurologie effectuées par le Dr. João Vasconcelos (Directeur du service de neurologie de l'Hôpital Divino Espirito Santo, à Ponta Delgada).

3.2 Analyse des régions des exons 10 et 11 du gène *ATXN3*

3.2.1 Amplification

Les régions des exons 10 (fragment composé d'une extension de 1300 à 1500pb) et 11 (fragment avec une extension d'environ 2700pb) du gène *ATXN3*, décrites comme étant transcrites mais localisées en aval du codon "stop" (codifiant une partie de la région 3'UTR), ont été amplifiées, à partir de la PCR, grâce à l'utilisation d'amorces spécifiques. Pour l'amplification de l'exon 10, nous avons utilisé les amorces MMD-10F (5'-AGATTCCTAAGATCAGCACTTCC-3') et MMJ-10R (5'-

CTTCATTAAGCCATACCTACAGG-3'); pour l'exon 11, nous avons utilisé les amorces MMJ-11F (5'-AGGAAATGGGGATCGACCACAAAG-3') et MMJ-11R (5'-CACACACATTCACGCATCCAG-3').

La réaction d'amplification a été effectuée dans un volume total de 25p1 avec 0.3µM de chaque amorce, 300µM de dNTPs, 2mM de MgCl₂, 10x tampon de réaction de la PCR [160mM (NH₄)₂SO₄, 670mM Tris-HCl (pH 8,8 a 25°C), 0,1% Tween-20], 1U de Biotaq ADN polymérase (Bioline) et environ 100ng d'ADN génomique. Pour l'exon 10, les conditions mises en place ont été les suivantes: une première dénaturation durant 5' à 95°C; suivie de 37 cycles de 30" à 94°C, 30" à 58°C et 1'20" à 72°C; et une extension finale de 7' à 72°C. Pour l'exon 11, les conditions ont été les suivantes: une première dénaturation durant 5' à 95°C; suivi de 37 cycles de 30" à 94°C, 30" à 59°C et 3' à 72°C; et une extension finale de 10' à 72°C.

Les produits de la PCR ont été purifiés grâce à l'utilisation de *Jetquick PCR Purification Spin Kit* (Genomed), en accord avec les instructions spécifiques du fabricant.

3.2.2 Séquençage

Les produits de la PCR précédemment obtenus ont été séquencés selon la méthode de Sanger, grâce à l'utilisation de *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems), en accord avec les instructions du fabricant. Les échantillons ont été séquencés dans les deux sens ("classique" et "inverse"), grâce à l'utilisation des "amorces" décrites au tableau 1, couvrant grâce à cet ensemble de séquences, une extension totale de ~1100pb correspondant à l'exon 10 et de ~2000pb correspondant à l'exon 11.

Les produits des 10 réactions de séquençage effectuées pour chaque échantillon ont été postérieurement purifiés avec de l'EDTA/Éthanol, en accord avec la méthode suivante: on a ajouté 5µl d' EDTA (125mM) au produit de séquençage, ensuite on a ajouté 60µl d'éthanol à 100%, que l'on a bien agité dans le "vortex", on a ensuite laissé incuber à une température ambiante et à l'abri de la lumière durant 15'; tout de suite après on l'a centrifugé durant 20' à 13000rpm, et on a retiré le surnageant et, après le séchage, on a ajouté 60 µl d'éthanol à 70%, centrifugé à nouveau 20' à 13000 rpm et on retiré le surnageant et fait sécher le culot. Les échantillons ont été suspendus à nouveau dans 20 µl de formamide et les enregistrements ont été faits à partir d'un séquenceur ABI PRISM® 310 (Applied Biosystems).

Tableau 1: Séquences des "amorces" utilisées lors des réactions de séquençage

Amorces	Séquences
MJD 10aF	5'-GACCTATCAGGACAGAGTTCAC-3'
MMJ 10bF	5'-TCCTGGGUCATGGUCTCC-3'
MMJ 10R	5'-MCAUAAAGCCATACCTAGG-3'
MMJ 10bR	5'-GTMCTGCTCCUAATCGGG-3'
MMJ 11F	5'-AGGAAATGGGGATCGACCACAAAG-3'
MMJ 11aF	5'-GGATCGCAGACTAGC-3'
MMJ 11bF	5'-CTAGGAGAAGCATAGTATGCAGG-3'
MMJ 11aR	5'-CC=GTGTAAGGGAMCUG-3'
MMJ 11bR	5'-CACCTACAUCTGACTCMCTG-3'
MMJ 11cR	5'-CATGATGTGAGCCAACTTACC-3'

3.2.3. Analyse bio-informatique

Les séquences obtenues ont été visualisées et alignées avec une séquence de référence (GenBank code d'accès AB038653.1), grâce à l'utilisation du logiciel BioEdit v 7.0.5.3. (Hall,1999). Afin de confirmer que les régions analysées correspondaient à la portion d'ADN génomique qui codifie la région 3' UTR du gène *ATXN3*, on a utilisé trois séquences de cADN disponibles dans la base de données du "National Center for Biotechnology Information (NCBI)" (www.ncbi.nlm.nih.gov/), avec les codes d'accès suivants: NM 004993.4, S75313.1, U64821.1.

3.2 Analyse statistique

Les fréquences génotypiques et alléliques ont été déterminées pour les 10 "Polymorphismes de nucléotide unique" (SNP) observés. La conformité avec l'équilibre d'Hardy-Weindberg (HW) dans les groupes des cas et des témoins, a été évaluée avec un test exact en accord avec Guo et Thompson (1992). La valeur de la diversité génétique, telle qu'elle a été décrite par Nei (1987), a été calculée par ces mêmes SNP.

Des tests exacts de différenciation ont été effectués grâce à l'utilisation des fréquences génotypiques, pour comparer le groupe des cas et celui des témoins, en considérant chaque SNP séparément.

L'indépendance allélique entre SNP a été testée à partir de comparaisons entre paires de SNP, dans des cas et témoins, en prenant en compte seulement les échantillons génotypés pour tous les SNP (n=16 pour les groupes des cas et n=10 pour

le groupe des témoins). Le test effectué ("Likelihood ratio test of linkage disequilibrium" - LD) est adapté à des données génotypiques dans lesquelles la phase gamétique est méconnue. Outre les valeurs de p obtenues pour les paires de *SNPs*, on a appliqué la correction de Bonferroni pour de multiples tests.

Tous les tests mentionnés ci-dessus ont été effectués grâce au programme Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, 1998-2010) tout en considérant un niveau de signification équivalent à 0.05.

4 Résultats et discussion

Le séquençage d'une région d'environ 1100pb de l'exon 10 et d'une région d'environ 2000pb de l'exon 11 du gène *ATXN3* a permis d'obtenir un total de 360 séquences, passibles d'être analysées. La portion étudiée de ces deux exons comprend un total de quatre séquences consensus pour des signes de polyadénylation, couvrant les signes de polyadénylation A1, A2 et A3, décrits par Ichikawa et collaborateurs (2001). En plus de ces trois-ci, il englobe aussi un autre signe possible de polyadénylation (puisque l'hexanucléotide AATAAA est présent) situé à la fin de l'exon 10 (représenté par B1 sur la figure 1). Pour toute la région séquencée, il a été possible d'analyser la présence de polymorphismes, à l'exception d'une région de l'exon 10 d'environ 300pb pour laquelle, pour des motifs d'ordre technique (existence de motifs respectifs dans cette zone), nous n'avons pas obtenu de séquences de bonne qualité.

Les séquences obtenues ont été comparées avec trois séquences de cADN, correspondant à des transcrits différents, afin de confirmer que les régions analysées correspondaient réellement à la portion d'ADN génomique qui codifie la région 3'UTR de ce gène. Dans l'une des transcriptions utilisées pour comparaison (séquence avec le code d'accès NM_004993.4), et à cause de l'occurrence de l'"épissage" alternatif, on exclut la partie de l'exon 10 qui est en aval de la voie CAG et on utilise le codon "stop" au début de l'exon 11. C'est pourquoi, la région 3' UTR se trouve à environ 1500pb de l'exon 11 qui se suivent, terminant près de 800pb après la séquence consensus pour le second signe de polyadénylation de cet exon (a3, selon Ichikawa et al, 2001.). Dans les deux autres transcrits (séquences avec les codes d'accès

S75313.1 et U64821.1), on a utilisé un codon stop qui est immédiatement à 3' de la séquence répétitive CAG dans l'exon 10, c'est pourquoi les régions 3' UTR correspondraient à environ 400 pb ou 200 pb, respectivement, qui se suivent et qui appartiennent à l'exon 10. Les séquences obtenues dans le présent travail englobent une région plus vaste et englobent les régions 3'UTR des transcrits précédemment mentionnés dans sa totalité. Après cette comparaison, il a donc été possible de confirmer que les régions étudiées correspondent à des portions d'ADN génomique qui codifient la régions 3' UTR du gène *ATXN3*.

L'analyse détaillée des 360 séquences obtenues a permis d'identifier dans les régions étudiées, 10 positions polymorphiques correspondant à 10 SNPs (voir figure 1A, dans la partie annexe), qui avaient déjà été antérieurement décrits et qui se trouvent dans la base de données de SNP du NCBI (<http://.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). La localisation relative des SNP trouvés, identifiés par les respectifs rs, est mise en évidence à la figure 5. Des 6 SNPs identifiés de l'exon 10, 3 correspondent à des transitions (rs7158238, rs7153696 et rs7153374) et 3 à des transversions (rs7158733, rs3092822 et rs7153193). Des 4 SNP de l'exon 11, 2 correspondent à des transitions (rs709930 e rs55966267) et 2 à des transversions (rs10151135 et rs910369).

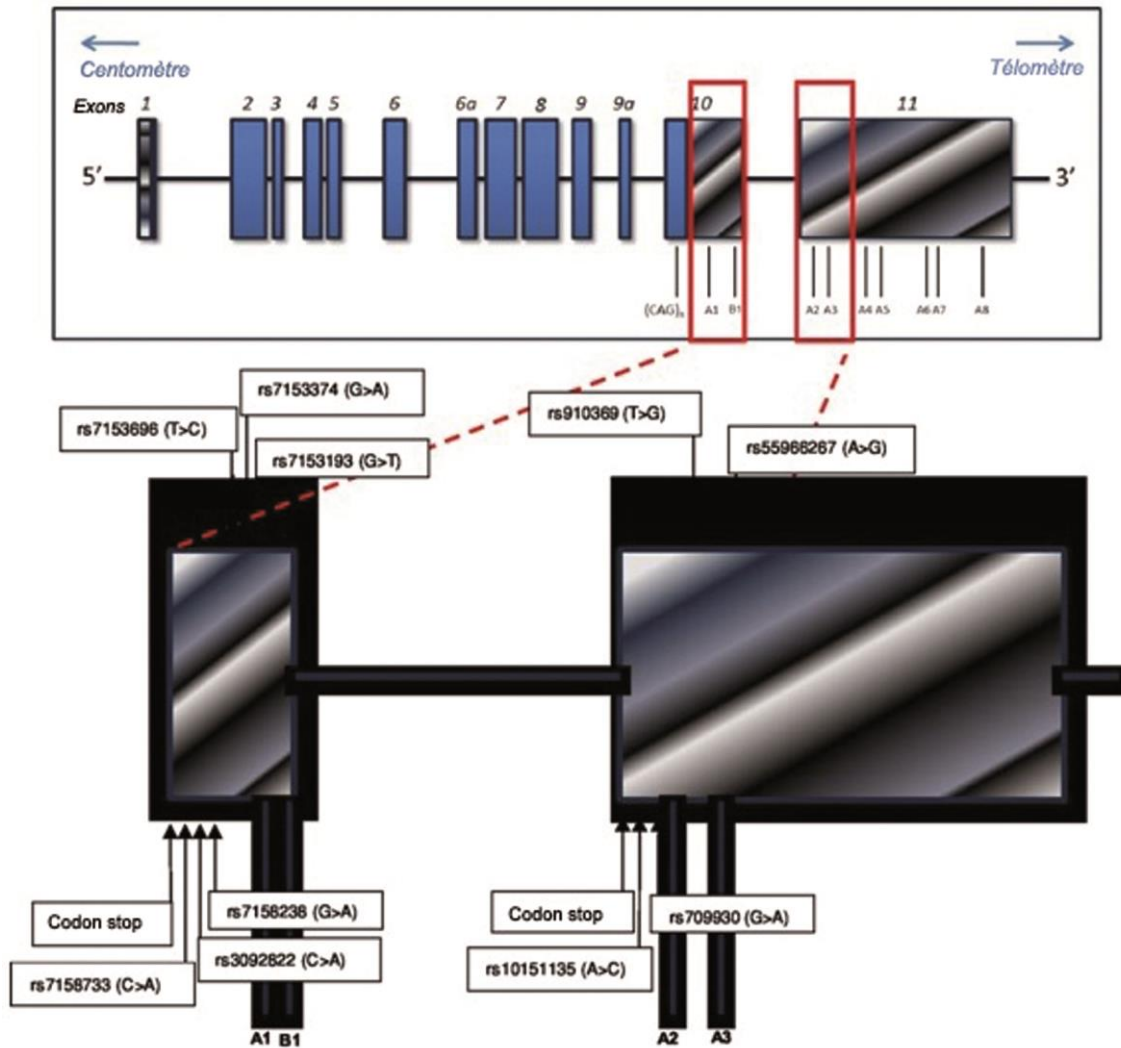


Figure 5. Représentation schématique du gène *ATXN3*, avec une attention particulière pour les régions analysées dans le présent travail des exons 10 et 11. La localisation relative des SNP trouvés dans les deux exons, identifiés par les respectifs rs, tout comme l'indication des respectifs allèles (ancestraux et dérivés), est aussi mise en évidence sur la figure. Les codons stop possibles, dans les deux exons, sont indiqués. Trois des signes de polyadénylation identifiés par Ichikawa *et al.* (2001) sont représentés par une désignation allant de A1 à A3. Au niveau de la désignation B1, il y a un possible signe de polyadénylation supplémentaire, situé à la fin de l'exon 10 (adapté de Bettencourt, 2009).

