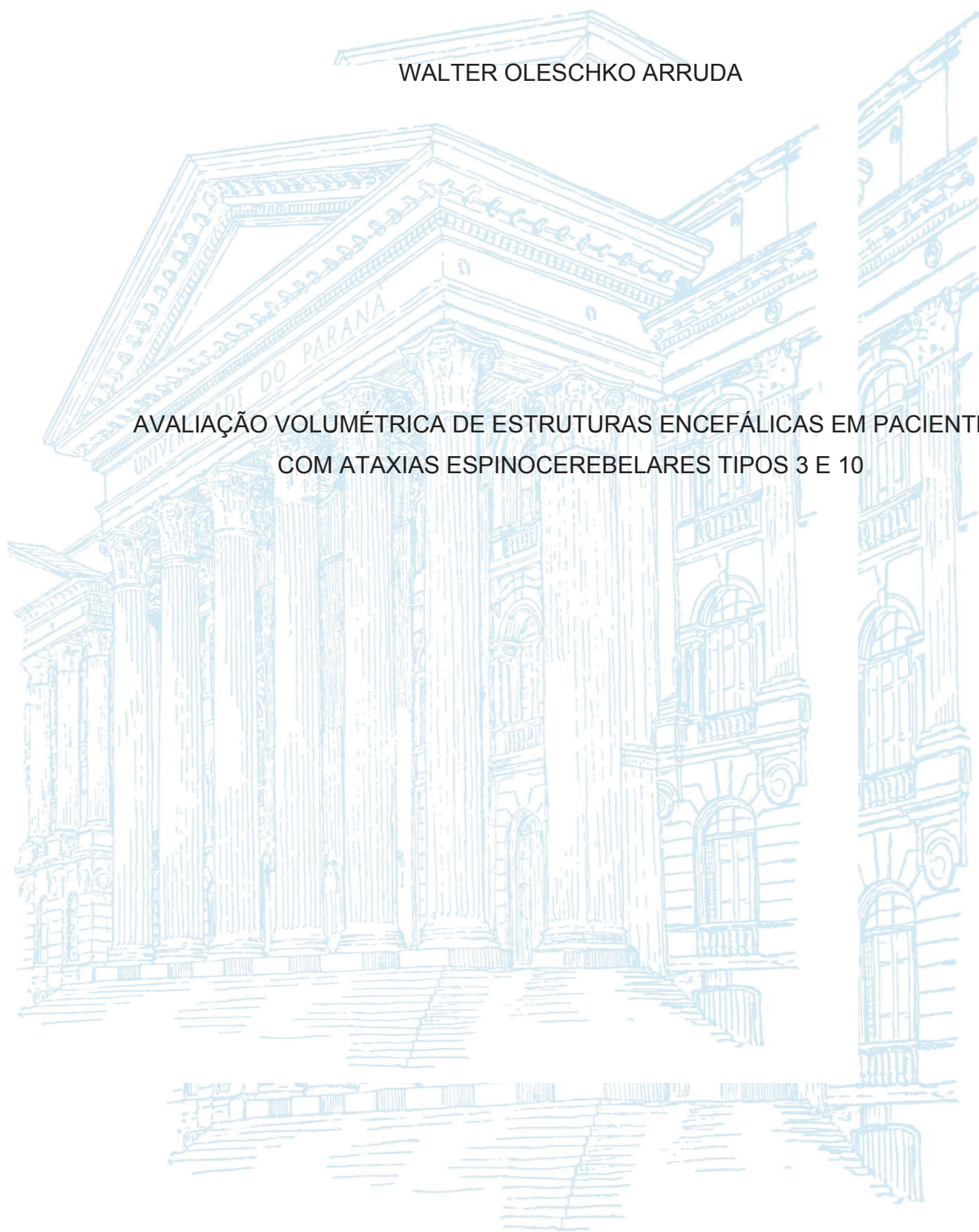


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

WALTER OLESCHKO ARRUDA

AVALIAÇÃO VOLUMÉTRICA DE ESTRUTURAS ENCEFÁLICAS EM PACIENTES  
COM ATAXIAS ESPINOCEREBELARES TIPOS 3 E 10



CURITIBA

2019

WALTER OLESCHKO ARRUDA

AVALIAÇÃO VOLUMÉTRICA DE ESTRUTURAS ENCEFÁLICAS EM PACIENTES  
COM ATAXIAS ESPINOCEREBELARES TIPOS 3 E 10

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Medicina Interna, curso de Pós-Graduação em Medicina Interna e Ciências da Saúde, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Hélio A. G. Teive

Co-orientador: Prof. Dr. Arnolfo de Carvalho Neto

CURITIBA

2019

A779 Arruda, Walter Oleschko

Avaliação volumétrica de estruturas encefálicas em pacientes com ataxias espinocerebelares tipos 3 e 10 [recurso eletrônico] / Walter Oleschko Arruda. – Curitiba, 2019.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Teive, Hélio Afonso Ghizoni  
Coorientador: Carvalho Neto, Arnolfo de

1. Doença de Machado-Joseph. 2. Imagem por ressonância magnética. 3. Substância cinzenta. I. Teive, Hélio Afonso Ghizoni. II. Carvalho Neto, Arnolfo de. III. Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

NLM: WL 320



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO MEDICINA INTERNA E  
CIÊNCIAS DA SAÚDE - 40001016012P1

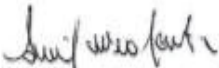
## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em MEDICINA INTERNA E CIÊNCIAS DA SAÚDE da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **WALTER OLESCHKO ARRUDA** intitulada: **AVALIAÇÃO VOLUMÉTRICA DE ESTRUTURAS ENCEFÁLICAS EM PACIENTES COM ATAXIA ESPINOCEREBELARES TIPOS 3 E 10**, sob orientação do Prof. Dr. HÉLIO AFONSO GHIZONI TEIVE, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 13 de Dezembro de 2019.

  
HÉLIO AFONSO GHIZONI TEIVE  
Presidente da Banca Examinadora

  
SALMO RASKIN  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE POSITIVO)

  
SIMONE CARREIRO VIEIRA KARUTA  
Avaliador Externo (HOSPITAL PEQUENO PRINCIPE)

  
FERNANDO SPINA TENSINI  
Avaliador Externo (COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS)

  
DANTE LUIZ ESCUSSATO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho aos meus pais, Monika Oleschko Arruda e Hercílio de Moura

Arruda (*in memoriam*).

Dedico este trabalho ao meu filho Christian Cardoso Arruda.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Hélio Afonso Ghizoni Teive, Professor Associado de Neurologia, amigo de longa data, pelo seu inestimável apoio, incentivo e orientação que possibilitaram a realização desta tese.

Ao Departamento de Clínica Médica do Hospital de Clínicas da UFPR e à direção do Hospital de Clínicas da UFPR, pelo apoio e incentivo.

Ao Professor Lineu C. Werneck, Professor Titular de Neurologia da UFPR, pelo seu estímulo e ensinamentos desde meu ingresso na Neurologia.

Ao Dr. Sérgio Eiji Ono, pelo apoio e empenho na realização dos exames de ressonância magnética e aplicação das técnicas de volumetria, avaliação e interpretação dos resultados.

À Luciana Venâncio (in memoriam), secretária do DAPI, pelo seu inestimável auxílio e simpatia no agendamento e orientação aos pacientes para a realização dos exames de ressonância magnética.

Ao Professor Arnolfo de Carvalho Neto, Professor Associado de Radiologia, UFPR, amigo e colega de turma, pelo incentivo e apoio.

Ao Professor Salmo Raskin, Professor de Genética da PUC-PR, pela expressiva ajuda na realização dos testes genéticos e encaminhamento dos pacientes.

Ao Dr. Alex T. Meira, Professor Assistente de Neurologia da UNIFACISA, colega e amigo, pelo incansável apoio, auxílio e estímulo.

Ao Prof. Dr. Carlos Henrique F. Camargo, Grupo de Doenças Neurológicas, Programa de Pós-graduação em Medicina Interna, Departamento de Medicina Interna, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, pelo incentivo constante e preciosa orientação.

Aos colegas e professores Adriana Moro, Carlos E.S. Silvado, Cláudia Kamoy Kay, Edison Matos Nývák, Élcio J. Piovesan, Francisco Germiniani, Marcos Lange, Mariana Moscovich, Paulo Lorenzoni, Pedro A. Kowacs, Renato Puppi Munhoz,

Rosana H. Scola, Sérgio M. de Almeida, Simone Karuta, e Viviane F. Zétola, pela amizade e apoio constantes.

Aos Médicos Residentes de Neurologia do Hospital de Clínicas da UFPR, pelo atendimento aos pacientes e ajuda na investigação das ataxias espinocerebelares.

A todos os pacientes com ataxia espinocerebelar tipos 3 e 10, que contribuíram para a realização desta pesquisa.

Aos indivíduos voluntários que constituíram os grupos controle.