Les valeurs des fréquences alléliques et génotypiques pour les 10 SNP observés, pour les deux groupes d'individus étudiés (cas et témoins), se trouvent décrites dans le tableau 2. Dans le tableau 1A de la partie des annexes, se trouvent les génotypes de chaque SNP pour tous les échantillons.

Tableau 2. Fréquences génotypiques et alléliques pour les 10 SNP trouvés dans les régions étudiées du gène *ATXN3*, des groupes des cas et des témoins.

SNPs	Fréquences	Cas (n)	Témoins (n)	SNPs	Fréquences	Cas (n)	Témoins (n)
rs7158733	génétypées			rs7153193	génétypées		
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		GG	0,37 (9)	0,60 (6)
	CA	0,41 (9)	0,20 (2)		GT	0,46 (11)	0,20 (2)
	CC	0,41 (9)	0,60 (6)		TT	0,17 (4)	0,20 (2)
	alléliques				Alléliques		
	A	0,39	0,30		G	0,6	0,70
	C	0,61	0,70	T	0,4		
rs3092822	Génétypées			rs10151135	Génétypées		
	AA	0,35 (8)	0,60 (6)		CC	0,50 (15)	0,90 (9)
	AC	0,43 (10)	0,20 (2)		CA	0,43 (13)	0,10 (1)
	CC	0,22 (5)	0,20 (2)		AA	0,07 (2)	0,00
	Alléliques				Alléliques		
	A	0,56	0,70		C	0,72	0,95
	C	0,44	0,30	A	0,28	0,05	
rs7158238	Génétypées			rs709930	Génétypées		
	GG	0,37 (8)	0,60 (6)		GG	0,34 (10)	0,60 (6)
	GA	0,45 (10)	0,20 (2)		GA	0,55 (16)	0,20 (2)
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		AA	0,13 (4)	0,20 (2)
	Alléliques				Alléliques		
	A	0,41	0,30		G	0,77	0,70
	G	0,59	0,70	A	0,33	0,30	
rs7153696	Génétypées			rs910369	Génétypées		
	CC	0,41 (7)	0,60 (6)		GG	0,35 (10)	0,60 (6)
	CT	0,35 (6)	0,20 (2)		GT	0,55 (16)	0,20 (2)
	TT	0,24 (4)	0,20 (2)		TT	0,10 (3)	0,20 (2)
	Alléliques				Alléliques		
	C	0,59	0,70		G	0,62	0,70
	T	0,41	0,30	T	0,38	0,30	
rs7153374	Génétypées			rs55966267	Génétypées		
	GG	0,41 (9)	0,60 (6)		AA	0,93 (28)	1,00 (10)
	GA	0,41 (9)	0,20 (2)		AG	0,07 (2)	0,00
	AA	0,18 (4)	0,20 (2)		Alléliques		
	Alléliques				A	0,96	1,00
	A	0,61	0,70		G	0,04	0,00
	G	0,39	0,30				

Dans les deux groupes, les 3 génotypes possibles pour chaque SNP ont été observés, à l'exception du rs55966267, dont l'allèle A est fixé chez les témoins, on observe seulement un génotype pour ce groupe. Chez les patients, il a juste été possible de trouver 2 génotypes pour le SNP mentionné, sans avoir observé le génotype GG.

Après l'analyse du tableau mentionné ci-dessus, on constate que l'allèle le plus fréquent pour chaque SNP, dans le groupe des cas, est aussi le plus fréquent pour le groupe des témoins. En ce qui concerne les génotypes, on remarque que les individus du groupe des cas ont tendance à être, pour la plupart, hétérozygotes, dans au moins 5 des SNP, alors que les individus du groupe des témoins sont en majorité homozygotes pour tous les SNP identifiés. En tenant compte des allèles ancestraux décrits dans la base de données du NCBI (<http://.ncbi.nlm.nih.gov/snp>), pour chaque SNP, la plupart des individus de ce groupe serait en homozygotie pour l'allèle ancestral pour 6 des SNP (rs7158733, rs7158238, rs7153374, rs7153193, rs709930 et rs55966267) et pour l'allèle dérivé des 4 SNPs restant (rs3092822, rs7153696, rs10151135 et rs910369).

Les tests effectués servant à vérifier la conformité avec l'équilibre de HW dans le groupe des cas, tout comme dans le groupe des témoins, ont produit des valeurs de p non significatives. On constate ainsi que les fréquences génotypiques pour tous les SNP sont en accord avec la situation d'équilibre.

Les valeurs de diversité génétique obtenues par les 10 SNP sont décrites dans le tableau 3. Ces valeurs étaient comprises entre zéro et 0.50242, la valeur zéro correspondant au rs55966267, dans le groupe des témoins, qui, comme mentionné précédemment, ne présente que l'allèle ancestral, dans ce même groupe d'individus. La valeur la plus élevée de diversité a été détectée pour le SNP rs3092822, qui, dans le groupe des patients, a produit des valeurs d'hétérozygotie de l'ordre de 50.24%. Après avoir comparé les deux groupes, pour chaque SNP, on a constaté que la diversité génétique est, en général, légèrement plus élevée pour le groupe des cas, ce qui est en accord avec ce qui a été constaté

précédemment, lorsque l'on a vérifié que les individus de ce groupe étaient plus souvent hétérozygotes. Par ailleurs, le fait que le groupe destémoins présente des valeurs de diversité plus basses peut être en rapport avec le nombre réduit d'individus inclus dans ce groupe.

Tableau 3. Valeurs de diversité génétique (DG) pour les groupes des cas et des témoins. Le nombre d'individus utilisé pour le calcul de la DG, pour chacun des 10 SNP est identique à celui présenté dans le tableau numéro 2.

SNP	DG	
	Cas	Témoins
rs7158733	0,48520	0,44211
rs3092822	0,50242	0,44211
rs7158238	0,49471	0,44211
rs7153696	0,49911	0,44211
rs7153374	0,48520	0,44211
rs7153193	0,48848	0,44211
rs10151135	0,41299	0,10000
rs709930	0,48814	0,44211
rs910369	0,47913	0,44211
rs55966267	0,06554	0,00000

Entre le groupe des cas et le groupe des témoins, les résultats des tests exacts de différenciation ayant pour base les fréquences génotypiques de chacun des SNP séparément, ont permis de confirmer l'absence de différences statistiquement significatives entre ces deux groupes.

L'analyse de l'indépendance allélique entre SNP a été entreprise séparément pour les cas et les témoins. Les résultats en terme de

signification statistique, et après correction de Bonferroni, sont mis en évidence dans les tableaux 4 (cas) et 5 (témoins).

Tableau 4. Signification des résultats du test de LD pour toutes les paires de SNP, dans le groupe des cas (n=16).

SNP	Exon 10						Exon 11			
	rs7158733	rs3092822	rs7158238	rs7153696	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55966267
rs7158733		+	+	+	+	+	+	+	+	-
rs3092822	+		+	+	+	+	-	+	+	-
rs7158238	+	+		+	+	+	+	+	+	-
rs7153696	+	+	+		+	+	+	+	+	-
rs7153374	+	+	+	+		+	+	+	+	-
rs7153193	+	+	+	+	+		+	+	+	-
rs10151135	+	-	+	+	+	+		-	+	-
rs709930	+	+	+	+	+	+	-		+	-
rs910369	+	+	+	+	+	+	+	+		-
rs55966267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(+ significatif après Bonferroni)

Tableau 5. Signification des résultats du test au LD pour toutes les paires de SNPs, dans le groupe des témoins (n=10).

SNP	Exon 10						Exon 11			
	rs7158733	rs3092822	rs7158238	rs7153696	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55966267
rs7158733		+	+	+	+	+	-	+	+	-
rs3092822	+		+	+	+	+	-	+	+	-
rs7158238	+	+		+	+	+	-	+	+	-
rs7153696	+	+	+		+	+	-	+	+	-
rs7153374	+	+	+	+		+	-	+	+	-
rs7153193	+	+	+	+	+		-	+	+	-
rs10151135	-	-	-	-	-	-		-	-	-
rs709930	+	+	+	+	+	+	-		+	-
rs910369	+	+	+	+	+	+	-	+		-
rs55966267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

(+ significatif, après Bonferroni)

Tous les SNP localisés dans l'exon 10, que ce soit dans le groupe des cas ou dans le groupe des témoins, sont en LD, ce qui était prévisible si l'on considère que ces SNP ont une grande proximité physique au niveau du gène *ATXN3*. En ce qui concerne les SNP localisés dans l'exon 11, on constate que dans les deux groupes le rs55966267 ne se trouve pas en LD, ce qui pourrait être associé au fait que dans le groupe des cas, l'allèle A présente une fréquence de 96%, sachant que dans les témoins cette fréquence est de 100%. Cet SNP présente une particularité par rapport aux restants trouvés puisqu'il est physiquement plus éloigné des SNP restants de l'exon 11. Par ailleurs, il se situe après la deuxième séquence consensus pour le signe de polyadénylation de l'exon mentionné. Dans le groupe des témoins, en plus du SNP précédemment mentionné, le rs10151135 ne se trouve pas non plus en LD, la fréquence pour l'allèle C de cet SNP est de 95%, ce qui serait associé au résultat obtenu pour le LD de ce groupe. Dans le groupe des cas, le rs10151135 a produit des valeurs de p consistantes avec le LD la plupart des comparaisons entre paires de SNP.

Comme mentionné au début de cette partie, les régions étudiées dans ce travail regroupent quatre séquences consensus pour des signes de polyadénylation. La comparaison des séquences obtenues avec la séquence de référence a permis de constater que les polymorphismes observés n'entraient pas en compte dans l'élimination ni dans les signes de polyadénylation A1, A2 et A3, décrits précédemment par Ichikawa *et al.* (2001), ni du B1. Cependant, elles ne donnent pas naissance à des séquences consensus pour de nouveaux signes de polyadénylation. En s'appuyant sur les résultats obtenus, il n'est pas souhaitable que des modifications surviennent au niveau de la polyadénylation en raison des SNP présents dans la portion 3' UTR du gène *ATXN3* qui a été

analysée. On ne prévoit donc pas, qu'à ce niveau, il existe une influence sur la régulation de l'expression de ce gène.

5. CONCLUSIONS GÉNÉRALES

L'importance de la région 3' UTR est essentiellement attribuée au rôle que celle-ci joue dans la régulation de l'expression génique. Des changements dans la séquence de ces régions, comme mentionné précédemment dans ce travail, pourront avoir des conséquences drastiques, en particulier au niveau de l'occurrence de maladies génétiques. Dans le cas de nombreux gènes, comme c'est le cas du gène *ATXN3* qui correspond au gène causal de la MMJ, l'information existante sur la variabilité génétique dans la région 3'UTR, en particulier chez les patients, est très réduite ou inexistante. Malgré le fait que dans la MMJ la mutation causale soit bien établie, des changements dans ces régions régulatrices pourront, en dernier recours, contribuer à l'hétérogénéité clinique observée dans cette maladie. Ce travail prétendait analyser et décrire pour la première fois la variation génétique dans la région 3' UTR du gène *ATXN3*, grâce à l'utilisation des échantillons de patients MMJ. Un total de 10 SNP qui avaient déjà été décrits, a été détecté. Tous les SNP précédemment mentionnés ont été identifiés tant dans le groupe des cas que dans le groupe des témoins. Aucune variante exclusive des patients n'a été identifiée.

On prétendait également effectuer des comparaisons entre le groupe des patients MMJ et le groupe d'individus témoins. Après l'analyse des résultats obtenus, on a constaté que les allèles les plus fréquents pour chacun des 10 SNP détectés coïncidaient entre les deux groupes étudiés. En plus de cela, on a vérifié qu'il n'existait pas de différences significatives en rapport avec les fréquences génotypiques entre ces deux groupes.

Les données obtenues dans le présent travail montrent que la région analysée du gène *ATXN3* ne présente pas de variation exclusive chez les patients. Un des autres objectifs de ce travail était de vérifier si l'existence de polymorphismes pouvait interférer avec des signes de polyadénylation. L'analyse de la portion 3'UTR du gène *ATXN3* étudiée dans ce travail, a montré que les polymorphismes trouvés n'impliquent pas dans l'élimination des signes de polyadénylation antérieurement décrits (A1, B1, A2 e A3) ni dans la création de séquences consensus pour de nouveaux signes de polyadénylation. Ainsi, nous pouvons conclure qu'il ne devrait pas exister de changements, causés par les SNP trouvés, en ce qui concerne la polyadénylation de cette portion de la région 3'UTR, c'est pourquoi il n'est pas prévu de changements aux niveaux de l'expression de ce gène, qui soient commandés par ce type de régulation. Cependant, nous pouvons mettre en avant le fait que la région 3'UTR du gène *ATXN3* n'a pas été étudié intégralement, étant donné que la portion restante de l'exon 11 qui englobe les cinq dernières séquences consensus pour des signes de polyadénylation (A4-A8), décrits par Ichikawa *et al.* (2001), n'a pas été analysée, ce qui n'a donc pas permis d'extrapoler la même conclusion en ce qui concerne l'influence des signes de polyadénylation pour toute la région 3'UTR du gène en cause. Celle-ci et d'autres limitations de l'étude ont conduit à une série de perspectives futures intéressantes qui, une fois mises en place, pourraient donner suite à ce travail. En termes de perspectives futures, il sera possible d'augmenter le nombre d'individus étudiés, que ce soit dans le groupe des témoins, pour pouvoir avoir une plus grande perception de la variation normale, ou dans le groupe des patients, en les divisant

en accord avec les caractéristiques phénotypiques, par exemple, l'âge de début de la maladie. En ce qui concerne la région analysée, il serait intéressant d'étendre l'analyse à la région restante de l'exon 11 couvrant toute l'extension du gène *ATXN3* capable de former la région 3' UTR. Des analyses *in silico* des facteurs qui agissent en *trans*, pourraient être réalisées afin d'essayer de comprendre les effets additionnels de toute la variation trouvée. Ce travail, visant à contribuer à une meilleure compréhension des bases moléculaires de la MMJ, a permis d'obtenir des informations sur la variation existante dans la région 3'UTR du gène *ATXN3* dans les échantillons de patients MMJ pour laquelle, jusqu'à cette date, la connaissance était pratiquement inexistante. En dehors de cela, les données produites ici, peuvent servir de base pour de futurs travaux portant en particulier sur la variation génétique dans les régions régulatrices du gène *ATXN3* et sa relation avec la variabilité phénotypique de la MMJ.

6. BIBLIOGRAPHIE

BETTENCOURT C, SILVA-FERNANDES A, MONTIEL R, *ET AL.* (2007): Triplet repeats: Features, dynamics and evolutionary mechanisms. *In: Santos C, Lima M (Eds) Recent advances in molecular biology and evolution: applications to biological anthropology.* Research Signpost, Kerala; pp 831-14.

BETTENCOURT C, SANTOS C, KAY T, VASCONCELOS J, LIMA M (2008a): Analysis of segregation patterns in Machado-Joseph disease pedigrees. *Journal of Human Genetics*; 53: 920-923.

BETTENCOURT C, FIALHO R, SANTOS C *ET AL.* (2008b): Segregation distortion of wild-type alleles at the Machado-Joseph disease locus: a study in normal families from Azores islands (Portugal). *Journal of Human Genetics*; 53: 333-339.

BETTENCOURT C (2009): *Machado-Joseph disease: From genetic variability to clinical heterogeneity*, 204 pp. Dissertação de Doutoramento, Universidade dos Açores.

BETTENCOURT C, SANTOS C, MONTIEL R *ET AL.* (2010a): Increased transcript diversity: novel splicing variants of Machado-Joseph Disease gene (*ATXN3*). *Neurogenetics*; 11: 193-202.

BETTENCOURT C, SANTOS C, MONTIEL R *ET AL.* (2010b): The (CAG)_n tract of Machado-Joseph disease gene (*ATXN3*): a comparison between DNA and mRNA in patients and controls. *European Journal of Human Genetics*; 18: 621-623.

- BOLOGNAMI F, PERRONE-BIZZOZERO N (2008): RNA-protein interactions and control of mRNA stability in neurons. *Journal of Neuroscience Research*; 86: 481-489.
- CARVALHO D R, LA ROCQUE-FERREIRA A, RIZZO I M *ET AL.* (2008): Homozygosity Enhances Severity in Spinocerebellar Ataxia Type 3. *Pediatric Neurology*; 38: 296-299.
- CHATTERJEE S, PAL J K (2009): Role of 5'- and 3'- untranslated regions of mRNAs in human diseases. *Biology of the Cell*; 101: 251-262.
- CHEN J M, FEREC C, COOPER D (2006a): A systematic analysis of disease-associated variants in the 3' regulatory regions of human protein-coding genes I: general principles and overview. *Human Genetics*; 120: 1-21.
- CHEN J M, FEREC C, COOPER D (2006b): A systematic analysis of disease-associated variants in the 3' regulatory regions of human protein-coding functionality of 3'UTR variants. *Human Genetics*; 120: 301-333.
- COOPER D N e KRAWCZAK M (1993): *Human Gene Mutation*, 402 pp. Bios Scientific Publishers Limited Oxford U.K.
- COUTINHO P (1992): *doença de Machado-Joseph: Tentative de definição*, 254 pp. Dissertação de Doutoramento, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Porto.
- COUTINHO P, ANDRADE C (1978): 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. (non consulté)

- COUTINHO P, SEQUEIROS J (1980): Aspects cliniques, génétiques et pathologiques de la maladie de Machado-Joseph. *Journal de Génétique Humaine*; 29(3): 203-209. (non consulté)
- DAY D, TUIITE M (1998): Post-transcriptional gene regulatory mechanisms in eukaryotes: an overview. *Journal of Endocrinology*; 157: 361-371.
- EDWALDS-GILBERT G, VERALDI K, MILCAREK C (1997): Alternative poly (A) site selection in complex transcription units: means to an end? *Nucleic Acids Research*; 25: 2547-2561.
- EXCOFFIER L G, LAVAL SCHNEIDER S, ARLEQUIN (1998-2010): An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, versão 3 5.5 1: 47-50.
- GONZALEZ C, LIMA M, KAY T, ET AL. (2004): Short-Term impact of predictive testing for the Machado-Joseph disease: Depression and Anxiety levels in individuals at risk from the Azores (Portugal). *Community Genetics*; 7(4): 196-201.
- GRZYBOWSKA E, WILCZYNS A, SIEDLECKI J A (2001): Breakthroughs and views Regulatory Functions of 3'UTRs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*; 288: 291-295.
- Guo S e Thompson E (1992): Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*; 48: 361-372.
- HALL TA (1999): BIOEDIT: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98NT. *Nucleic Acids Symposium Series*: 41: 95-98.
- HUGHES T (2006): Regulation of gene expression by alternative untranslated regions. *Trends in Genetics*; 22: 119-122.

- ICHIKAWA Y, GOTO J, HATTORI M *ET AL.* (2001): The genomic structure and expression of MJD, the Machado- disease gene. *Journal of Human Genetics*; 46: 413-422.
- KAWAGUCHI Y, OKAMOTO T, TANIWAKI M *ET AL.* (1994): CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. *Nature Genetics*; 8: 221-228.
- LIMA M (1996): *doença de Machado-Joseph nos Açores: Estudo epidemiológico, biodemográfico e genético*, 299pp. Dissertação de Doutoramento Universidade dos Açores.
- LIMA M, MAYER M, COUTINHO P *ET AL.* (1997): Prevalence, geographical distribution and genealogical investigation of Machado-Joseph disease in the islands of Azores (Portugal). *Human Biology*; 69(3): 383-391.
- LIMA M, KAY T, VASCONCELOS J *ET AL.* (2001): Disease Knowledge and attitudes toward Predictive Testing and Prenatal Diagnosis in families with Machado-Joseph disease from the Azores islands (Portugal). *Community Genetics*; 4(1):36-42.
- LIMA M, COSTA M C, MONTIEL R *ET AL.* (2005): Population genetics of wild-type CAG repeats in the Machado-Joseph disease gene in Portugal. *Human Heredity*; 60: 156-163.
- LIMA M (2010): *Excepções ao Paradigma Mendeliano: A doença de Machado-Joseph como caso de estudo*, 39 pp. Provas de Agregação, Plano de Lição. Universidade dos Açores.
- LUTZ C (2008): Alternative polyadenylation: A twist on mRNA 3' end formation. *Acs Chemical Biology*; 3: 609-617.

- MACIEL P, COSTA M C, FERRO A *ET AL.* (2001): Improvement in the molecular diagnosis of Machado-Joseph disease. *Archives of Neurology*; 58: 1821-7.
- MANDEL C R, BAI Y, TONG L (2008): Protein factors in pre-mRNA 3'-end processing. *Cellular and Molecular Life Sciences*; 65: 1099-1122.
- NANO K, DAWSON D M, SPENCE A (1972): Machado disease-A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. *Neurology*; 22: 49-55. (non consulté)
- NEI M (1987): *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York, NY, USA.
- PAULSON H L, DAS S S, CRINO P B *ET AL.* (1997): Machado-Joseph disease gene product is a cytoplasmatic protein widely expressed in brain. *Annals of Neurology*; 41 (4): 453-62.
- PAULSON H L (2007): Dominantly inherited ataxias: lessons learned from Machado-Joseph disease/ spinocerebellar ataxia type 3. *Seminars in Neurology*; 27: 133-142.
- REGATEIRO F (2003): *Genética Médica*, 496 pp. Imprensa da Universidade de Coimbra. Coimbra.
- ROSENBERG R, NYHAN W L, BAY C, SHORE P (1976): Autosomal dominant striatonigral degeneration. A clinical, pathologic and biochemical study of a new genetic disorder. *Neurology*; 26: 703-714. (non consulté)
- SUITE ND, SEQUEIROS J, MCKHANN GM (1986): Machado-Joseph disease in a Sicilian-American family. *J Neurogenet*; 3: 177-182. (non consulté)
- STRACHAN T e READ A P (2004): *Human Molecular Genetics* 3 a Ed., 674 pp. Garland Publishing New York, USA.

TAKIYAMA Y, NISHIZAWA M, TANAKA H *ET AL.* (1993): The gene for Machado-Joseph disease maps to human chromosome 14q. *Nature Genetics*; 4: 300-304.

TAKIYAMA Y, Igarashi S, Rogaeva E A *ET AL.* (1995): Evidence for inter-generational instability in the CAG repeat in the MJD1 gene and for conserved haplotypes of flanking markers amongst Japanese and Caucasian subjects with Machado-Joseph disease. *Human Molecular Genetics*; 4 (7): 1137-46.

WOODS B T, SCHAUMBURG H H (1972): Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia: A unique and partially treatable clinico-pathological entity. *Journal of the Neurological Sciences*; 17: 149-166.
(non consulté)

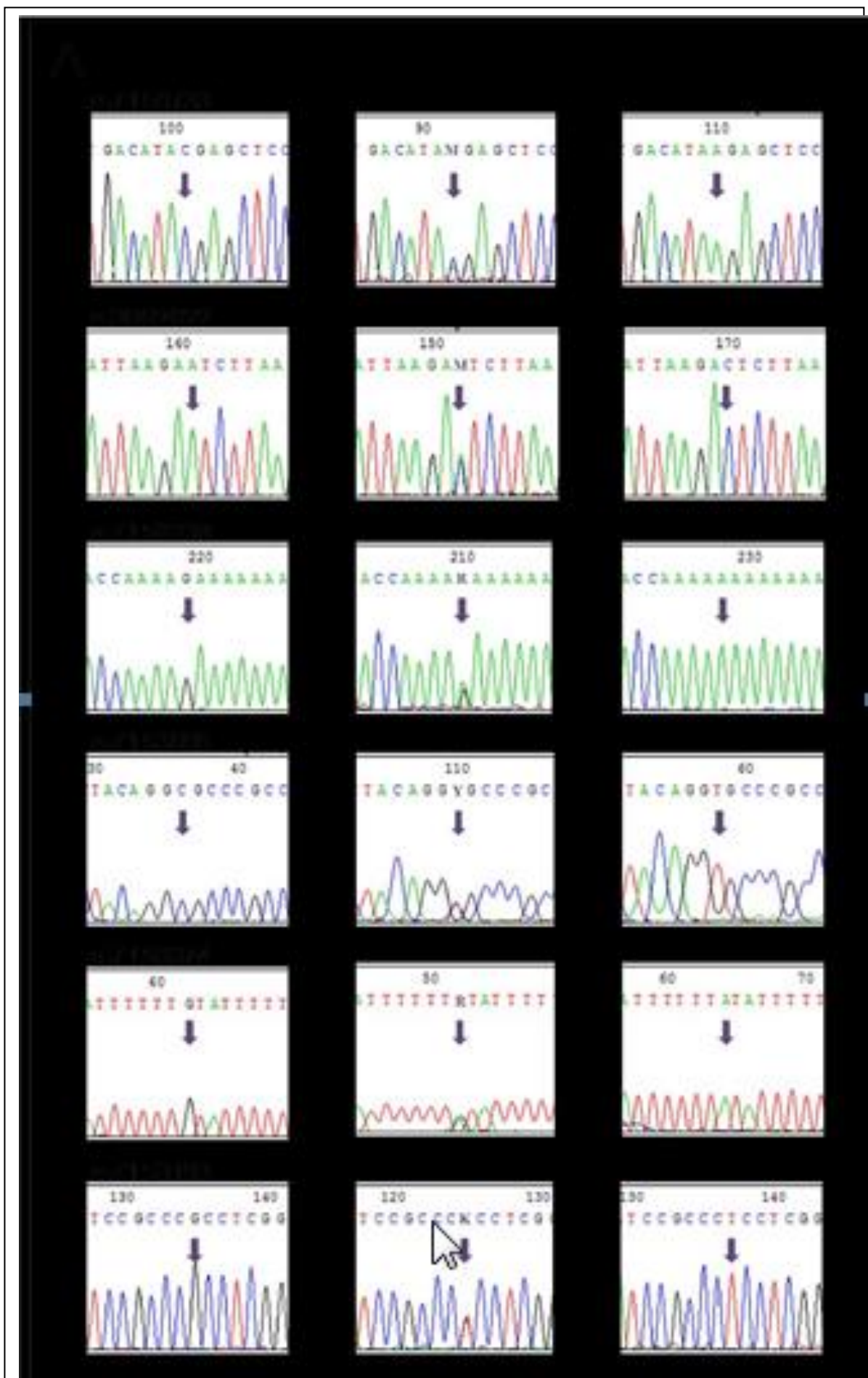
ZLOTOGORA J 2006: Genetic diseases: Prevalence. *Encyclopedia of Life Sciences*.