## RESUMO

As ataxias espinocerebelares tipo 3 (AEC 3) e tipo 10 (AEC 10) são os dois tipos mais prevalentes no sul do Brasil. Este estudo teve como objetivo descrever e analisar as alterações volumétricas por imagem por ressonância magnética (RM) e possíveis correlações com achados clínicos e genéticos de pacientes com AEC 3 e AEC 10. Dados demográficos, gravidade da ataxia (SARA) e expansões dos genes afetados (CAGn e ATTCTn) foram avaliados. Dezenove pacientes com AEC 3 (8 mulheres, idade média  $46,04 \pm 12,49$  anos; idade média de início da doença  $34,21 \pm 8,3$  anos) e 18 pacientes com AEC 10 (10 mulheres; idade média  $46,43 \pm 8,04$  anos; idade média de início da doença  $32,72 \pm 8,51$  anos) foram comparados com grupo controle de 37 indivíduos pareados por sexo e idade. Dados morfométricos (espessura cortical e volumes subcorticais) foram extraídos através do programa *FreeSurfer* (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Observou-se uma correlação positiva significativa entre a duração da doença (anos) e o escore SARA em ambos grupos (AEC 3 ( $\rho = 0.872$ ;  $p < 0.001$ ); AEC 10 ( $\rho = 0.590$ ,  $p = 0.005$ ). Não houve correlação entre o número de expansões (CAGn e ATTCTn) e a idade de início da doença em pacientes AEC 3 ( $p = 0,872$ ) e AEC 10 ( $p=0.590$ ). No grupo AEC 3 detectou-se uma redução volumétrica significativa no cerebelo, gânglios da base, diencéfalo e substância cinzenta total e subcortical. Redução significativa da espessura cortical foi constatada nos giros frontal caudal médio, temporal médio, *pars triangularis*, e polo temporal. No grupo AEC 10 as alterações foram menos proeminentes, com reduções volumétricas restritas ao cerebelo e globos pálidos. Quarto ventrículo e ventrículo lateral direito apresentaram aumento das suas dimensões. Redução da espessura cortical foram restritas aos giros lingual, orbitofrontal médio, parahipocampais, giro do cíngulo rostral anterior e polo frontal. Os pacientes com AEC 3 apresentaram maior número de alterações volumétricas em várias estruturas corticais e subcorticais do encéfalo do que os pacientes com AEC 10, que apresentaram alterações de neuroimagem menos acentuadas, compatíveis com o fenótipo da doença (“ataxia cerebelar pura”).

**Palavras-chave:** ataxia espinocerebelar tipo 3, ataxia espinocerebelar tipo 10, *Freesurfer*, substância cinzenta, imagem por ressonância magnética

## ABSTRACT

SCA3 and SCA10 are very prevalent in southern Brazil. The authors conducted a comparative statistical analysis of neuroimaging using the software *FreeSurfer* (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>) which allows surface-based morphometry, cross-sectional evaluation of SCA3, SCA10, and healthy controls. Cortical thickness and subcortical volumes were analyzed. Nineteen patients with SCA3 and 18 patients with SCA10 were compared to a control group of 37 patients. Demographic data, ataxia severity scale (SARA), and expansion of the affected genes (CAGn and ATTCTn) was evaluated. Nineteen patients with SCA3 (8 females, mean age  $46.04 \pm 12.49$  years-old, mean age at onset of symptoms  $34.21 \pm 8.38$ ) and eighteen patients with SCA10 (10 females, mean age  $46.43 \pm 8.04$  years-old, mean age at onset of symptoms  $32.72 \pm 8.51$  years-old). Both groups presented a positive correlation between disease duration and SARA score: (SCA3 ( $\rho = 0.872$ ;  $p < 0.001$ ); SCA 10 ( $\rho = 0.590$ ,  $p = 0.005$ ). There was no correlation between the number of expansions (CAGn and ATTCTn) and the age of onset for SCA3 ( $p = 0,872$ ) and SCA10 ( $p=0.590$ ). In SCA3, significant volumetric reduction was seen in the cerebellum, basal ganglia, brain stem, diencephalon, and total and subcortical gray matter. Cortical thickness was significantly reduced in caudal middle frontal, middle temporal, pars triangularis, and temporal pole. In SCA10, the findings were much less prominent with volume reduction in the cerebellum and right pallidum. Fourth ventricle and right lateral ventricle were significantly larger. Reduced cortical thickness was restricted to lingual, middle orbitofrontal, Para hippocampal, rostral anterior cingulate, and frontal pole. The volumetric changes were much more prevalent in the SCA3 than in SCA10 patients, in keeping with a more widespread encephalic involvement in this form of SCA. This observation may reflect the greater phenotypic presentation seen in SCA3 patients, in comparison with SCA10 patients (“pure cerebellar syndrome”).

**Key-words:** spinocerebellar ataxia 3, spinocerebellar ataxia 10, *FreeSurfer*, gray matter, magnetic resonance imaging.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ataxias Espinocerebelares Autossômicas Dominantes .....	16
Tabela 2. Subfenótipos da AEC 3 de acordo com prevalência em um estudo brasileiro. .....	27
Tabela 3. Principais tipos de modalidades de neuroimagem disponíveis para avaliação das ataxias espinocerebelares. ....	31
Tabela 4. Principais características neurorradiológicas (NR) das neuroimagens (tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética) nas ataxias espinocerebelares (AECs).....	32
Tabela 5. Características demográficas, clínicas e genéticas dos grupos.....	56
Tabela 6. Espessura (em mm) dos giros corticais – AEC 3 .....	57
Tabela 7. Espessura (em mm) dos giros corticais – AEC 10 .....	57
Tabela 8. Volume (em mm <sup>3</sup> ) das estruturas subcorticais.- AEC 3 .....	58
Tabela 9. Volume (em mm <sup>3</sup> ) das estruturas subcorticais.- AEC 10..... .....	59
Tabela 10. Correlações do volume de regiões cerebrais e aspectos clínicos, demográficos e genéticos de pacientes com AEC 3.....	59
Tabela 11. Correlações do volume de regiões cerebrais e aspectos clínicos, demográficos e genéticos de pacientes com AEC 10 .....	60

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ataxias hereditárias degenerativas causadas por expansões de repetições em microssatélite.....66
- Figura 2.** Substância cinzenta em sobreposição às imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 para produção de representação de espessura cortical.....67
- Figura 3.** Imagens do processo de produção da representação da espessura cortical. Calculada como a distância mais próxima do limite cinza / branco) até o limite cinza / CSF em cada vértice na tecelagem da malha de vertex (*tessellated surface*).....68

## LISTA DE SIGLAS

3T	– 3 Teslas
ADRPL	– Atrofia dentatorubro-palidoluisiana
AEC	– Ataxia espinocerebelar
ATTCT	–.Pentanucleotídeo adenina-timina-timina-citosina-timina
ATTCTn	–.Expansão ATTCT
<i>ATXN3</i>	–.Gene da ataxina-3
<i>ATXN10</i>	–.Gene da ataxina 10
CAG	–.Trinucleotídeo citosina-adenina-guanina
CAGn	–.Expansão CAG
CTG	–.Trinucleotídeo citosina-timina-guanina
CTGn	–.Expansão CTG
CEP	–.Comitê de Ética em Pesquisa
DAPI	–.Diagnóstico Avançado por Imagem Ltda.
DMJ	–.Doença de Machado-Joseph
DNA	–. <i>DeoxyriboNucleic Acid</i>
DP	– Desvio-padrão
EDTA	– <i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
FLAIR	– <i>Fluid-attenuated inversion recovery</i>
GGCCTG	– Pentanucleotídeo guanina-guanina-citosina-citosina-guanina
GGCCTGn	– Expansão GGCCTG
HC	– Hospital de Clínicas
ICARS	– <i>International Cooperative Ataxia Rating Scale</i>
LCR	– Líquido cefalorraquidiano
MPRAGE	– <i>Magnetization-prepared rapid gradient-echo</i>
NA	– Não aplicável
NI	– Neuroimagem
PoliQ	– Poliglutaminas
QSM	– <i>Quantitative susceptibility mapping</i>
REM	– <i>Rapid eyes movements</i>
RM	– Ressonância magnética

SARA	– <i>Scale for the Assessment and Rating of Ataxia</i>
SB	– Substância branca
SC	– Substância cinzenta
SNM	– Sintomas não motores
SWI	– <i>Susceptibility-weighted imaging</i>
Taq	– <i>Thermus aquaticus</i>
TC	– Tomografia computadorizada
TCLE	– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	– Tempo de eco
TGGAA adenina	– Pentanucleotídeo timina-guanina-guanina-adenina-adenina
TGGAA <sub>n</sub>	– Expansão TGGAA
TR	– Tempo de repetição
UFPR	– Universidade Federal do Paraná
UTR	– <i>Untranslated Region</i>
VBM	– <i>Voxel-based morphometry</i>

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
1.1 ATAXIAS ESPINOCEREBELARES .....	15
1.1.1 Diagnóstico molecular genético das AEC.....	21
1.1.2 Ataxia espinocerebelar tipo 3 – doença de Machado-Joseph .....	22
1.1.3 Ataxia Espinocerebelar tipo 10.....	26
1.2 O USO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA INVESTIGAÇÃO DAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES .....	27
1.2.1 A Ressonância Magnética de Crânio .....	27
1.2.2 Volumetria por Ressonância Magnética .....	30
1.2.3 Ataxias Espinocerebelares e Neuroimagem por Ressonância Magnética .....	30
2.IMPORTÂNCIA E JUSTIFICATIVA DESTE ESTUDO .....	33
3. OBJETIVOS .....	34
3.1 OBJETIVO GERAL .....	34
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	34
4 ARTIGO DA TESE .....	35
4.1 CAPA (TÍTULO E AUTORES).....	35
4.2 RESUMO.....	36
4.3 INTRODUÇÃO .....	37
4.4 MÉTODOS .....	38
4.4.1 Seleção de pacientes e controles.....	38
4.4.2 Avaliação clínica.....	39
4.4.2.1 Anamnese .....	39

4.4.2.2 Avaliação e graduação da ataxia .....	39
4.4.2.3 Exames complementares .....	40
4.4.2.4 Diagnóstico genético molecular.....	40
4.4.3. Avaliação por neuroimagem.....	42
4.4.4 Análise estatística .....	43
4.5 RESULTADOS .....	44
MATERIAL SUPLEMENTAR - FIGURAS .....	53
CONCLUSÕES .....	56
REFERÊNCIAS.....	57
APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO USADO NO ESTUDO.....	69
APÊNDICE 2- PROTOCOLO DE ATENDIMENTO ÀS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES .....	74
ANEXOS .....	80
ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ENSINO E PESQUISA .....	80
ANEXO 2 – ESCALA PARA AVALIAÇÃO E GRADUAÇÃO DE ATAXIA (SARA).....	83
ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA DAPI .....	87
ANEXO 4 – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA TREMOR AND OTHER HYPERKINETIC MOVEMENTS.....	88
ANEXO 5 – ARTIGO SUBMETIDO A REVISTA THE CEREBELLUM.....	90

## 1. INTRODUÇÃO

O termo *ataxia* origina-se do grego *αταξίς* (*α* - prefixo de negação + *ταξίς* – coordenação), o que significa, *ipsis litteris*, falta de coordenação. Esse termo refere-se ao quadro sindrômico, e não à uma doença específica. Caracteriza-se pela perda de coordenação dos movimentos voluntários ao exame físico. Existem quatro tipos principais de ataxia: sensitiva (comprometimento da via da sensibilidade proprioceptiva), frontal (comprometimento do lobo frontal – via cerebello-frontal), vestibular (disfunção do sistema labiríntico, de existência controversa), e cerebelar (comprometimento do cerebello e de suas projeções aferentes e eferentes) (CAMPBELL, 2005).

A ataxia cerebelar pode ser adquirida/secundária ou de causa genética. As causas de ataxia secundária são: degenerativas, tumores, doença cerebrovascular, tóxica/metabólica, paraneoplásica, autoimune, infecciosas/pós-infecciosas, desmielinizantes ou idiopática (FAHN, JANKOVIC, 2007; KLOCKGETHER, 2007). As ataxias cerebelares genéticas, também conhecidas como familiares ou hereditárias, podem apresentar-se de forma autossômica dominante, autossômica recessiva, ligada ao X, com herança mitocondrial ou ataxias episódicas (TEIVE, ASHIZAWA, 2015). O padrão de início da doença (subagudo), idade de início e história familiar podem indicar um padrão de herança familiar específico (PAULSON, 2009).

### 1.1 ATAXIAS ESPINOCEREBELARES

As ataxias espinocerebelares (AEC) constituem um grupo de doenças autossômicas dominantes caracterizadas por ataxia progressiva decorrente da degeneração do cerebello e suas vias aferentes e eferentes (ASHISAWA T, ÖZ G, PAULSON HL, 2018; BIRD T, 1993; PAULSON HL, 2009). O prefixo AEC seguido de um número reflete a ordem cronológica da identificação do locus gênico, e é geralmente utilizado nas ataxias de herança dominante. Embora o termo AEC seja utilizado para descrever uma ampla categoria de doenças caracterizadas por degeneração espinocerebelar – incluindo formas recessivas (AEC recessivas), mitocondriopatias e mesmo casos isolados, este termo será aplicado neste trabalho somente para as formas autossômicas dominantes.

Atualmente as AEC são enumeradas de 1 a 48 e registradas na base de dados Online Mendelian Inheritance of Men (OMIM), no National Center for Biotechnology

Information (NCBI), Bethesda, MD, disponível em: <https://www.omim.org/>. (TABELA 1). Algumas formas de AEC não estão ainda claramente definidas (por exemplo, AEC 9 e AEC 33) enquanto outras apresentam locus gênicos não claramente distintos; por exemplo, AEC 15 e AEC 16; AEC 19 e AEC 22. Em geral, as AEC enquadram-se em duas grandes categorias, com base na mutação genética : AEC causadas por expansão de repetições de nucleotídeos em número acima do considerado normal para determinado gene; e AEC causadas por mutações genéticas convencionais (NIBELING EAR, et al., 2017; HANNAN AJ, 2018; RODRIGUEZ CM, TODD PK, 2019) (FIGURA 1).

Tabela 1. **Ataxias Espinocerebelares Autossômicas Dominantes (AECs)**

AEC	Gene	Localização	Genética Molecular
1	<i>ATXN1</i>	6p22	CAGn
2	<i>ATXN2</i>	12q24	CAGn
3	<i>ATXN3</i>	14q32	CAGn
4	<i>SCA4</i>	16q22	?
5	<i>β-III Spectrin</i>	11q13	Mutação
6	<i>CACNA1A</i>	19p13	CAGn
7	<i>ATXN7</i>	3p21	CAGn
8	<i>ATXN8OS</i>	13q21	CTGn
9	?	?	?
10	<i>ATXN10</i>	22q13	ATTCTn
11	<i>TTBK2</i>	15q14	Mutação
12	<i>PPP2R2B</i>	5q31	CAGn
13	<i>KCNC3</i>	19q13.33	Mutação
14	<i>PRKCG</i>	19q13.42	Mutação
15/16	<i>ITPR1</i>	3p26.1	Mutação
17	<i>TBP</i>	6q27	CAGn
18	<i>IFRD1 (?)</i>	7q22-32	Mutação
19/22	<i>KCND3</i>	1p13	Mutação
20	<i>DAGLA(?)</i>	11q12	Duplicação
21	<i>TMEM240</i>	1p36	Mutação
23	<i>PDYN</i>	20p13	Mutação
25	<i>SCA25</i>	2p15-p21	?
26	<i>EEF2</i>	19p13	Mutação
27	<i>FGF14</i>	13q33	Mutação
28	<i>AFG3L2</i>	18p11	Mutação
29	<i>ITPR1</i>	3p26.1	Mutação
30	<i>ODZ3 (?)</i>	4q34	Mutação
31	<i>BEAN</i>	16q22	TGGAA n
32	<i>SCA32</i>	7q32	?
33	?	?	?
34	<i>ELOVL4</i>	6q14	Mutação
35	<i>TGM6</i>	20p13	Mutação
36	<i>NOP56</i>	20p13	GGCCTGn
37	<i>DAB1</i>	1p32	Mutação
38	<i>ELOVL5</i>	6p12	Mutação
39	(44 genes)	11q21	Duplicação

AEC	Gene	Localização	Genética Molecular
40	<i>CCDC88C</i>	14q32	Mutação
41	<i>TRPC3</i>	4q27	Mutação
42	<i>CACNA1G</i>	17q21	Mutação
43	<i>MME</i>	3q25	Mutação
44	<i>GRM1</i>	6q24	Mutação
45	<i>FAT2</i>	5q32	Mutação
46	<i>PLD3</i>	19q13	Mutação
47	<i>PUM1</i>	1p35	Mutação
48	<i>STUB1</i>	16p13.3	Mutação
<b>ADRPL</b>	<i>ATN1</i>	12p13	CAGn

? – incerto; (?) – provável, mas ainda não confirmado; CAGn – expansão CAG; CTGn – expansão CTG; ATTCTn – expansão ATTCT; TGGAA n – expansão TGGAA; GGCCTGn – expansão GGCCTG.

Mutação: refere-se a um dos seguintes mecanismos foram encontrados: deleção, inserção, mutação sem sentido, duplicação.

AEC 24: trata-se de uma ataxia espinocerebelar autossômica recessiva, tipo 4.

FONTES: adaptada: <https://www.omim.org/>; PAULSON HL, 2009; SUN YM et al, 2016; TEIVE HAG et al, 2019.

Pode-se dividir em três as categorias genéticas das AECs:

1. Poliglutaminas (expansão do trinucleotídeo citosina-adenina-guanina - CAG): AECs 1, 2, 3, 6, 7, 12, 17, ADRPL;
2. Expansões repetidas não-codificadoras de proteínas: AECs 8, 10, 12, 31, 36;
3. Mutações convencionais (mutação pontual, substituição, mutação splicing, mutação truncada, deleção pontual ou longa, inserção, duplicação, mutação sem sentido): AECs 5, 11, 13, 14, 15/16, 18-23, 26-30, 34, 35, 37-48;
4. Desconhecidas: AECs 4, 9, 25, 30, 32 e 33 (PAULSON HL, 2009; SUN YM, et al, 2016; TEIVE HAG et al, 2019).