(DOI:101038/npg/els.0006004).

7. Annexes

Tableau 1A. Représentation des génotypes pour chacun des SNP par individu, pour le groupe des cas et des témoins.

Code Echantillon	Exon 10						Exon 11				
	rs7158733	rs3092822	rs7158238	rs7153696	rs7153374	rs7153193	rs10151135	rs709930	rs910369	rs55966267	
MALADES											
DMU 1	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA	
DMU 2	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 6	CC	AA	GG	CC	GG	GG	AA	GG	GG	AA	
DMU 10	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 14	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA	
DMU 17	CA	-	-	-	GA	GT	CA	GA	GT	AA	
DMU 18	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA	
DMU 19	CA	AC	GA	-	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 20	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA	
DMU 21	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA	
DMU 22	CA	AC	GA	-	-	GT	CC	GA	GT	AG	
DMU 30	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 32	CC	AA	GG	-	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 33	CC	AA	-	-	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 35	CC	AA	GG	CC	GG	GG	AA	GG	GG	AA	
DMU 36	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 39	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 40	CC	CC	GG	CC	GG	GG	CA	GG	GG	AA	
DMU 41	-	AC	GA	-	-	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 42	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA	
DMU 43	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AG	
DMU 45	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA	
DMU 46	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	-	AA	
DMU 47	-	AC	GA	-	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 48	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 49	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
DMU 50	-	-	-	-	-	-	CC	GA	GT	AA	
DMU 51	-	-	-	-	-	-	CA	GA	GT	AA	
DMU 57	-	-	-	-	-	-	CA	GA	GT	AA	
DMU 59	-	-	-	-	-	-	CA	GG	GG	AA	
TEMOINS											
ContDMU 9	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 10	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 20	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 21	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CC	GA	GT	AA	
ContDMU 22	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 23	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA	
ContDMU 30	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 31	CC	AA	GG	CC	GG	GG	CC	GG	GG	AA	
ContDMU 32	CA	AC	GA	CT	GA	GT	CA	GA	GT	AA	
FL012	AA	CC	AA	TT	AA	TT	CC	AA	TT	AA	



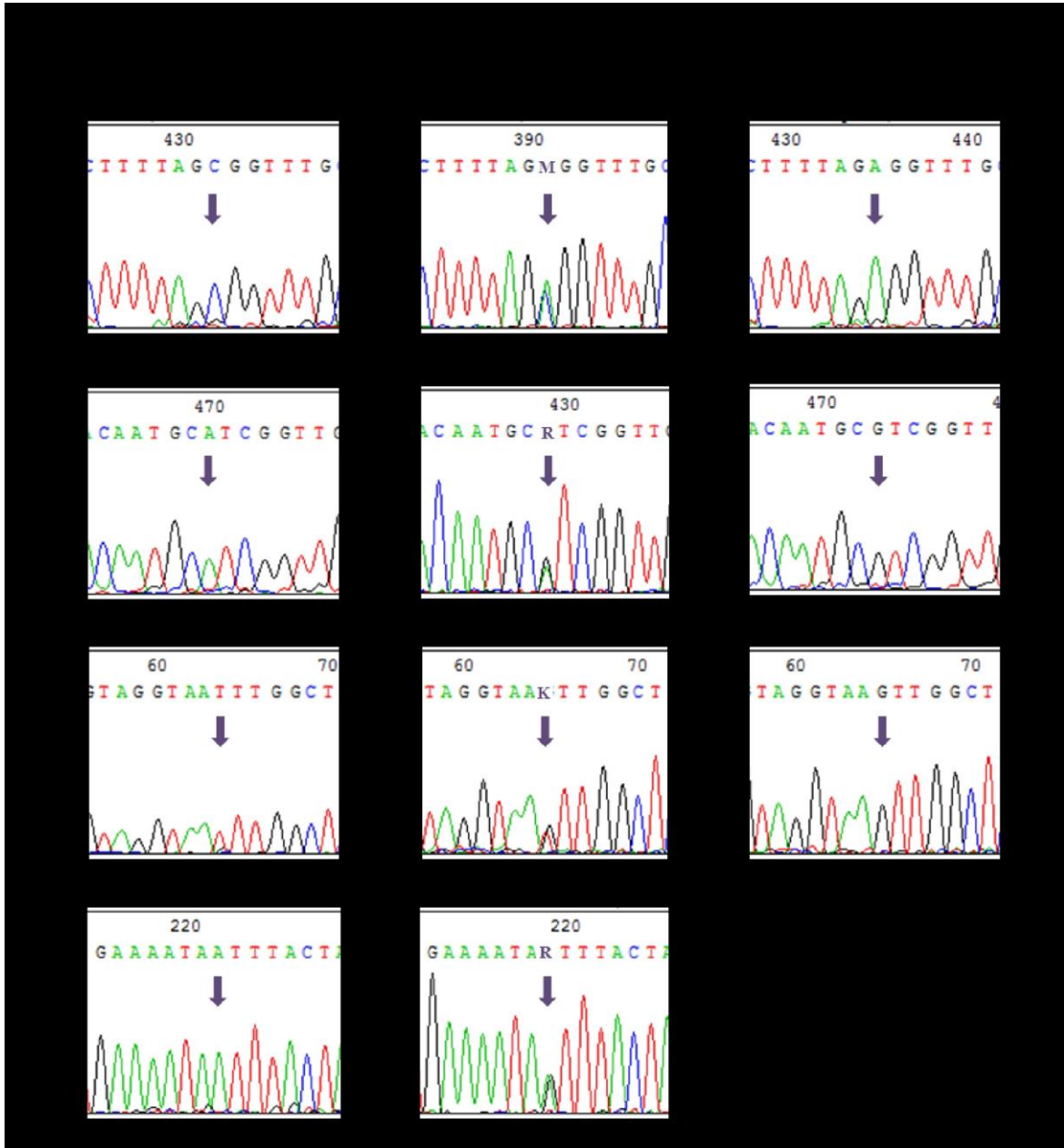


Figure 1A. Électrophorégramme qui illustre chacun des génotypes observés pour chacun des 10 SNP identifiés dans les exons 10 et 11 du gène *ATXN3*. A) SNP trouvés dans l'exon 10 (rs7158733, rs3092822, rs7158238, rs7153696, rs7153374, rs7153193); B) SNP trouvés dans l'exon 11 (rs10151135, rs709930, rs910369, rs55966267). La localisation de chaque SNP est mise en évidence par une flèche. Dans les électrophorégrammes correspondant à la situation d'hétérozygotie, le nucléotide correspondant au SNP a été représenté par le code destiné aux bases dégénérées, ainsi: K=G/T, M=C/A, R=G/A, Y=C/T.

CHAPITRE VIII

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

L'élaboration de ce travail a permis de réfléchir sur les divers problèmes liés à la MMJ, tout en éclairant plusieurs des conceptions aprioristiques que je portais sur celle-ci et en créant des bases pour quelques spéculations. Quelques affirmations ont été faites au long des différents chapitres, mais je vais maintenant les discuter, en faisant en sorte de synthétiser pour chacune des questions, de ce que je pense actuellement et ce que cette étude a permis d'établir.

1. CADRE CLINIQUE

Définition du modèle clinique

La MMJ est cliniquement définie par l'association de *l'ataxie cérébelleuse et l'ophtalmoplégie externe progressive*, communes à tous les malades. Ces deux syndromes basiques ont une évolution progressive dans tous les cas.

Par ordre de fréquence, s'ensuit le *syndrome pyramidal* dont le comportement est très irrégulier. D'apparition précoce (quelques signes pyramidaux sont observés chez des individus à risque avant même les premières manifestations subjectives de la maladie), il touche une grande majorité de jeunes malades. Au contraire, il est absent ou il s'atténue dans les cas de début plus tardif, certainement dissimulé par le cadre périphérique.

Le cadre périphérique a un comportement inverse: il apparaît tard, entre 5 et 10 ans d'évolution, atteignant surtout les malades les plus âgés et s'accroissant progressivement. On retrouve le même profil

au niveau des signes de lésions des nerfs crâniens moteurs, à la différence que ces derniers ne sont pas dépendants de l'âge de début de la maladie, c'est-à-dire, qu'ils s'expriment dans tous les groupes d'âges. Sa manifestation la plus fréquente est constituée par les *fasciculations traduites par des contractions du visage*.

Les *signes extrapyramidaux* sont plus rares et sont aussi très dépendants du facteur âge. Dans les cas de début plus précoce, la dystonie apparaît, présente en repos mais aggravée par les mouvements, enveloppant les membres et, parfois, le visage et la musculature axiale. Un cadre akinétique-rigide important de la maladie de Parkinson est rare dans notre série, et apparaît dans un groupe réduit d'adultes plus âgés que ceux manifestant la dystonie.

Environ un tiers des malades souffrent de *rétraction palpébrale* associée à un regard fixe, manifestation caractéristique (mais pas exclusive) de la MMJ. Elle a tendance à être plus marquée dans les cas de début précoce.

Manifestations cliniques peu connues

Cette révision a permis de mettre en évidence deux aspects cliniques de la MMJ non décrits auparavant: 1. *Troubles du sommeil*, accompagnés d'agitation nocturne et de réveils fréquents durant la nuit, ce qui correspond au niveau des enregistrements polygraphiques du sommeil à la rareté ou à la disparition des phases REM; 2. *L'amaigrissement*, indépendamment de la dysphagie et des amyotrophies. Tous deux sont plus communs et précoces chez les jeunes malades et évoluent de manière parallèle. Ils peuvent être en rapport avec le changement de systèmes monaminergiques centraux, notamment du locus cœruleus.

Formes cliniques spéciales

Trois cas sont connus et doivent correspondre à un état d'*homozygotie* pour la MMJ, caractérisé par: 1. début durant l'enfance; 2. Association de l'ataxie cérébelleuse, syndrome pyramidal et dystonie importants; 3. évolution rapide avec une incapacité précoce, 4. courte survie, 5. preuve, par l'histoire familiale, que les deux parents peuvent être porteurs du gène mutant (qu'ils soient malades ou encore asymptomatiques).

2. Problèmes du diagnostic

Diagnostic clinique

Je pense qu'il est possible de faire le diagnostic de la MMJ, même sans confirmation pathologique, selon les critères suivants et *dans certaines situations*:

1. Transmission autosomique dominante
2. Début habituel à l'âge adulte (moyenne: 40.2 ans). Les cas infantiles et juvéniles devront être considérés dans un contexte de diagnostic familial certain, et les premiers dans des situations de possible homozygotie.
3. Présence d'ataxie et ophthalmoplégie supranucléaire chez *tous* les malades ayant plus de cinq ans d'évolution.
4. Association fréquente mais pas obligatoire de signes pyramidaux, extrapyramidaux et/ou périphériques, selon l'âge (les deux premiers plus précoces, le dernier sous des formes plus tardives).
5. Présence de petits signes, mais très suggestifs, comme les fasciculations de contraction du visage et la rétraction palpébrale.
6. Intégrité des fonctions supérieures
7. Survie moyenne de 21.4 ans.

Pour ce diagnostic, il est indispensable de prendre en compte la *chronologie habituelle* d'apparition des différents syndromes: bien que la dystonie soit un signe extrapyramidal plus caractéristique, sa présence est rare avant les quatre ans d'évolution. Le syndrome périphérique apparaît seulement avec une certaine signification à partir de 7 ans d'évolution. C'est pourquoi, le diagnostic sera plus sûr si au moins l'un des membre de la famille à diagnostiquer a été examiné à mi-chemin de l'évolution (aux environs des 10 ans), lorsque son cadre clinique peut être pleinement engagé.

Diagnostic neuropathologique

En dehors des zones de plus haute prévalence, il est réconfortant d'avoir une confirmation neuropathologique du diagnostic. La révision de 18 autopsies de cas de MMJ a permis de définir un modèle neuropathologique caractéristique.

1. Atteinte presque systématique des structures suivantes: locus niger, noyau subthalamique, noyaux rouges, pontiques et dentelés (pédoncules cérébelleux moyens et supérieurs), faisceau longitudinal moyen, noyaux vestibulaires et nerfs crâniens moteurs, cornes antérieures de la moelle épinière (racines antérieures), colonnes de Clarke (faisceaux spino-cérébelleux) et ganglions rachidiens (cordons postérieurs). C'est encore un sujet à controverse, mais il est presque certain que le palladium et le locus cœruleus y participent.

2. L'intégrité presque systématique des structures suivantes: cortex cérébral, strié, cortex cérébelleux, olives bulbaires et le faisceau pyramidal.

Diagnostic différentiel

Les critères de diagnostic différentiel de la MMJ avec d'autres affections proches peuvent être énoncés de la façon suivante:

1. Le mode de transmission (autosomique dominante) permet d'exclure les affections sporadiques ou récessives.
2. Le début habituel à l'âge adulte est un point moins important, étant donné que c'est aussi le cas pour la majeure partie des affections dominantes.
3. Le profil toujours progressif exclut les ataxies périodiques familiales et les formes congénitales non évolutives (la progression plus lente de la MMJ par rapport à d'autres entités proches peut être un point auxiliaire de diagnostic).
4. L'état des réflexes, évalué à plusieurs niveaux, n'est pas utile, étant donné que toutes les modalités sont possibles dans la MMJ.
5. L'absence d'épilepsie myoclonique, de détérioration mentale et/ou chorée, chez le malade ou dans d'autres membres de la famille, semble être la clé du diagnostic différentiel de l'atrophie dentato-rubro-pallido-luysienne.
6. L'absence de démence, les changements rétinien ou l'atrophie optique fréquents permettent l'exclusion de certaines atrophies olivo-punto-cérébelleuses «plus».
7. L'atrophie olivo-punto-cérébelleuse accompagnée de mouvements oculaires lents et l'ataxie accompagnée de fasciculations permanentes sont si spéciales qu'elles ne soulèvent pas de difficultés lors du diagnostic clinique.
8. Finalement, il ne manque plus que la question, la plus difficile, concernant le diagnostic différentiel avec les restantes atrophies olivo-punto-cérébelleuses (sans mouvements oculaires lents, sans démences, sans atrophie optique ou dégénérescence tapeto-rétinienne prédominantes). Je pense qu'ici le diagnostic différentiel est *quantitatif*. Du point de vue clinique, certains aspects sont plus fréquents voire même constants dans la MMJ: tous les malades présentent une ophtalmoplégie après cinq ans d'évolution. Les fasciculations de contraction du visage sont *très fréquentes* après sept ans d'évolution, *presque tous* les cas tardifs ont des signes périphériques. Il en est de même du point de vue pathologique: dans les atrophies olivo-punto-cérébelleuses, le cortex cérébelleux (en particulier le néocortex) et les olives bulbaires sont *très* touchés. Dans la MMJ, ils sont entiers ou présentent juste une *légère* rareté cellulaire. Dans la première, la substance noire et les autres structures extrapyramidales sont occasionnellement touchées alors que dans le cas de la MMJ, son implication est pratiquement constante.
9. Le fait que la MMJ ne soit pas liée au système HLA du chromosome 6 permet d'exclure au moins certaines des atrophies olivo-punto-cérébelleuses classiques, sans qu'il soit nécessaire d'observer plusieurs malades ni d'attendre l'étude neuropathologique.

3. Problèmes neuropathologiques particuliers

La révision neuropathologique effectuée, outre le fait qu'elle permette d'établir des critères de diagnostic, a mis en évidence certains aspects intéressants, dignes d'être étudiés dans le futur. Le plus intéressant est certainement l'intégrité du faisceau pyramidal dans toute sa trajectoire, chez les malades qui présentent des cadres pyramidaux irritants parfois très marquants. Ce fait (qui n'est pas exclusif à la MMJ) suggère que, ce que l'on qualifie de syndrome pyramidal ne correspond pas toujours à une lésion du faisceau cortico-spinal et que cela peut dépendre de l'implication des autres voies, notamment des faisceaux vestibulaire, réticulaire et tecto-spinal. Un autre problème concerne l'intégrité du cortex cérébelleux: bien que ses afférences (à l'exception de celles des olives bulbaires) et efférences soient touchées, elles sont par moment compactes.

Une attention particulière devrait être donnée dans de futures études concernant ces deux questions. De même, il sera important d'évaluer, dans de prochains examens pathologiques, le système réticulaire du tronc cérébral qui pourrait être impliqué dans la MMJ, tant au niveau de ces liaisons connues avec les mouvements oculaires et l'activité du locus cérébelleux que de la preuve de lésion du faisceau réticulo-spinal dans le cas que nous avons étudié.

4. Positionnement nosologique de la MMJ

Un modèle de lésion préférentielle de certaines structures neuronales a été défini, sans aucune spécificité au-delà de sa distribution, qui permet d'insérer la MMJ dans le groupe nosologique des atrophies multisystématisées. Les systèmes impliqués sont les suivants:

1. Système cérébelleux, avec intégrité du cortex mais certaines de ces connexions ont été touchées: afférences (voies spino-cérébelleuses, punto-cérébelleuses et vestibulo-cérébelleuses à l'exception des olivo-cérébelleuses), et efférences (voies dentato-rubriques).
2. Complexe pallido-luysien.
3. Mélatiné structuré, avec le locus niger, le locus caeruleus et le noyau dorsal du vague.
4. Systèmes moteurs principaux, tels que les noyaux des nerfs crâniens moteurs et les cornes antérieures de la moelle épinière.

Tant du point de vue clinique que neurologique, la MMJ est bien évidemment proche de deux autres atrophies du système génétiquement conditionnées elles aussi: la forme classique d'atrophie olivo-punto-cérébelleuse (liée au

chromosome 6) et l'atrophie dentato-rubro pallido luisienne. Cependant, il constitue une entité nosologique bien définie, parfaitement différenciable et correspondant sans aucun doute à une erreur génétique distincte.

5. Profil épidémiologique de la MMJ: mutation unique et voyage du gène

Le parallélisme de la distribution géographique de la MMJ et de la PAF (avec des différences s'expliquant par des événements aléatoires et par les origines probablement différentes des mutations primitives) est un fort argument en faveur d'une mutation originale unique (commune à la plupart des familles souffrant de MMJ), surtout lorsque celle-ci est comparée à la distribution ubiquiste d'autres ataxies héréditaires, comme l'atrophie olivo-punto-cérébelleuse. La mutation doit être antérieure au XVI^{ème} siècle, étant donné l'existence d'un foyer japonais et elle était déjà implantée aux Açores, du moins au XVIII^{ème} siècle, puisque le plus grand foyer brésilien jusqu'à présent connu, se situe dans l'état de Santa Catarina, massivement colonisé par les Açoriens vers la moitié du siècle. La diffusion du gène mutant de la MMJ (et de celui de la PAF) a dû avoir lieu lors des voyages des Portugais à travers le monde, aussi bien durant la période des Découvertes et l'activité évangélisatrice et commerciale subséquente (cas du Japon, de la Chine et de l'Inde) que durant les flux migratoires réguliers des populations du Portugal et des Açores (Il y a des cas au Brésil et, pour la MMJ, en Amérique du Nord).

Le plus difficile est de se décider sur l'origine de cette mutation primitive de la MMJ: des arguments pour et contre l'origine séphardique (Portugal continental) ou açorienne de la mutation ont été discutés, basés sur des données épidémiologiques et des relations historiques connues (de la grande Histoire et de la petite histoire des familles affectées). Peu importe la mutation, il est évident que la MMJ (et la PAF) sont vues comme étant des marqueurs des voyages et des migrations portugaises.

6. Analyse des types cliniques

La grande variabilité phénotypique de la MMJ (qui a entraîné durant la phase initiale de l'exploration de la maladie, une possible admission des génotypes multiples) a normalement obligé, par nécessité de systématisation, la définition de trois types cliniques les plus communs. L'analyse statistique des malades étudiés a permis de clarifier quelques points, ouvrant les portes à un intéressant champ de spéculation physiopathologique.

L'identité des types 1 et 3 est bien évidente, étant donné le comportement clairement différent par rapport à presque tous les paramètres: âge de début, prédominance et intensité des différents syndromes, agrégation dans différentes familles et générations, distribution géographique et ethnique.

L'identité de type 2 est définie par un âge de début intermédiaire et, malgré tout, par un comportement plus bénin par rapport au cadre clinique (moins d'intensité au niveau des syndromes, absence de manifestations aussi incapacitantes que les extrapyramidales et les périphériques) et la survie. Bien qu'elle ait tendance à disparaître, du fait de sa transformation en d'autres types, il y a cependant des malades qui se maintiennent dans ce type parfois jusqu'à la mort après de longues évolutions. Le type 2 concerne ainsi deux situations: les malades en phases initiales, avant la différenciation en d'autres types, et les cas, habituellement avec des âges de début intermédiaire, qui ne subissent jamais cette différenciation au long de l'évolution de la maladie.

La définition initiale des types cliniques n'a pas été rédigée de la manière la plus claire, ce qui contribuera a posteriori à quelques interprétations déficitaires. C'est pourquoi, et cela se justifie, nous allons mettre en avant certains points: 1. Le type 2 peut être transactionnel, les types 1 et 3 sont définitifs. 2. Aucune analyse statistique qui utilise des types ne devrait être faite lors des premières années de l'évolution de la maladie, avant que les types 1 et 3 n'aient eu le temps de se définir. 3. Pour les phases terminales, tous les syndromes peuvent être superposés, ce qui signifie que la définition concernant les types n'est plus adaptée à ce cas-ci.

7. Facteurs de variabilité phénotypique

Une des questions les plus intéressantes de l'étude clinique de la MMJ est exactement son extrême variabilité phénotypique. Deux types de facteurs conditionnant cette expression variable d'un même gène mutant peuvent être suspectés:

1. *Facteurs génétiques*: L'expression de la mutation génétique unique doit être influencée par des gènes modificateurs, en particulier en ce qui concerne l'âge de début (moins de variation dans chaque fratrie et génération qu'à l'intérieur d'une même famille, moins de variation intrafamiliale qu'entre familles, moins de variation régionale et intracommunautaire). Il y a également une certaine preuve de l'existence d'une légère protection liée au sexe féminin, se manifestant, en règle générale, sous des formes tardives et bénignes.

2. *Vulnérabilité structurale en fonction de l'âge*: D'un autre côté, il semble exister une vulnérabilité spéciale des structures impliquées dans certains des âges qui conditionne une partie de l'expression clinique: chez les jeunes malades, la dystonie et le syndrome pyramidal prédominant, chez les malades plus âgés on retrouve une prédominance des signes de lésions des cornes antérieures de la moelle épinière, qui apparaissent à des âges intermédiaires juste dans le cadre commun d'ataxie cérébelleuse et ophtalmoplégie externe progressive. Cette susceptibilité en fonction de l'âge de certaines structures du système nerveux central à des noxa diverses (toxiques, génétiques), est aussi évidente dans d'autres maladies: les dyskinésies aiguës médicamenteuses, la maladie de Wilson et la maladie de Segawa qui touchent de préférence les jeunes, certaines maladies des cornes antérieures de la moelle épinière comme la sclérose latérale

amyotrophique qui sont caractéristiques des groupes d'âges plus avancés. La vulnérabilité sélective des structures-cibles peut, en fonction de l'âge (c'est-à-dire, en fonction du niveau de maturité et de vieillissement), expliquer l'expression clinique différente d'une même erreur génétique, selon l'âge de début.

8. Un modèle étiopathogénique pour la MMJ

Pour conclure, voici une possible succession d'événements qui pourra déterminer l'expression de la MMJ:

1. 1. Mutation génétique primitive.
2. 2. Erreur de codification lors de la synthèse d'une protéine.
3. 3. Interférence de cette protéine anormale (ou du manque de protéine normale) dans le métabolisme des systèmes neuronaux impliqués, ce qui entraîne la mort cellulaire précoce.
4. L'influence d'autres gènes, localisés dans différents *loci* et, éventuellement, de facteurs environnementaux dans l'expression de cette erreur, conditionne l'âge de décompensation (début clinique), à partir duquel le pourcentage de neurones disparues ne peut pas être équilibré par l'hypersensibilité de la dénervation des récepteurs.
5. la claudication des différents systèmes (en particulier de ceux responsables de la dystonie et du syndrome pyramidal et des cornes antérieures de la moelle épinière) pourra dépendre de l'âge du malade, des conditions locales d'immaturation pour les premières, de vieillissement pour les secondes, qui leur confèrent une plus grande vulnérabilité ou résistance aux protéines pathologiques (ou à un déficit de la protéine normale).
6. Des combinaisons des différents facteurs — gènes modificateurs, environnement, vulnérabilité sélective des structures-cibles en fonction de l'âge — dépendra le modèle pathologique de la maladie et de son expression clinique.