Algumas dessas AECs apresentam canalopatias associadas: 5, 6, 13, 15/16, 19, 27, ADRPL (HEKMAN KE, GOMEZ CM, 2015; MEERA P et al, 2016).

A atrofia dentatorubro-palidoluisiana (ADRPL) é uma doença que, apesar de não receber a denominação de AEC, é considerada parte deste grupo. Caracteriza-

se por ataxia progressiva, coreoatetose, demência, convulsões, mioclonia e distonia; é dividida em fenótipos que variam de acordo com a idade de início: antes dos 20 anos (crises epiléticas mioclônicas, predominantemente) ou após os 20 anos de idade (ataxia, disfunção cognitiva e mioclonias). Há ainda o fenótipo pseudo-Huntington. (HIRAYAMA K et al, 1981; KOIDE R et al, 1994; NAITO H, OYANAGI S, 1982)

As doenças do grupo das poliglutaminas (PoliQ) caracterizam-se pela repetição do trinucleotídeo CAG no gene codificador de uma proteína. A proteína mutada, com conformação estrutural alterada, apresenta como característica agregação e acúmulo intracelular, o que parece estar relacionado com o processo patológico da doença, que ocorre geralmente no compartimento intranuclear (PAULSON HL, 2009). É comum no grupo de doenças por poliglutaminas a antecipação genética, que consiste no aumento de repetições a cada geração, causando início mais precoce nas gerações seguintes, mais comumente através da transmissão paterna (PULST S, 2003).

O mecanismo associado às ataxias está relacionado com vulnerabilidade das células de Purkinje. Por diferentes mecanismos, ocorre degeneração dessas células com conseqüente atrofia cerebelar e, em diferentes proporções, alterações de substância branca e/ou cinzenta de diferentes regiões (HEKMAN KE, GOMEZ CM, 2015).

Os sinais e sintomas presentes na AEC vão depender da forma de acometimento cerebelar. Lesões hemisféricas são responsáveis por anormalidades do equilíbrio e da marcha, dos movimentos oculares extrínsecos, dismetria, decomposição do movimento, disdiadococinesia, tremor, disartria, hipotonia e fenômeno do rebote. Lesão do vermis cerebelar resulta em ataxia de tronco e marcha, titubação e distúrbios do movimento ocular extrínseco. Quando áreas do vestibulocerebelo são acometidas, os sintomas de desequilíbrio, vertigem e ataxia de marcha são mais proeminentes. Geralmente, as AECs evoluem de forma crônica e progressiva (ASHIZAWA T; XIA G, 2016; CAMPBELL WW, 2005). Tipicamente, os sintomas tornam-se presentes por volta dos 30 aos 50 anos de idade, de forma subaguda (LOPES-CENDES I et al, 1997).

Os principais sinais e sintomas das AECs são:

a) Cerebelares: ataxia de marcha e membros (dismetria, disdiadococinesia, tremor intencional, disartria), e nistagmo;

b) Extracerebelares: oftalmoplegia, sinais piramidais (hiperreflexia, espasticidade, sinal de Babinski), distúrbios do movimento (distonia, parkinsonismo, mioclonia, coréia), alteração da cognição, epilepsia, alterações visuais (diplopia, retinite pigmentar) ou auditivas, neuropatia periférica e distúrbios medulares (incontinência urinária) (TEIVE HAG, 2009).

A apresentação fenotípica é variável entre os tipos de AECs, e também dentro da mesma doença, como, por exemplo, a AEC 3 – a mais comum e uma das que apresenta maior variação fenotípica. Algumas delas apresentam-se na forma predominante de ataxia cerebelar pura (como as AECs 6, 11, 15/16, 31), no entanto, a maioria delas se associa com outros sinais e sintomas extracerebelares, o que pode auxiliar no diagnóstico clínico, como por exemplo, oftalmoplegia vertical e horizontal, *bulging eyes* (AEC 3), epilepsia (AEC 10), retinite pigmentar (AEC 7) (BARSOTTINI OGP et al, 2014; MORO A et al, 2013). Os achados extracerebelares podem ser úteis para reduzir o leque de possibilidades diagnósticas. De fato, a presença de alguns achados únicos podem facilitar na escolha da pesquisa molecular genética mais adequada para o diagnóstico apropriado (NÉMETH AH et al, 2013).

Na investigação por neuroimagem, a atrofia cerebelar com ou sem acometimento de tronco encefálico (atrofia olivopontocerebelar) é, frequentemente, encontrada nos casos de AEC (KLOCKGETHER T et al, 1998; TEIVE HAG et al, 2012). Outros achados de imagem por ressonância magnética (RM): atrofia corpo caloso, atrofia cerebral difusa, atrofia/degeneração olivar, atrofia de medula cervical, atrofia de núcleo denteado, hiperintensidade em aquisições T2 na ponte ou pedúnculos cerebelares. Além dessas, as alterações funcionais por neuroimagem (NI) podem também ser úteis, e.g. alterações de núcleos da base (DEISTUNG A et al, 2016; PERUCCA G et al, 2016).

A prevalência mundial das AECs varia de 0 a 5,6 por 100.000 habitantes, média de 2,7/100.000 habitantes. Em revisão sistemática realizada por RUANO L et al (2014), a forma mais prevalente de AEC foi a do tipo 3, seguida dos tipos 2 e 6. Em 3 estudos avaliados nesta revisão, AEC 2 foi a mais comum em um deles (Cantabria, Espanha), e AEC 6 foi a mais comum em outros dois (Holanda e Japão). Nessa revisão, a taxa de pacientes sem diagnóstico genético confirmado variou de 20% (Cantabria, Espanha) a 92% (Sudeste da Noruega). Esses dados demonstram como

a distribuição de AEC pelo mundo é variável, como também o é, a distribuição dos subtipos de AECs (RUANO L et al, 2014).

TANG B et al, (2000), em um estudo chinês, com 167 pacientes com AEC, encontraram as seguintes frequências: AECs 3 (48,23%), 2 (5,88%) e 1 (4,70%). Não foram encontrados casos de AEC 6, 7 ou ADRPL. Já um estudo italiano, com 183 casos de AEC, revelou que os tipos 1 e 2 foram as mais encontradas (21% e 24%), enquanto AEC 3, 6 e 7 foram raras (BRUSCO A et al, 2005). Em Portugal, a prevalência de AEC é calculada em 5,6/100.000 habitantes, sendo para a AEC 3 de 3,1/100.000 – a mais comum, seguida de ADRPL (0,33/100.000) e AEC 2 (0,1/100.000). No Japão, o tipo de AEC mais frequente tanto para casos isolados quanto para casos familiares, foi a tipo 6 (36% e 29%, respectivamente) (SAKAKIBARA R et al, 2017).

No Brasil, em 150 pacientes estudados por TEIVE HAG et al (2012), AEC 3 foi a forma mais comum: 72,46%; (n = 101 - 41 homens), seguida da AEC 10: 18% (n = 27 - 14 homens). Na sequência foram detectados AEC 2, 7, 1 e 6.

Considerando-se o continente americano, em uma revisão sistemática feita por TEIVE HAG et al. (2019), a frequência de AECs variou entre os diferentes países, sendo a AEC 3 a mais comum na maioria deles (14-48%), com exceção do México e Venezuela (AEC 7 – 2-26%), Peru (AEC 10 – 5-45%), Cuba e Argentina (AEC 2 – 1-87%).

Portanto, outro fator importante para auxiliar o diagnóstico do tipo de AEC é a origem étnica da família estudada. Como exemplos pode-se citar: AEC 1 (Itália), AEC 2 (Espanha; Itália), AEC 3 (Portugal), AEC 6, AEC 31 e ADRPL (Japão), AEC 10 (México, Perú e Brasil) (ARRUDA WO; TEIVE HAG, 1997; BÜRK K et al, 1996; HEKMAN KE, GOMEZ CM, 2015; HIRAYAMA K et al., 1994; KLOCKGETHER T et al., 1998).

No tocante ao tratamento, a maioria dos estudos são pequenos, ou compreendem relatos de casos, destarte com resultados com baixo nível de evidência, direcionados apenas para casos específicos. Na maioria dos casos, não há nível de evidência significativo (SARVA H, SHANKER VL, 2014; ZESIEWICZ TA et al., 2018).

### 1.1.1 Diagnóstico molecular genético das AEC

Nos últimos anos tem ocorrido um grande progresso no entendimento dos polimorfismos e mutações genéticas, otimizado por tecnologias que permitem a análise de polimorfismos únicos de nucleotídeos (SNPs – *single nucleotide polymorphisms*), particularmente nos estudos de associação do genoma expandido (GWAS – *Genome-Wide Association Studies*). Estima-se que metade do genoma humano é constituído por repetições de sequências (*tandem repeats*) de nucleotídeos de tamanho e extensões variáveis e constituem o que denomina-se repitoma (*repeatome*). Uma proporção substancial destes segmentos de repetição do DNA ocorre em genes e suas regiões regulatórias, e podem ser transcritas e transladas. As formas mais comuns de repetições no genoma são homonucleotídeos, dinucleotídeos e trinucleotídeos, embora tetranucleotídeos, pentanucleotídeos ou sequências maiores têm sido também identificadas. Estas repetições consecutivas de nucleotídeos têm sido implicadas na disfunção molecular e celular associada com diversas doenças. Nas últimas duas décadas descobriu-se que a expansão anômala de repetições de nucleotídeos podem causar doenças neurológicas como doença de Huntington, ataxia de Friedreich, distrofia miotônica, síndrome do X-frágil e particularmente, AECs (FONDON JW et al. 2008; LaSPADA A, TAYLOR JP, 2010; HANNAN AJ, 2018). As formas mais comuns de AECs são causadas por expansões de repetições de sequências de nucleotídeos. Um grupo de AECs é formado por presença de mutações com um trinucleotídeo (CAG) repetido, expandido e instável, na região codificadora de um gene específico. Este grupo denomina-se como doenças do trato de poliglutamina (ASHISAWA T, ÖZ G, PAULSON HL, 2018).

O diagnóstico genético molecular destas AECs se faz pela detecção e determinação do tamanho anormal de expansões destas mutações de repetições de nucleotídeos, utilizando-se técnicas de reação em cadeia da polimerase do DNA (PCR) e análise pela técnica *Southern blot* (SAIKI RK et al, 1985; PULST SM, PERLMAN S, 2000; PULST SM, 2003).

A reação de PCR é baseada no fato de que oligonucleotídeos (*primers*) hibridizam-se especificamente a uma fita molde de DNA.

São necessários para a execução de uma reação de PCR: DNA fita molde a ser amplificada (DNA *template*), DNA polimerase, dois oligonucleotídeos (*primers*) complementares às fitas opostas do DNA molde que se está pesquisando,

desoxirribonucleotídeos trifosfato e o tampão de DNA polimerase (PULST; PERLMAN, 2000; SAIKI et al., 1985)

As três etapas da reação de PCR para síntese da região interesse do DNA são:

1) Desnaturação: o DNA estudado é primeiramente desnaturado, termicamente, de modo que a dupla-hélice se separa em duas fitas simples;

2) Anelamento (hibridização): os oligonucleotídeos (primers) anelam-se por complementaridade às fitas do DNA molde.

3) Extensão (alongamento, síntese): os primers anelados ao DNA molde servem como ponto de partida para a DNA polimerase sintetizar uma fita complementar a uma das fitas do DNA molde. No final desta etapa são geradas cópias adicionais da sequência do DNA molde situada entre os dois primers (SAIKI et al., 1985).

Estas etapas são repetidas sucessivamente através de de termocicladores reprogramáveis, que realizam automaticamente as etapas acima descritas (ciclos). A produção final de numerosas cópias de sequencias específicas de DNA podem ser então analisadas quanto ao tamanho, à quantidade e sequência. Ao fim de cada etapa, o DNA molde da amostra sofre amplificação exponencial. Este resultado amplificado pode, então, ser estudado (SAIKI RK et al., 1985; PULST SM, 2003).

Devido grande variabilidade fenotípica e genotípica das AECs, os exames genéticos são essenciais para diagnóstico preciso dos diferentes tipos de AEC. Isto contribui sobremaneira no acompanhamento dos pacientes deste grupo de patologias: 1) permite o aconselhamento genético e a realização de testes preditivos; 2) permite a identificação de pacientes com AEC com tipos específicos para futuros estudos (história natural da doença, correlações genótipo-fenótipo, prognóstico, terapia gênica )(SUBRAMONY SH, FILLA A, 2001).

### **1.1.2 Ataxia espinocerebelar tipo 3 – Doença de Machado-Joseph**

A doença de Machado-Joseph (DMJ; AEC 3) foi descrita originalmente em pessoas das famílias Machado (NAKANO KK, DAWSON DM, SPENCE A, 1972), Thomas (WOODS BT, SCHAUMBURG HH, 1972) e Joseph, na verdade descendentes de José Bastiana (ROSENBERG RN et al., 1976), provenientes da Ilha de São Miguel, Açores. Inicialmente foi chamada de doença açoriana (ROMANUL FCA et al., 1977).

Em 1977, Coutinho e Andrade descreveram uma doença proveniente dos Açores, com características fenotípicas múltiplas. Esses autores também constataram que, pacientes descritos anteriormente nos Estados Unidos da América e, por autores citados anteriormente, tinham a mesma doença. Em 1978, foi denominada de doença de Machado-Joseph (COUTINHO P, ANDRADE C, 1978).

A prevalência da DMJ é variável, de 5% (Índia) a 63% (Portugal e Brasil), mas na maioria dos países é a forma mais comum dentre os casos diagnosticados de AEC (SALEEM Q et al., 2000; SILVEIRA I et al., 2002).

Geneticamente, é caracterizada por expansão CAG no gene *ATXN3*, no cromossomo 14q 32.1 (OMIM # 109150. MACHADO-JOSEPH DISEASE; MJD) (KAWAGUCHI Y et al., 1994). O número normal de repetições é 12 a 40 (42 para alguns autores). Nos pacientes afetados, repetições acima de 55 são encontradas, sendo bem estabelecido que o número de repetições CAG (CAGn) e a gravidade da doença se correlacionam de forma positiva, e CAGn e o início da doença correlacionam-se negativamente (MARUYAMAH et al., 1995). Instabilidade intergeração ocorre, principalmente, nos casos de transmissão paterna (IGARASHI S et al., 1996). Apenas alguns indivíduos foram reportados com DMJ tendo expansões intermediárias: 50 a 55, sendo que a apresentação clínica mais comum observada nestes casos foi síndrome das pernas inquietas (PAULSON HL, 2009).

O tamanho da expansão CAGn correlaciona-se com o fenótipo. Sinais piramidais e distonia são mais comuns em pacientes com maiores expansões, enquanto que neuropatia periférica com menores (DURR A et al., 1996; JARDIM LB et al., 2001). Outros achados estão mais correlacionados com a duração da doença, do que com número de expansão CAG.

A proteína normal, ataxina-3 (OMIM \*607047. ATAXIN 3; *ATXN3*), encontra-se difusamente presente em diversas células não apenas no sistema nervoso central, mas em outras regiões anatômicas. A proteína mutada produz neurodegeneração, associada a gliose, em algumas diferentes estruturas do encéfalo mas, não todas as que possuem ataxina-3: cerebelares – núcleo dentado, pedúnculos cerebelares superior e médio; e extracerebelares – substância negra, núcleo rubro, núcleo subtalâmico, núcleos dos nervos pontinos e de outros nervos motores cranianos, fascículo longitudinal medial, circuito dentatorrubral, colunas de Clarke, células dos cornos anteriores e posteriores da medula espinhal, tratos espinocerebelares.

Normalmente poupa as olivas bulbares, trato córtico-espinhal e córtices cerebral e cerebelar. Em alguns casos é observada a presença de inclusões intranucleares, que, no entanto, não se correlacionam com os locais de maior neurodegeneração (COUTINHO P, 1992; COUTINHO P, GUIMARÃES A, SCARAVILLI F, 1982; PAULSON HL, 2012; PAULSON HL, SUBRAMONY SH, 2003; SCHMIDT T et al., 1998; SCHÖLS L, PAULSON HL, RIESS O, 2000; SUENAGA T et al., 1993).

Caracteriza-se por doença de grande variação fenotípica. A doença se inicia entre 30 e 50 anos, com ataxia, desequilíbrio e disartria, progressivos. Com a evolução da doença outros sintomas surgem: nistagmo, diplopia, movimentos sacádicos oculares lentos, oftalmoplegia e retração palpebral (“*bulging eyes*”). Em estágios mais avançados, surge a necessidade eventual de uso de órteses para apoio deambulatório, seguido de uso de cadeira-de-rodas. Neste estágio são comuns a disartria e disfagia graves. É variável a ocorrência de distonia, amiotrofia, fasciculação, espasticidade. Finalmente, é incomum o surgimento de demência (MARUFF P et al., 1996; MATSUMURA R et al., 1996; SCHÖLS L et al., 1996; SEQUEIROS J, COUTINHO P, 1993).

Em 2008, foi sugerida a divisão da doença em subtipos, dada a sua variação fenotípica (RIESS O et al., 2008). Foram sugeridos quatro subtipos da doença; posteriormente foi acrescentado um quinto subtipo (WANG Y et al., 2009):

- a) Tipo I – 13% dos indivíduos afetados. Acentuada espasticidade, rigidez, bradicinesia e pouca ataxia. Início da doença mais precoce.
- b) Tipo II – 57% dos indivíduos. Ataxia e hiperreflexia. Pode haver paraparesia espástica.
- c) Tipo III – 30% dos indivíduos. Ataxia e polineuropatia periférica. Início mais tardio.
- d) Tipo IV – parkinsonismo dopa-responsivo.
- e) Tipo V – diagnóstico diferencial das paraplegias espásticas. Não é amplamente aceita.

Já em um trabalho brasileiro sobre os subfenótipos apresentados, foram descritos 7 subfenótipos da doença (Tabela 2) (MORO A et al., 2014).

TABELA 2. SUBFENÓTIPOS DA AEC 3 DE ACORDO COM PREVALÊNCIA EM UM ESTUDO BRASILEIRO.