Comme il fallait s'y attendre, il n'a pas été possible de trouver une réponse définitive à toutes les questions soulevées. Certaines sont maintenant plus claires, et grâce à cet éclaircissement, de nouvelles perspectives se sont ouvertes pour de futures études. Tout cela dépendra de l'identification d'un marqueur génétique pour la maladie de Machado-Joseph, ce qui semble être le prochain pas inévitable dans sa connaissance. Il sera fascinant de savoir quelles sont les pistes qui surgiront ensuite dans cette chaîne si harmonieuse, malgré les bonds, avancées et retours en arrière, qui constituent la recherche d'une «nouvelle» maladie.



3. Base de datos terminológica

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
adenina	adenine	adénine		Base purique constitutive des acides désoxyribonucléique et ribonucléique, et de certaines coenzymes.	"Dictionnaire Médical de poche" (2007) Jacques Quevauvilliers
ADN	DNA	ADN		Acide désoxyribonucléique qui constitue la molécule support de l'information génétique héréditaire.	http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/medecine-2/d/adn_87/
agonista colinérgico	cholinergic agonist	agoniste cholinergique		Médicament dont l'action ressemble à l'acétylcholine.	http://sante-guerir.norefamilie.com/v2/services-sante/article-sante.asp?id_guerir=211
a jusante	downstream	en aval		Au delà-de	http://www.linternaute.com/dictionnaire/fr/definition/en-aval/
alelo	allele	allèle		Un des gènes d'une paire ou une série, localisé à un endroit précis sur le chromosome et qui influence l'expression d'un trait particulier.	http://www.enfant-encyclopedie.com/Pages/PDF/Glossaire_Cerveau_Allele.pdf
alfa-sinucleina	alpha-synuclein	alpha-synucléine		Protéine abondante dans le cerveau et un des principaux constituants des corps de Lewy, qui sont des inclusions éosinophiles cytoplasmiques caractéristiques dont la présence dans la substance noire du tronc cérébral signe le diagnostic de maladie de Parkinson et peuvent également être présents dans d'autres pathologies neurodégénératives.	Adaptée de: http://www.anses.fr/ET/Documents/ET/BVSSET_special_ORP.pdf
análise bioinformática	bioinformatic analysis	analyse bioinformatique		Étude de l'information biologique contenue dans les séquences nucléotidiques (séquences de nucléotides) et protéiques (séquences d'acides aminés).	"Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique" (2006) G.Coutouly, E. Klein et M. Kriat
anticolinérgico	anticholinergic	anticholinergique		Qui s'oppose à l'action de l'acétylcholine au niveau des nerfs parasymphatiques.	"Dictionnaire Médical de poche" (2007) Jacques Quevauvilliers
ARN	RNA	ARN		Molécule formée lors de la transcription d'une séquence d'ADN.	Programmation génétique, comportement et cognition en psychiatrie (2006) Dominique Camignon
ARN mensageiro	messenger RNA	ARN messenger		Copie de l'ADN, qui transporte le message du gène (ADN) du noyau vers le cytoplasme de la cellule, pour y être traduit en protéine.	http://myopathie.corsedusud.pagesperso-orange.fr/documents%20pdf/mnm/av08_dmop.pdf
ataxia	ataxia	ataxie		Troubles de la coordination des mouvements, au niveau des membres et du tronc, avec conservation de la force musculaire.	"Dictionnaire médical avec atlas anatomique" (2009) Jacques Quevauvilliers
ataxia espinocerebelosa	spinocerebellar ataxia	ataxie spinocérébelleuse	ASC	Groupe hétérogène de maladies neurodégénératives tant au point de vue génétique qu'au point de vue clinique. Leur fréquence relative est très variable selon le groupe ethnique et le lieu géographique.	http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=17297272
ataxia periódica familiar	familial periodic ataxia	ataxie périodique familiale	EA2	Désordre rare de la fonction cérébelleuse, principalement héritée et à un pronostic bénin. Celle-ci est souvent associée à une hyperexcitabilité nerveuse et est due à la mutation du gène d'une sous-unité du canal potassique.	http://www.lookfordiagnosis.com/cases.php?term=Ataxie&lang=4&from=320 / http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsid=15956003
ataxina-3	ataxin-3	ataxine-3	ATXN3	Protéine cytoplasmique de fonction inconnue.	http://www.medix.free.fr/cours/ataxies-paraplegies-spastiques.php
atrofia dentato-rubro-palido-luisiana	dentatorubro-pallidoluisian atrophy	atrophie dentato-rubro-palido-luisienne	ADRPL	Maladie neurodégénérative de transmission autosomique dominante d'évolution progressive conduisant à une perte d'autonomie, et dont la présentation clinique change considérablement selon l'âge de début et est extrêmement variable, depuis la petite enfance jusqu'à après 60 ans. Les formes précoces sont caractérisées par une épilepsie myoclonique progressive associée à une démence, alors que dans les formes plus tardives, on retrouve une ataxie cérébelleuse et une choréo-athétose prédominante. Le traitement est purement symptomatique.	Adaptée de: http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=101&lng=FR-Dictionnaire_Médical_avec_atlas_anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
atrofia de sistemas multiplos	multiple system atrophy	atrophie multisystématisée	MAS	Affection dégénérative sporadique combinant de façon variable un syndrome parkinsonien des signes cérébelleux ou pyramidaux à une dysautonomie.	"Dictionnaire médical avec atlas anatomique" (2009) Jacques Quevauvilliers
atrofia vermiana	vermian atrophy	atrophie vermienne		Elle est visible au scanner ou à l'IRM et peut être asymptomatique.	http://imm.univ-lyon1.fr/internet/download/item45.pdf
baclofen	baclofen	baclofène		Myorelaxant utilisé dans le traitement de la spasticité.	http://gdt.oqlf.gouv.qc.ca/ficheOqlf.aspx?Id_Fiche=26501117
bactrim	bactrim	bactrim		Association de sulfamide et triméthoprime.	http://www.roche.fr/portal/roche-fr/nos_medicaments?siteUId=re7199006&naf_gear_id=4280002&pageId
benserazida	benserazide	benzézazide		Inhibiteur de la décarboxylation de la lévodopa dans les tissus extracérébraux, utilisé en association avec la lévodopa dans le traitement de la maladie de Parkinson.	"Dorland Dictionnaire médical bilingue français-anglais/anglais-français" (2008) Dorland, François Maniez, John Scott & Co

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
cálculo bayesiano	bayesian calculation	calcul bayésien		Démarche logique permettant de calculer ou réviser la probabilité d'une hypothèse. Cette démarche est régie par l'utilisation de règles strictes de combinaison des probabilités, desquelles dérive le théorème de Bayes. Dans la perspective bayésienne, une probabilité n'est pas interprétée comme le passage à la limite d'une fréquence, mais plutôt comme la traduction numérique d'un état de connaissance (le degré de confiance accordé à une hypothèse, par exemple).	http://www.techno-science.net/?onglet=glossaire&definition=6368
capping	capping	ajout de la coiffe		Celle-ci se fait au cours de la transcription et semble protéger l'ARNm contre la dégradation des nucléases.	http://www.ac-nice.fr/svt/.../Expression de l information genetique.docx
codão	codon	codon		Unité du code génétique formé par un triplet (trois bases) d'ARN-messager et responsable de l'incorporation d'un acide aminé, véhiculé par un ARN-t porteur d'un anticodon, dans la biosynthèse d'un polypeptide ou d'une protéine.	"Dictionnaire de médecine Flammarion" (2008) Serge Kernbaum
colina	choline	choline		Hydroxide de β (hydroxyéthyltriméthylammonium). Composé hydrosoluble, elle est un facteur lipotrope nécessaire à l'utilisation des lipides par le foie, son absence entraîne une stéatose. Elle peut-être apportée par l'alimentation ou synthétisée dans l'organisme à partir de donneurs de méthyle comme la méthionine.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
córtex cerebeloso	cerebellar cortex	cortex cérébelleux		Région périphérique du cervelet constituée de substance grise et formant des replis appelés lamelles du cervelet.	"Biologie humaine" (2010) Mader
córtex extrapiramidal	extrapyramidal cortex	cortex extrapyramidal		Ensemble des noyaux gris centraux (îlots de substance grise noyés dans la substance blanche) d'où partent des fibres nerveuses motrices (donnant des ordres aux muscles pour effectuer des mouvements) et des fibres afférentes (arrivant dans les noyaux) et efférentes (partant des noyaux).	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/syndrome-extrapiramidale
cistefina-proteases	cystein protease	protéase à cystéine		Peptidases qui ont en commun un mécanisme catalytique qui implique un acide aminé cystéine présent dans la triade catalytique.	http://www.coordination-nationale-infirmiere.org/index.php?url=index.php/201004141201/Actualites/Tout-ce-que-vous-avez-toujours-voulu-savoir-sur-l-Acide-Hyarulonique.html
claudicação	claudication	claudication		Démarche irrégulière et difficile due à une malformation de naissance ou consécutive à une douleur, une maladie ou un accident.	http://www.cnrtl.fr/definition/claudeication
clonus dos pés	ankle clonus	clonus des pieds		Série de contractions rapides rythmiques et réflexes (involontaires), que l'on peut considérer comme des spasmes, dues à l'étirement de certains muscles.	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/clonus
coluna de Clarke	Clarke's column	colonne de Clarke		Elle se caractérise par de grandes cellules multipolaires à noyau excentré associées à de petites et moyennes cellules et est à l'origine d'une partie du faisceau spino-cérébelleux dorsal.	http://books.google.fr/books?id=Ost7PN6plaUC&pg=PA315&dq=%22colonne+de+Clarke&hl=fr&sa=X&ei=x8YPUavdDcHDhAegnYDQCw&ved=0CC4Q6AEwAA#v=onepage&q=%22colonne%20de%20Clarke&f=false
coreia	chorea	chorée		Maladie nerveuse qui consiste en des mouvements involontaires et irréguliers.	http://www.cnrtl.fr/definition/chor%C3%A9e
cornio anterior da medula	anterior horn of spinal cord	corne antérieure de la moelle épinière		Corne motrice formant le point de départ ou le point de transit de tous les reflexes moteurs.	"Manuel d'anatomie et de physiologie" (2008) Sy Nguyen et Redha Bourouina
cromatina	chromatine	chromatine		Substance composée essentiellement d'ADN, occupant le noyau de la cellule en interphase et se transformant en chromosomes au moment de la division cellulaire.	"Dictionnaire Médical à l'usage des IDE" (2009) Michel Lacombe, Jean-Luc Pradel et Jean-Jacques Raynaud
degenerescência estriatonígrica	striatonigral degeneration	dégénérescence striatonigrique		Maladie qui ne répond pas bien à la L-dopa et qui a pour caractéristiques cliniques une dysautonomie précoce et sévère, une hypophonie sévère et des signes pyramidaux.	Adaptée de : http://books.google.fr/books?id=r6UyRuoa-hoC&pg=PA47&dq=d%C3%A9g%C3%A9n%C3%A9r%C3%A9scent+striatonigrique&hl=fr&sa=X&ei=qGQOUem8KcOLhQFY4IDYBw&ved=0CDAQ6AEwAA#v=onepage&q=d%C3%A9g%C3%A9n%C3%A9r%C3%A9scent%20striatonigrique&f=false
degenerescência tapeto-retiniana	tapeto retinal degeneration	dégénérescence tapéto-rétinienne		Altération de nature héréditaire de la couche constituée de pigments au niveau de la rétine.	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/degenerescence-tapeto-retinienne
desnaturação	denaturation	dénaturation		Processus qui consiste à séparer les deux brins complémentaires d'une molécule d'ADN en l'exposant à une température ou un PH élevé. C'est la rupture des liaisons hydrogènes entre les bases qui provoque cette séparation.	http://www.futura-sciences.com/fr/definition/4/biologie-4/d/denaturation_128/