SF	Características	n (%)
1	Distonia/parkinsonismo/ataxia	10 (6.0)
2	Ataxia/sinais piramidais	111 (66.4)
3	Ataxia/sinais periféricos	22 (13.2)
4	Parkinsonismo	4 (2.4)
5	Paraparesia espástica	1 (0.6)
6	Síndrome cerebelar pura	12 (7.2)
7	Misto (ataxia, sinais piramidais e parkinsonismo responsivo a levodopa)	5 (3.0)
<b>Outros</b>	Semelhante a síndrome do homem rígido, ELA	2 (1.2)

ELA: Esclerose Lateral Amiotrófica; SF = Subfenótipos. FONTE: Adaptado de um estudo brasileiro (MORO et al., 2014)

Por toda essa variação fenotípica, associado com diversos achados de alterações de imagem, pode-se afirmar que a DMJ é uma doença neurodegenerativa cerebelar e extracerebelar – sistemas visual, auditivo, vestibular, somatossensitivo, dopaminérgico e colinérgico (RÜB U, BRUNT ER, DELLER T, 2008). O prognóstico, a partir do diagnóstico é de uma sobrevida de 20 a 25 anos após início dos sintomas.

O estudo de condução nervosa está, geralmente, alterado em até 60% dos pacientes em algum momento da doença. Neuropatia axonal periférica, acompanhada de amiotrofia e fasciculações, é comum (PEDROSO JL et al., 2013).

Hipersonolência, outras alterações de sono como dificuldade para iniciar o sono, parasonias, aumento de despertares noturnos, distúrbio comportamental do sono REM (do inglês, *rapid eyes movements*), e apneia central podem ocorrer (MORO A et al. 2019a; FOLHA SANTOS FA et al, 2018). Em alguns portadores de repetições intermediárias, síndrome das pernas inquietas é o único achado (SCHÖLS L et al., 1998; VAN ALFEN N et al., 2001).

### 1.1.3 Ataxia espinocerebelar tipo 10

A ataxia espinocerebelar tipo 10 (AEC 10) é uma forma de ataxia cerebelar autossômica dominante, encontrada predominantemente em pacientes da América Latina com ancestralidade ameríndia e hispânica. É causada pela expansão de uma repetição pentanucleotídica não codificante adenina-timina-timina-citosina-timina (ATTCT<sub>n</sub>) inserida no íntron 9 do gene da ataxina 10 (*ATXN10*) (OMIM \* 611150 ATAXIN 10; *ATXN10*), localizada no cromossomo 22q13.11. A AEC 10 foi originalmente descrita em pacientes mexicanos, que apresentavam quadro clínico tipicamente caracterizado por ataxia cerebelar, incluindo ataxia de marcha e membros, disartria e anormalidades oculares, juntamente com envolvimento extracerebelar, particularmente epilepsia (RASMUSSEN A et al., 2001; TEIVE HAG et al., 2004). Pacientes posteriormente descritos na Argentina, Venezuela, Colômbia, Bolívia, Estados Unidos da América e Peru apresentaram este mesmo fenótipo.

O fenótipo clássico é o de ataxia cerebelar, com discreta alteração piramidal e poucos achados extrapiramidais. Na população de pacientes mexicanos é comum, ainda, neuropatia periférica e epilepsia, enquanto que na brasileira, estes achados são infrequentes, pelo menos no sul do país (TEIVE HAG et al., 2012). Quanto aos achados não-motores, sonolência excessiva diurna foi mais prevalente entre pacientes com AEC 10 do que controles ou AEC 3; distúrbio comportamental do sono REM e síndrome das pernas inquietas foram incomuns (LONDON E et al., 2018); fadiga e alterações cognitivas foram mais comuns do que em controles, porém, menos do que em AEC 3 (MORO A, et al. 2019b) Alterações psiquiátricas também foram mais prevalentes do que em indivíduos controle (MORO A et al., 2017).

Na população de pacientes mexicanos constatou-se 72,2% dos pacientes estudados com apresentação de crises epilépticas (variando entre 25 e 80%), caracterizadas por crises convulsivas generalizadas e/ou focais. No entanto, em um estudo no sul do Brasil, a população de pacientes com AEC 10 mostrou-se clinicamente com quadro predominante de ataxia cerebelar “pura”, ou seja, sem apresentação de epilepsia. Alguns pacientes apresentaram sinais piramidais leves (RASMUSSEN A et al., 2001; TEIVE HAG et al., 2004, 2010). Estudos de outras regiões brasileiras demonstram taxa maior de presença de epilepsia nos pacientes com AEC 10, como encontrado por CASTILHOS et al. (2014), com 64% dos pacientes. Talvez estas diferenças estejam relacionadas com interrupções das expansões

ATTCTn, proporcionadas por diferentes ancestralidades nos diversos grupos, concluindo em variação fenotípica (ALMEIDA T et al., 2009; DE CASTILHOS RM et al., 2014; MCFARLAND KN et al., 2014).

Em comparação com AEC 3, causada por expansão CAGn, a AEC 10 causada por expansão ATTCTn tem semelhanças e diferenças quanto a relação genotípica-fenotípica. Ambas apresentam instabilidade quando a transmissão paterna ocorre, e estabilidade na transmissão materna; idade de início se correlaciona negativamente com as expansões. Apesar disso, a AEC 10 apresenta antecipação relacionada à contração de repetições, em vez de expansão; a gravidade da doença e a presença de epilepsia não se correlacionam com o tamanho da expansão (MATSUURA T et al., 2004).

A principal alteração patológica na AEC 10 é a perda de células de Purkinje do cerebelo, com redução da camada molecular e, em menor extensão, da granular interna. Esse achado corresponde a redução de volume dos hemisférios mais pronunciada do que do vermis. Gliose de Bergmann está presente nas áreas de perda das células de Purkinje. Não foram encontradas alterações de córtex cerebral, hipocampo, mesencéfalo ou ponte (XIA G et al., 2013).

## **1.2 O USO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA INVESTIGAÇÃO DAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES**

### **1.2.1 A ressonância magnética de crânio**

Vários exames de neuroimagem estão disponíveis para estudo das AECs (TABELA 3). A neuroimagem por ressonância magnética (RM) propicia a visualização de estruturas intracranianas in vivo. É o exame de imagem de escolha para os pacientes com doenças do cerebelo, com objetivo de avaliar grau de atrofia cerebelar, predomínio da atrofia (vermis, hemisférios, ou ambos), associação com atrofia de outras estruturas (e.g. medula espinhal, tronco cerebral, núcleos profundos diencefálicos, córtex cerebral) (TABELA 4)

TABELA 3. TÉCNICAS DE NEUROIMAGEM DISPONÍVEIS PARA AVALIAÇÃO DAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES.

Modalidade	Informações obtidas	Utilidade clínica	Disponibilidade atual
TC	Identificação de anormalidades grosseiras.	de Útil para caracterizar os principais tipos de atrofia, mas sem especificidade.	Amplamente disponível.
RM	Identificação de anormalidades com acurácia para substância cinzenta e/ou branca, e espaço liquórico.	de Útil para caracterizar os principais tipos de atrofia e alterações de sinal, especificamente; mais sensível para alterações sutis.  Métodos por volumetria tridimensional (3D) e morfometria baseada em voxel permite segmentação automatizada e comparações entre grupos, em estudos longitudinais ou transversais.	Disponível em regiões geográficas desenvolvidas. Disponibilidade limitada em regiões em desenvolvimento.  Limitado a centros de pesquisa especializados.
Espectroscopia	Identificação e interpretação da alteração de concentração de metabólitos em regiões específicas.	e Estuda os metabólitos observáveis e a alteração de suas concentrações.  Áreas específicas devem ser estudadas.	Limitado a centros de pesquisa especializados.
RM funcional	Análise de alterações perfusionais induzidas em imagem com contraste, durante realização de tarefas.	Mapas coloridos superpostos a imagens morfológicas permite a visualização de correlações positivas (maior ativação durante a tarefa) ou negativas (reduzida ativação durante a tarefa).	Limitado a centros de pesquisa especializados.
PET-FDG	Avaliação do metabolismo regional de glicose.	Marcador de lesão neuronal e neurodegeneração.  Importante para avaliação pré-sintomática.	Limitado a centros de pesquisa especializados.

TC – Tomografia computadorizada; RM – Ressonância magnética; PET- FDG – Tomografia por emissão de pósitrons com 18 Fluorodeoxiglicose.

TABELA 4. PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS NEURORRADIOLÓGICAS (NR) DAS TÉCNICAS DE NEUROIMAGEM (TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA OU RESSONÂNCIA NUCLEAR MAGNÉTICA) UTILIZADAS NAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES (AECS).