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
disartria	dysarthria	dysarthrie		Trouble de l'expression du langage oral dû au trouble de l'articulation qui peut être pyramidal, extra-pyramidal, cérébelleux ou lié à une atteinte périphérique neurogène ou myogène des muscles articulaires.	http://gdt.oqlf.gouv.qc.ca/ficheOqlf.aspx?Id_Fiche=17029206
disfagia	dysphagia	dysphagie		Sensation de gêne plus ou moins douloureuse se produisant au moment de la déglutition ou du transit œsophagien des aliments.	http://www.cnrtl.fr/definition/dysphagie
distrofia miotónica	myotonic distrophy	dystrophie myotonique		Maladie génétique qui atteint principalement les muscles, entraînant une difficulté au relâchement musculaire après la contraction (myotonie) et un affaiblissement musculaire progressif. La maladie peut se révéler à tous les âges de la vie, et sa gravité est extrêmement variable d'un malade à l'autre.	http://www.integrascal.fr/fichemaladie.php?id=103
doença de Machado-Joseph	Machado-Joseph disease	maladie de Machado-Joseph		Affection neurodégénérative du système nerveux central et périphérique, transmise selon le mode autosomique dominant: la présence d'un seul allèle muté entraîne l'apparition du phénotype malade. Au niveau clinique, les patients présentent une ataxie, une dystonie, une perturbation du mouvement des yeux, une perte sensorielle et une faiblesse musculaire. La maladie est d'évolution progressive, plus rapide dans les formes juvéniles, et s'exprime avec une grande variabilité phénotypique, y compris à l'intérieur d'une même famille.	Introduction biologique à la psychologie (2005) J.C. Orsini et J.Pellet
doença neurodegenerativa	neurodegenerative disease	maladie neurodégénérative		Pathologie progressive qui affecte le cerveau ou plus globalement le système nerveux, entraînant la détérioration de certaines cellules nerveuses (neurones) pouvant aboutir à leur mort.	Adaptée de http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/medecine-2/d/maladie-neurodegenerative_12214/ - http://www.savoirs.essonne.fr/sections/glossaire/word/maladie-neurodegenerative/?preserve=1&cHash=b222ee3951a12b02b95e248500085d18
domínio Josefina	Josephin domain	domaine Josephin		Domaine monomérique qui a une conformation globulaire et possède une activité de déubiquitylation.	https://papyrus.bib.umontreal.ca/jspui/bitstream/1866/6603/1/Azakir_Bilal_Ahmad_2008_these.pdf
eferência	eference	efférence		Axon atteignant une structure.	"Programmation génétique, comportement et cognition en psychiatrie" (2006) Dominique Campion
electroferograma	electropherogram	électrophorégramme		Courbe retraçant le fractionnement d'un échantillon par électrophorèse.	http://www.amf-france.org/DocDoif/txtint/VisasPdf/2010/2010-023900.pdf
enzima desubiquitinante	deubiquitination enzyme	enzyme de déubiquitination	DUBs	Protéases qui protègent les molécules de la dégradation par le protéasome.	http://www.jle.com/e-docs/00/04/34/5F/vers_alt/VersionPDF.pdf
epilepsia mioclónica	myoclonic epilepsy	épilepsie myoclonique		Elle comporte des secousses massives des membres supérieurs nommées myoclonies pouvant être associées à des crises convulsives avec raideur, secousses généralisées rapides, chute et perte de connaissance, nommées crises tonico-cloniques généralisées, ou à des absences. L'évolution est favorable avec le traitement, mais il y a un risque important de rechute à l'arrêt du traitement, même après plusieurs années sans secousses.	Adaptée de: http://www.epilepsie-france.com/index.php/comprendre/les-syndromes-epileptiques/epilepsie-myoclonique-juvenile.html
esclerose lateral amyotrophique	amyotrophic lateral sclerosis	sclérose latérale amyotrophique	SLA	Maladie neuro-dégénérative atteignant les cellules nerveuses appelées motoneurons (MN) situées dans le cerveau (MNC), le bulbe rachidien, la moelle épinière (MNP).	http://sla-pratique.fr/maladie-recherche-perspectives/la-SLA-sclerose-laterale-amyotrophique.html
espaticidade	spasticity	spasticité		Exagération du tonus musculaire (hypertonie) d'un muscle au repos qui se manifeste par une augmentation progressive de la résistance du muscle lorsqu'il est étiré.	http://www.afm-telethon.fr/glossary/?tr=S&idp=1
exonuclease	exonuclease	exonucléase		Enzyme hydrolysant l'extrémité d'une molécule d'ADN ou d'ARN.	http://dico-sciences-animales.cirad.fr/liste-mots.php?fiche=10925&def=exonuc1%C3%A9ase
fasciculação	fasciculation	fasciculation		Contraction involontaire de quelques faisceaux musculaires, par hyperexcitabilité nerveuse des cellules musculaires concernées.	http://www.meilleure-mutuelle.fr/lexique-sante/glossaire/0000002398.htm
fase REM	REM phase	phase REM		C'est le moment des rêves où les ondes émises par le cerveau sont rapides, le visage s'anime, la respiration devient irrégulière comme si l'on allait s'éveiller, alors que paradoxalement le sommeil à ce stade est très profond. Il associe des signes de sommeil profond (atonie musculaire, seuils d'éveil élevés) et des signes d'éveil (EEG rapides, mouvements oculaires, respiration irrégulière). Celle-ci correspond à 25% de notre temps de sommeil total.	http://www.solvital.fr/sommeil/le-sommeil-paradoxal.php

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
feixe cortico-espinal	corticospinal tract	faisceau cortico-spinal		Il désigne les axones moteurs cortico-spinaux qui transmettent la commande motrice du cortex cérébral jusqu'aux motoneurones et interneurones de la corne antérieure de la moelle épinière. Celui-ci rassemble dans le centre ovale, puis gagne la capsule interne, le pied du pédoncule cérébral, décuise à la partie basse des pyramides bulbaires et descend ensuite dans les cordons antéro-latéraux de la moelle. Il intervient préférentiellement dans le contrôle de la motricité volontaire.	http://kemy79inf.unblog.fr/2011/05/22/systeme-pyramidal/
feixe espino-cerebeloso	spinocerebellar tract	faisceau spino-cerebelleux		Ensemble de deux faisceaux de fibres nerveuses naissant dans les cordons antéro-latéraux de la moelle se terminant de façon directe ou indirecte au niveau du cervelet (Ils y véhiculent des informations sensitives).	http://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/spino-c%3%A9r%3%A9belleux_spino-c%3%A9r%3%A9belleuse/74217
feixe longitudinal médio	longitudinal medium tract	faisceau longitudinal médial	FLM	Il débute dans la partie supérieure du mésencéphale pour se terminer dans la moelle épinière (voies extrapyramidales) en connectant de nombreux noyaux du tronc cérébral.	http://www.vetopsy.fr/anat/neuro/encephale/tronc/long_med.php
feixe retículo-espinal	reticulospinal tract	faisceau réticulo-spinal		Efférence de fibres myélinisées issues des formations réticulées bulbopontiques, cheminant dans le cordon antérolatéral de la moelle.	http://dictionnaire.academie-medicine.fr/?q=os&page=94
fisostigmina	physostigmine	physostigmine		Alcoïdoïde de la fève de Calabar, extrêmement toxique, inhibiteur de la cholinestérase.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
formamida	formamide	formamide		Il s'agit d'un amide provenant de l'acide formique. À température ambiante, il se présente comme un liquide incolore proche de la consistance de la glycérine. C'est un solvant hygroscopique et un réducteur d'odeur proche de celle de l'ammoniac. Il peut se transformer en acide cyanhydrique s'il est soumis à des températures supérieures à 90 °C. À des températures supérieures à 200 °C, celui-ci se transforme en acide cyanhydrique, ammoniac, monoxyde de carbone et eau.	http://fr-rwan.finanzalarm.com/details/Formamide.html
gânglios raquidianos	dorsal root ganglion	ganglions rachidiens		Ganglions sensitifs segmentaires de la moelle épinière: contiennent les neurones de premier ordre de la voie des colonnes dorsales-lemnisque médian et de la voie spino-thalamique.	http://books.google.fr/books?id=UozoUgph8RMC&pg=PA781&lpg=PA781&dq=%22ganglions+rachidiens%22+glossaire&source=bl&ots=NamR9kndho&sig=9RZN0wzUJTqK9bLThCrsw7DMOhQ&hl=fr&sa=X&ei=kVcQUd6oHi2hQfjkoDQDw&ved=0CF0Q6AEwCDGU#v=onepage&q=%22ganglions%20rachidiens%22%20glossaire&f=false
hidroxitriptofano	Hydroxytryptophan	hydroxytryptophane	5-HTP	Acide aminé présent en abondance dans les cellules argentaffines du grêle et du cortex cérébral, formé par hydroxylation en 5 du tryptophane. Celui-ci est le précurseur de la sérotonine (par decarboxylation).	Dictionnaire de médecine Flammarion (2008) sous la direction de Serge Kernbaum
hiperreflexia	hypereflexia	hyperréflexie		Exagération des réflexes.	http://www.inrs-mp.fr/mp/cgi-bin/popup.pl?cfg=glossaire&doc=134&def=
iniciador	primer	amorce		Courte séquence d'ADN ou d'ARN complémentaire du début d'une matrice servant de point de départ à son copiage pour une polymérase.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
L-dopa	L-dopa	L-dopa		Précurseur direct de la dopamine, cet acide aminé passe la barrière hémato-encéphalique et est transformé au niveau cérébral en dopamine, venant compenser le déficit en dopamine, caractérisant la maladie de Parkinson.	http://sante.lefigaro.fr/sante/traitement/antiparkinsoniens-dopa/definition
ligação fosfodiéster	phosphodiester bond	liaison phosphodiester		Elle lie un groupe phosphate et les deux carbones 3 et 5 de deux molécules de sucre par deux liaisons ester.	http://www.voirlescience.fr/index.php?cat=0201&art=44
locus (Plur: loci)	Locus (plur: loci)	locus (Plur: loci)		Emplacement précis d'un gène sur un chromosome.	http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/genetique-2/d/locus_186/
locus coeruleus	locus coeruleus	locus caeruleus		Noyau du cerveau impliqué principalement dans les phénomènes de peur et d'anxiété et dans l'alternance veille-sommeil.	http://www.enfant-encyclopedie.com/Pages/PDF/Glossaire_Cerveau_LC.pdf
locus niger	locus niger	locus niger		Lame de substance grise située dans une zone du système nerveux central appelée le pédoncule cérébral. Cette zone qui sépare les couches supérieures et inférieures de substance blanche à ce niveau est constituée de neurones qui interviennent dans la régulation des mouvements automatiques.	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/locus-niger
marcador genético	genetic marker	marqueur génétique		Séquence polymorphe d'ADN facilement détectable, utilisée en cartographie génétique afin de "baliser" le génome. Sa détection peut s'effectuer par hybridation avec une sonde complémentaire ou par son expression phénotypique.	Adaptée de: http://www.aquaportail.com/definition-5076-marqueur-genetique.html - http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p210/TD_genet_humaine_MUCO_2012.pdf

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
metilação do ADN	DNA methylation	méthylation de l'ADN		Type de modification chimique de l'ADN, contrôlant l'expression des gènes, le destin des cellules, et qui a lieu de façon stable à chaque cycle de division cellulaire, mais qui ne change pas la séquence d'ADN sous-jacente de l'organisme. Celle-ci agit en modifiant l'expression d'un produit des gènes, habituellement une protéine, faisant en sorte que les cellules présentent des caractéristiques différentes bien qu'elles contiennent le même matériel génétique.	Adaptée de: http://www.enfant-encyclopedie.com/Pages/PDF/Glossaire_Cerveau_M_ADN.pdf - http://www.canceropole-gso.org/download/fichiers/2386/Methylation-D%C3%A9methyl-ADN-14-18-sept-2013.pdf
metilguanósina	methylguanosine	méthylguanosine		Il s'agit de la méthylation de la guanosine c'est à dire, l'addition d'un ou plusieurs groupements méthyl sur la base ou le sucre.	Adaptée de : http://melanie.rayna-web.fr/dossiers/TIG2007_modifications_Carbon.pdf
monaminérgico	monoaminergic	monoaminergique		Se dit de neurones contenant une monamine (comme la dopamine, la noradrénaline et la sérotonine) qui sert de neurotransmetteur.	http://books.google.fr/books?id=FvlnAQAAIAAJ&q=%22systeme+monoaminergique%22+glossaire&dq=%22systeme+monoaminergique%22+glossaire&hl=fr&sa=X&ei=plYRUBTWD907hAe1kYDYCQ&ved=0CDEQ6AEwAA
nistagmo horizontal	horizontal nystagmus	nystagmus horizontal		Mouvements oscillatoires involontaires et saccadés des yeux dus à une lésion dès la naissance des centres nerveux.	http://www.vulgaris-medical.com/encyclopedie-medicale/wernick-encephalopathie-alcoolique-de#node_encyclopedie_full_group_symptomes
núcleo dentelê	dentatus nucleus	noyau dentelê		Noyau gris central du cervelet annexé aux formations et voies du néocervelet.	Dictionnaire médical (2009) Jacques Quevauilliers, Alexandre Somogyi et Abe Fingerhut
núcleo pântico	pontine nucleus	noyau pontique		Principal relais de la sensibilité tactile épicrotique ou discriminative et de la sensibilité proprioceptive.	http://www.vetopsy.fr/anat/neuro/nerfs_cran/5_trijum1.php
núcleo subtalâmico	subthalamic nucleus	noyau subthalamique		Noyau gris situé dans la région subthalamique postéro-latérale, en étroite connexion avec le pallidum.	http://savoir.fr/anatomie-subthalamus
núcleo vermelho	red nucleus	noyau rouge		Chacune des deux masses ovoïdes de substance grise, situées dans la partie supérieure de la formation réticulaire.	Dictionnaire médical (2009) Jacques Quevauilliers, Alexandre Somogyi et Abe Fingerhut
núcleo vestibular	vestibular nucleus	noyau vestibulaire		Chacun des noyaux gris situés sous le plancher du quatrième ventricule, au niveau de l'aile blanche externe. Ils sont aux nombres de quatre: le noyau latéral, le noyau supérieur, le noyau médial et le noyau inférieur. Ils reçoivent les fibres du nerf vestibulaire.	Dictionnaire médical (2009) Jacques Quevauilliers, Alexandre Somogyi et Abe Fingerhut
nucleótid	nucleotide	nucléotide		Élément constitutif des acides nucléiques ADN et ARN et est composé d'une base, d'un sucre et d'un phosphate.	http://www.lanutrition.fr/bien-comprendre/glossaire/nucleotide.html
oftalmoparesia	ophthalmoplegia	ophtalmoplégie		Paralysie d'un ou plusieurs muscles oculaires.	http://www.cliniquedelavision.com/glossaire
oftalmoparesia externa progressiva	progressive nuclear ophthalmoplegia	ophtalmoplégie externe progressive		Paralysie des muscles extrinsèques de l'oeil et du releveur de la paupière.	http://books.google.fr/books?id=Fq9ns6U4-AcC&pg=PA195&dq=ophtalmopl%C3%A9gie+glossaire&hl=fr&sa=X&ei
oftalmoparésia supranuclear	supranuclear ophthalmoplegia	ophtalmoplégie supranucléaire		Maladie provoquant des lésions qui consistent en des altérations neuronales avec dégénérescence neurofibrillaire intéressant le striatum, la formation réticulée du tronc cérébral, la substance noire et les noyaux des nerfs crâniens. Ces lésions affectent progressivement l'équilibre, la vue, la mobilité, la déglutition, la parole, et d'une manière plus générale, les mouvements effectués dans le plan sagittal.	Adaptée de: http://www.clinisciences.com/lire/1329-fr-Pathologies_du_cerveau.html
oftalmoplegia nuclear	nuclear ophthalmoplegia	ophtalmoplégie nucléaire		Elle est due à une lésion des noyaux des nerfs oculomoteurs par atteinte pédonculaire.	Dictionnaire médical (2009) Jacques Quevauilliers, Alexandre Somogyi et Abe Fingerhut
oliva bulbar	bulbar olive	olive bulbaire		Éminence arrondie à la partie supérieure des pyramides bulbaires correspondant à chacun des deux noyaux gris olivaires du bulbe, en connexion avec les voies vestibulaires et cérébelleuses.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauilliers
pálido	pallium	pallium		Couche périphérique du cerveau constituée de substance grise.	Dictionnaire illustré des termes de médecine (2009) Garnier Delamare
pedúnculo cerebeloso	cerebellar peduncle	pédoncule cérébelleux		Trois ensembles de faisceaux appariés du cerveau postérieur (supérieur, moyen et inférieur), reliant le cervelet respectivement au cerveau moyen, à la protubérance annulaire et au bulbe rachidien.	Dorland dictionnaire médical bilingue français-anglais/anglais-francais (2009) sous la coordination de François Maniez
pequena ribonucleoproteína nuclear	small nuclear ribonucleoprotein	petite ribonucléoprotéine nucléaire	RNPsc	Complexes mixtes entre des petits ARN nucléaires et des protéines qui permettent l'épissage des ARNm dans le noyau.	http://www.lookformedical.com/definitions.php?q=Petite+Particule+Nuc%C3%A9aire+Ribonucl%C3%A9oprot%C3%A9ique+U1&lang=4

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
poliadenilação	polyadenylation	polyadénylation		Modification post-transcriptionnelle par une poly-A polymérase consistant en l'ajout d'une chaîne de 100 à 200 acides adényliques appelée queue poly-A à l'extrémité β d'un ARN pré-messager, chez les eucaryotes.	http://www.aquaportail.com/definition-12655-polyadenylation.html
poliglutamina	polyglutamin	polyglutamine	polyQ	Enchaînement de glutamine dû à une expansion de triplet CAG.	Adaptée de http://www.afm-telethon.fr/glossary/?tr=M
polimorfismo	polymorphism	polymorphisme		Caractéristique d'une population possédant au moins deux phénotypes (donc au moins trois génotypes), le plus rare ayant une fréquence supérieure à 1 pour cent.	Dictionnaire de médecine Flammarion (2008) sous la direction de Serge Kernbaum
potencial evocado visual	visual evoked potentia	potentiel évoqué visuel	PEV	Enregistrement des modifications de l'activité cérébrale liées à une stimulation visuelle.	http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/medecine-2/d/potentiels-evoques-visuels_8644/
precursor serotoninérgico	serotonic precursor	précurseur sérotoninergique		Élément libérant de la sérotonine, qui précède dans le développement d'une cellule, la synthèse d'un corps chimique.	Adaptée de: Dictionnaire illustré des termes de médecine (2009) Garnier Delamare
reação em cadeia da polimerase	PCR	PCR		Méthode d'amplification <i>in vitro</i> élective d'une séquence d'ADN double brin, par extension itérative de deux amorces, situées de part et d'autre de la région considérée, grâce à une ADN polymérase. Elle est effectuée par la répétition de cycles de dénaturation /hybridation/ extension assurant une duplication exponentielle.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
remoção de intrões	splicing	épissage		Mécanisme permettant à un ARN transcrit à partir d'un gène de se débarrasser des séquences introniques pour donner de l'ARN messager (qui sera ensuite traduit en protéine).	http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/genetique-2/d/epissage_139/
ride	ride	raphé		Ligne de réunion formée par l'entrecroisement de fibres musculaires tendineuses ou nerveuses provenant de deux structures anatomiques symétriques dont les noyaux contrôlent l'éveil et le sommeil.	http://www.informationhospitaliere.com/pharma-10319-raphe.html
sequência consenso	consensus sequence	séquence consensus		Séquence idéalisée d'une région donnée d'un acide nucléique ou d'une protéine dans laquelle chaque position représente la base ou l'acide aminé rencontré le plus fréquemment.	http://www.termssciences.fr/-/Index/Rechercher/Rapide/Naviguer/Arbre/?idt=TE.72526&lng=fr&aGrilleRapide=selectionner
sequência	sequence	séquence		Suite, dans un ordre prédéterminé, d'un certain nombre d'éléments, de substances, impliqués dans un même processus.	Dictionnaire médical (2009) Jacques Quevauvilliers, Alexandre Somogyi et Abe Fingerhut
sequenciação	sequenciation	séquençage		Détermination de la structure d'un génome, c'est-à-dire de l'ordre exact de ses éléments constitutifs, les nucléotides.	http://www.universcience.fr/fr/lexique/definition/c/1248117915807/-/p/1239022830869/
síntese protéica	protein synthesis	synthèse protéique		Acte par lequel une cellule assemble une chaîne protéique en combinant des acides aminés isolés présents dans son cytoplasme, guidé par l'information contenue dans l'ADN. Elle se déroule en deux étapes au moins : la transcription de l'ADN en ARN messager et la traduction de l'ARN messager en une protéine.	http://www.infirmiers.com/etudiants-en-ifsi/cours/cours-ifsi-biologie-fondamentale-les-proteines-partie-1.html
sistema HLA	HLA system	système HLA		Carte d'identité génétique tissulaire d'un individu, héritée pour partie de son père et de sa mère, se situant à la surface des cellules et qui participe aux mécanismes de défense immunitaire.	Adaptée de: http://www.savoirs.essonne.fr/sections/glossaire/word/hla-systeme-antigenes/?preserve=1&cHash=6d011edf7b23d6822cf0ee88836138dd_-http://www.dondemoelleosseuse.fr/lexique/
sistema reticular	reticular system	système réticulaire		Réseau dense de cellules nerveuses disposé le long du tronc cérébral, allant de la région bulbaire basse jusqu'à l'hypothalamus latéral et postérieur.	http://sante-guerir.notrefamille.com/v2/services-sante/article-sante.asp?id_guerir=9252
sobrenadante	pellet	culot	culot	Partie solide présente au fond du tube après centrifugation.	http://e-sante.futura-sciences.com/forum/ethanol-solubilisation-eau.html
spliceossoma	spliceosome	splicéosome		Assemblage de protéines permettant l'épissage des transcrits primaires d'ARNm.	Dictionnaire de médecine Flammarion (2008) sous la direction de Serge Kernbaum
sulfametoxazol	sulfametoxazol	sulfamétoazole		Famille d'antibiotiques bactériostatiques à large spectre.	http://dico-sciences-animales.cirad.fr/liste-mots_nbr/?fiche=76200&def=sulfamides%2Frim%3%20A9hoorime
terminação serotoninérgica	serotonergic terminal	terminaison sérotoninergique		Elles expriment des récepteurs alpha 2 adrénergiques (appelés hétérorécepteurs) qui, lorsque stimulés par la noradréline, inhibent la libération axonale de sérotonine.	http://books.google.fr/books?id=x7VsTydOTgUC&pg=PA217&lpg=PA217&dq=%22terminaisons+serotoninergiques%22&source=bl&ots=I3wKzqKFlg&sig=Vf0QmTlf67le5OQPSOd13vu-LA&hl=fr&sa=X&ei=fQRUzaVMIO2hAeGkICICA&ved=0CDgQ6AEwAg#v=onepage&q=%22terminaisons%20serotoninergiques%22&f=false
teste preditivo	predictive test	test prédictif		Visé à prouver qu'un individu sain est porteur d'une mutation qui le destine à développer une affection génétique à début retardé.	Génétique médicale (2007) Read Donnaï

TERMO PORTUGUÊS	TERMO INGLÊS	TERMO FRANCÊS	SIGLA	DEFINIÇÃO	FONTE
test de Wilcoxon	Wilcoxon test	test de Wilcoxon		Test utilisé lorsqu'il faut décider si 2 groupes indépendants sont issus de la même population. Les groupes peuvent avoir des nombres d'observations différents.	http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/?module=tests/mann
tracto	tract	tractus		Filament ou faisceau de fibres qui se trouvent à la surface ou dans l'épaisseur d'une partie de l'organisme.	Dictionnaire illustré des termes de médecine (2009) Garnier Delamare
tracto polimorfo	polymorphic tract	séquence polymorphe		Caractéristiques de la molécule d'ADN dont certaines régions diffèrent normalement entre les individus. Ces différences peuvent expliquer nos différences d'aspects et de caractères.	http://www.genopole.fr/Polymorphisme-sequences.html
transmissão autossômico dominante	autosomal dominant transmission	transmission autossomique dominante	AD	Désignation utilisée lorsque l'allèle morbide de la maladie génétique (version "malade", mutée du gène en cause) est sur un chromosome non sexuel (ni X, ni Y) et lorsque la présence d'un seul allèle morbide est suffisante pour que la maladie s'exprime.	Adaptée de http://www.solidarite-verneuil.org/la-maladie-de-verneuil/glossaire?id=21
trimetoprim	trimethopim	triméthoprim		Famille d'antibiotiques bactériostatiques à large spectre.	http://dico-sciences-animales.cirad.fr/liste-mots.php?fiche=26200&def=sulfamides%2Frim%C3%A9thoprim
tripleto	triplet	triplet		En génétique moléculaire, unité de trois bases successives dans la molécule d'ADN ou d'ARN, qui code pour un acide aminé spécifique.	Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
tripleto CAG	CAG triplet	triplet CAG		Composé de trois nucléotides, il code l'acide aminé glutamine. Une expansion de triplet CAG donne un enchaînement de glutamine appelé polyglutamine.	Adaptée de: http://www.intellego.fr/index.php?PageID=print-document&document=14747
ubiquitina	ubiquitin	ubiquitine		Polypeptide formé de 76 résidus d'acide aminé bien conservée chez les eucaryotes.	http://books.google.fr/books?id=YL7VPSZPXJAC&pg=PA305&dq=ubiquitine+est+une+prot%C3%A9ine&source=bl&ots=Un3P7pSfyo&sig=TTb1D1XW
vago	vagus	vague		Nerf constituant la dixième paire crânienne couvrant un territoire étendu dans l'organisme. Il y transporte des informations motrices, sensibles, et sensorielles et consitue au sein du système parasympathique, la principale innervation du cœur.	Adaptée de: http://www.futura-sciences.com/fr/definition/t/medecine-2/d/nerf-vague_11240/ - Dictionnaire médical avec atlas anatomique (2009) Jacques Quevauvilliers
vermis cerebeloso	cerebellar vermis	vermis cérébelleux		Partie centrale médiane et impaire du cervelet.	http://savoir.fr/anatomie-vermis-cerebelleux#definition
via proteossoma das ubiquitinas.	ubiquitin-proteasome pathway	voie ubiquitine-protéasome	APC	Endroit où les protéines marquées pour la dégradation sont attachées covalamment à un grand nombre de molécules d'ubiquitine par un système multi-enzymatique.	adaptée de: http://ead.univ-angers.fr/~jaspard/Page2/COURS/Zsuite/3BiochMetab/7Ubiquitinylation/1Ubiquitinylation.htm
vortex	vortex	vortex		Matériel utilisé en biologie moléculaire pour mélanger des solutions, notamment dans des microtubes ou pour la dissociation des amas cellulaires avant comptage sur lames de numération.	Adaptée de: http://fr.wikipedia.org/wiki/Vortex_(biologie_mol%C3%A9culaire) http://www.jeuilin.fr/fr/a-a1053350-edc100003/article/70144184-Agitateur-à-Vortex.html#UTMSource=NL9