<b>Característica NR</b>	<b>AECs</b>
<b>Atrofia cerebelar pura</b>	4, 5 <sup>G</sup> , 6 <sup>G</sup> , 10, 11, 13 <sup>G</sup> , 14 <sup>G</sup> , 15/16 <sup>V</sup> , 18 <sup>L</sup> , 19/22 <sup>L</sup> , 21 <sup>L</sup> , 24 <sup>L</sup> , 25–28, 29 <sup>G,V</sup> , 30–32, 35, 37 <sup>V</sup> , 38, 41 <sup>L,V</sup> , 42 <sup>V</sup> , 43 <sup>M,V</sup> , 44, 47 <sup>L,V</sup>
<b>Atrofia cerebelar com outros achados:</b>	
<b>Atrofia pontina</b>	3, 7, 8 <sup>G</sup> , 13 <sup>M</sup> , 34, 40
<b>Atrofia olivopontocerebelar</b>	1, 2 <sup>G</sup> , 36
<b>Atrofia de medula espinhal</b>	3, 7
<b>Atrofia cortical</b>	2, 3, 12
<b>Atrofia pontocerebelar, cortical e subcortical</b>	17 (lobos frontotemporais, núcleos da base), 23 <sup>G</sup> (lobos frontotemporais)
<b>Atrofia de tronco encefálico, pedúnculo cerebelar superior e anormalidade de sinal no tronco encefálico, cerebelo e tálamo</b>	ADRPL
<b>Calcificações dos núcleos denteados</b>	20 <sup>M</sup>
<b>Sinal da cruz (“Hot cross bun”)</b>	1, 2, 3, 6, 7, 8, 34
<b>Lesões desmielinizantes em RNM</b>	9
<b>Atrofia cerebelar seletiva</b>	
<b>Vermis cerebelar e depósitos de hemossiderina no mesencéfalo</b>	45
<b>Área posterior do vermis e paravermis cerebelares</b>	48
<b>Sem atrofia cerebelar</b>	
<b>Geralmente normal, ou, quando presente, leve atrofia cerebelar</b>	46

G = atrofia cerebelar grave; L = atrofia cerebelar leve; M = atrofia cerebelar moderada; V = envolvimento principal do verme.

ADRPL = Atrofia dentatorubro-palidolusiana. Adaptado de MEIRA AT et al., 2019.

As imagens são avaliadas através de padrões de estudo específicos: as sequências. A sequência ponderada em T1 é útil para avaliar a anatomia, e, portanto,

o grau de atrofia. A sequência ponderada em T2 e a sequência FLAIR (*fluid attenuated imaging recovery*) são mais utilizadas para avaliar presença de lesões, por exemplo, as alterações de substância branca.

Estudos que traduzam numérica e quantitativamente os achados apresentados pelas imagens de RM nas diversas formas de AECs são potencialmente úteis para auxiliar no melhor entendimento da fisiopatologia in vivo destas doenças do SNC (DAYAN M et al., 2016; HARA D et al., 2016; SYMMS M, 2004).

### **1.2.2 Volumetria por ressonância magnética**

O estudo da volumetria é aplicada a nível de pesquisa, não estando ainda validada para uso clínico. O método mais amplamente utilizado é a VBM (*voxel-based morphometry*), que possibilita não apenas o estudo volumétrico das estruturas por imagem, mas também a sua correlação com dados clínicos. Essa técnica possibilita avaliar cada voxel (unidade volumétrica da imagem por ressonância magnética) individualmente (DAYAN M et al., 2016; SYMMS M , 2004).

Por meio dessa técnica é possível, por exemplo, correlacionar a alteração volumétrica do cerebelo com escalas de gravidade de ataxia, demonstrando possíveis correlações entre elas (HARA et al., 2016).

### **1.2.3 Ataxias espinocerebelares e neuroimagem por ressonância magnética**

Os principais achados nos exames neurorradiológicos de pacientes com AEC são em graus variáveis a atrofia cerebelar cortical, atrofia espinhal, ou atrofia do tronco cerebral. Esses achados não são característicos de nenhum subtipo de AEC especificamente, mas, juntamente com outras informações (principalmente, etnia e outros sintomas neurológicos associados), é possível reduzir o número de hipóteses diagnósticas. Além disso, em um mesmo genótipo, pode haver um indivíduo afetado apresentando áreas de atrofia pré-sintomática (REZENDE TJR et al, 2018) e outro

com neuroimagem normal, apesar dos sintomas já presentes (DEISTUNG A et al., 2016).

Algumas anormalidades específicas, embora incomuns, podem ajudar a identificar alguns genótipos específicos: calcificações do núcleo denteado (AEC 20), anormalidades de sinal nos núcleos da base (AECs 2 e 17), atrofia nos núcleos da base (AECs 3 e 17), atrofia severa da ponte (AECs 2 e 7). Embora úteis quando presentes, a não existência dos mesmos não excluem estes diagnósticos (DÖHLINGER S et al., 2008).

Técnicas mais sofisticadas incluindo neuroimagem funcional e neuroimagem quantitativa também contribuem para a abordagem diagnóstica, embora sejam de uso ainda limitado. Os núcleos cerebelares podem ser visualizados em imagens de suscetibilidade devido à propriedade paramagnética do ferro, que é substancialmente apresentada nesta estrutura. Dessa forma, imagens ponderadas em T2 ou por suscetibilidade magnética (SWI, *susceptibility-weighted imaging*) e mapeamento de suscetibilidade quantitativa (QSM, *quantitative susceptibility mapping*), um método de pós-processamento mais preciso, são promissores para a quantificação da carga de ferro nos núcleos cerebelares em doenças de neurodegenerativas com ataxia cerebelar (DEISTUNG A et al., 2016).

Na AEC 3, a evolução da doença é acompanhada de atrofia cerebelar progressiva, extendendo-se para outras estruturas encefálicas no âmbito da doença. No início dos sintomas da doença, observa-se atrofia do vermis e hemisférios cerebelares, da ponte, do tronco encefálico e dos pedúnculos cerebelares médios. Essas alterações, principalmente em estruturas próximas ao quarto ventrículo, resultam em aumento das dimensões do mesmo, um achado comum na AEC 3. Além disso, outras áreas são acometidas, como: núcleo caudado, putâmen e pedúnculos cerebelares superiores. Conforme a doença progride, os lobos frontais e temporais e o globo pálido podem ser afetados, quando técnicas mais robustas são realizadas. O “sinal da cruz” (*hot cross bun sign*) nas imagens axiais pontinas pode ocorrer, embora não seja exclusiva (BÜRK K, 1996; KLOCKGETHER T et al., 1998, DÖHLINGER S et al., 2008;; LUKAS C et al., 2006; PEDROSO JL et al., 2012; STEFANESCU MR et al., 2015).

No entanto, é importante frisar que antes mesmo de os sintomas surgirem, a doença já apresenta alterações nos exames de imagem. A doença demonstra redução

pré-sintomática na coluna cervical, substância negra, mesencéfalo, com subsequente acometimento do cerebelo e pedúnculos cerebelares. A evolução do acometimento das estruturas segue no sentido das estruturas infratentoriais, rostralmente para o córtex cerebral (REZENDE TJR et al., 2018)

Ataxia de marcha e apendicular e instabilidade postural, medidas pela escala SARA (*Scale for the Assessment and Rating of Ataxia*), são inversamente correlacionadas com os volumes do hemisfério cerebral e cerebelar (JACOBI H et al., 2012). Os volumes dos núcleos dentados também estão reduzidos em comparação ao grupo controle, quando avaliados pela técnica de SWI. A correlação entre expansão do CAGn e SARA com grau de atrofia do córtex e dos núcleos do cerebelo não está bem estabelecido, com achados ainda discordantes (CAMARGOS ST ; MARQUES-JR W, SANTOS AC , 2011; HUANG SR et al., 2017; STEFANESCU MR et al., 2015).

A ressonância magnética funcional mostra a ativação do núcleo denteado ventral significativamente maior quando comparado com controles, o que talvez esteja relacionado com maior ativação de áreas pontocerebelares (GLICKSTEIN M, DORON K., 2008) para compensar a disfunção do espinocerebelo (STEFANESCU MR et al., 2015).

Na AEC 10, os principais achados são atrofia de vermis e hemisférios cerebelares. Poucos estudos de imagem são reportados na literatura para este tipo de AEC, apesar de grande variação fenotípica encontrada em populações diversas – por exemplo, famílias mexicanas com o padrão típico de ataxia cerebelar pura com epilepsia, enquanto a maioria das famílias brasileiras apresentam ataxia cerebelar pura de início tardio infreqüentemente associada à epilepsia. (DÖHLINGER S et al., 2008; RASMUSSEN A et al., 2001; TEIVE HAG et al., 2007).

Recentemente, HERNANDEZ-CASTILLO CR et al (2019) constataram em um estudo envolvendo 18 pacientes com AEC10 (11 com epilepsia) e 18 indivíduos normais e aplicando técnicas de VBM, uma significativa correlação entre alterações degenerativas dos tálamos e a presença de epilepsia. Tal achado sugere a importância do envolvimento do tálamo para a presença de epilepsia nos pacientes com AEC 10.

## **2.IMPORTÂNCIA E JUSTIFICATIVA DESTE ESTUDO**

A necessidade gradual de achados clínicos, epidemiológicos, genéticos e radiológicos para o melhor entendimento das AECs, aliado ao fato que os testes genéticos não estão amplamente disponíveis, além de seu ainda elevado custo, são fatores relevantes para maior necessidade de caracterização pré-teste genético das AECs. Desse modo, a utilização e interpretação cuidadosa da clínica, perfil laboratorial e achados de neuroimagem, podem contribuir sobremaneira para o diagnóstico e trazer maior conhecimento acerca da fisiopatologia e evolução deste grupo de doenças. A comparação com grupo controle permite revelar alterações significativamente específicas e características que permitam um diagnóstico clínico-imagiológico correspondendo a subtipos específicos de AECs.

O Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR) desenvolve importante papel no acompanhamento de pacientes com AECs. A criação de ambulatório específico em 1989 para esse grupo de doenças possibilitou o desenvolvimento de pesquisas de importância e reconhecimento mundial nessa área. Esta pesquisa em conjunto com outros centros pesquisadores da cidade de Curitiba (DAPI e Genetika) busca o aumento no conhecimento na área das ataxias hereditárias.

Por isto, com a hipótese de que diferentes formas de ataxias hereditárias, por distintos processos fisiopatogênicos, acometem de forma diversa as várias estruturas relacionadas às vias intrínsecas e extrínsecas com o cerebelo, podem apresentar um padrão imagiológico fenotípico com significativa correlação com o genótipo, este estudo foi planejado e realizado.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar as alterações volumétricas de estruturas corticais e subcorticais do sistema nervoso central por ressonância magnética em pacientes com AEC tipo 3 e tipo 10, com grupos controle.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

a) Descrever as alterações de volumetria do sistema nervoso central por ressonância magnética e sua possível correlação com o tempo de evolução da doença em pacientes com AEC tipo 3 e tipo 10.

b) Correlacionar alterações de volumetria do sistema nervoso central por ressonância magnética e expansão de trinucleotídeos (CAG<sub>n</sub>) ou pentanucleotídeos (ATTCT<sub>n</sub>) em pacientes com AEC tipo 3 e tipo 10, respectivamente.

c) Avaliar a relação das áreas afetadas nos exames de neuroimagem com os respectivos quadros clínicos e tempo de evolução da doença em pacientes com AEC tipo 3 e tipo 10.

## 4 ARTIGO DA TESE

### 4.1 CAPA (TÍTULO E AUTORES)

Alterações volumétricas por ressonância magnética em pacientes com ataxias espinocerebelares (AEC 3 e AEC 10)

Walter Oleschko Arruda MD, MSc<sup>1</sup>, Alex Tiburtino Meira MD, MSc<sup>1</sup>, Sergio Eiji Ono MD, MSc<sup>2</sup>, Arnolfo de Carvalho Neto MD, PhD<sup>2,3</sup>, Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting MD, PhD<sup>4</sup>, Salmo Raskin MD, PhD<sup>5</sup>, Carlos Henrique F. Camargo MD, PhD<sup>3</sup>, Hélio Afonso Ghizoni Teive MD, PhD<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Unidade de Distúrbios do Movimento, Serviço de Neurologia, Departamento de Medicina Interna, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

<sup>2</sup> DAPI, Diagnóstico Avançado por Imagem, Curitiba, PR, Brasil.

<sup>3</sup> Grupo de Doenças Neurológicas, Programa de Graduação em Medicina Interna, Departamento de Medicina Interna, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Neurologia, Psicologia e Psiquiatria, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual de São Paulo Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, SP, Brasil.

<sup>5</sup> Genetika – Centro de aconselhamento e laboratório de genética, Curitiba, PR, Brasil.

**Correspondência:** Hélio A. G. Teive; Rua General Carneiro 1103/102, Centro; 80060-150 Curitiba PR, Brasil; E-mail: hagteive@mps.com.br

**Conflitos de interesse:** não há conflitos de interesse a declarar.

## 4.2 RESUMO

Introdução - As ataxias espinocerebelares tipo 3 (AEC 3) e tipo 10 (AEC 10) são as duas mais prevalentes no sul do Brasil.

Objetivo - Este estudo teve como objetivo analisar a relação entre alterações volumétricas na ressonância magnética e achados clínicos e genéticos de pacientes com AEC 3 e AEC 10.

Métodos - Todos os pacientes do estudo tiveram diagnóstico genético confirmado.

Dados demográficos, escala de gravidade de ataxia (SARA) e expansões dos genes afetados foram avaliados. 19 pacientes com AEC 3 e 18 pacientes com AEC 10 foram selecionados e comparados com igual número de controles saudáveis. Os grupos de pacientes e controles foram submetidos ao mesmo protocolo de neuroimagem em um aparelho de ressonância magnética 3T Siemens MAGNETOM Skyra. Os dados morfométricos (espessura cortical e volumes subcorticais) foram extraídos a partir de padrões tabulados do FreeSurfer.

Resultados - Os resultados deste estudo demonstram que a AEC 3 é uma doença que afeta mais frequentemente as estruturas encefálicas (15 contra 5 estruturas com redução de volume) do que as da AEC 10, bem como que a redução do volume de estruturas encefálicas também é maior em pacientes com AEC 3. Para a AEC 3, as principais áreas com redução volumétrica significativa foram cerebelo, núcleos da base, tronco encefálico e diencéfalo. Para AEC 10, cerebelo e globos pálidos apresentaram redução significativa de volume. O escore SARA e a duração da doença se correlacionaram mais com a redução de volume para AEC 10, enquanto que para AEC 3, CAGn apresentou correlações positivas com substância branca cerebelar, tálamo, tronco encefálico e volume total de substância cinzenta.

Conclusão - Houve diferenças significativas entre os pacientes com AEC 3 e AEC 10 em relação à neuroimagem que forma compatíveis com as apresentações clínicas em cada caso.

**Palavras-chave:** ataxias espinocerebelares, doença de Machado-Joseph, ataxinas, neuroimagem; neuroimagem funcional, ressonância magnética, espectroscopia por ressonância magnética.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Ataxias espinocerebelares (AECs) representam um grupo heterogêneo de doenças que apresentam em comum uma disfunção cerebelar progressiva (tanto de marcha quanto apendicular) adicionada, para a maioria das AECs, por sinais e sintomas neurológicos motores e não motores (SCHOLS L et al., 2004). Outras características são raridade, início tardio e herança genética de maneira autossômica dominante. Existem pelo menos 48 loci genéticos associados às AECs (SCHOLS L et al., 2004; BIRD T, 2018), e eles foram denominados de acordo com a descoberta de cada gene específico em AEC 1, 2, 3, até AEC 48. A AEC 3 é o tipo mais comum em todo o mundo e seu fenótipo varia com uma grande plêiade de sintomas, incluindo síndrome piramidal, neuropatia periférica, distúrbios do movimento e achados oculomotores (TEIVE HAG, ASHIZAWA T, 2015). A AEC 10 é caracterizada por ataxia cerebelar progressivamente lenta, disartria, disfagia, epilepsia e outros sintomas não motores (SNM), como disautonomia, dor crônica, comprometimento cognitivo, distúrbios psiquiátricos e distúrbios do sono (MORO A et al., 2017). A característica típica da AEC 10 é a sua associação com epilepsia, embora não seja uma marca registrada na AEC 10 do sul do Brasil (TEIVE HAG et al., 2004; ASHIZAWA T, 2012). Muito embora sejam doenças genéticas, com genes bem conhecidos, a fisiopatologia e evolução dessas doenças ainda não estão bem estabelecidas (TEIVE HAG, ASHIZAWA T, 2015).

A neuroimagem (NI) não pode prever o genótipo da AEC, porque ocorre sobreposição entre sintomatologia e patologia macroscópica dentre as diversas AECs, no entanto possibilita agrupar subgrupos de AECs, reduzindo assim as possibilidades diagnósticas. A imagem por ressonância magnética (RM) e por tomografia computadorizada (TC) do crânio são as fontes de NI mais disponíveis atualmente e ajudam na investigação de casos sintomáticos (DÖHLINGER S et al., 2008). Os pacientes com AEC 3 podem apresentar perda significativa de substância cinzenta (SC) e substância branca (SB) nos hemisférios cerebelares, tronco encefálico e no tálamo lateral. A perda da SB está correlacionada negativamente com a gravidade da AEC 3 (KANG JS et al., 2014). Na AEC 10, a NI revela atrofia predominante dos hemisférios cerebelares e vermis (RASMUSSEN A et al., 2001; DÖHLINGER S et al., 2008). Estudos anteriores correlacionaram inversamente ataxia de marcha e apendicular e a instabilidade axial ao tronco encefálico, hemisférios cerebelares e

volumes da medula espinhal (JACOBI S et al., 2012). Enquanto em outros estudos, a correlação entre a expansão do CAG (CAGn) e a gravidade da doença com o grau de atrofia do córtex e núcleos cerebelares foi controversa (CAMARGOS ST et al., 2011; STEFANESCU MR et al., 2015; HUANG SR et al., 2016). Para AEC 3, as principais áreas com redução volumétrica significativa na RM foram cerebelo, núcleos da base, tronco encefálico, diencéfalo e volume total e subcortical de SC. Enquanto, a medida da espessura cortical pela RM foi significativamente reduzida para os giros frontal médio caudal, temporal médio, na *pars triangularis* do giro frontal inferior e no pólo temporal (KLAES A et al., 2016).

Este estudo teve como objetivo analisar a relação entre alterações volumétricas na ressonância magnética e achados clínicos e genéticos de pacientes com AEC 3 e AEC 10.

## **4.4 MÉTODOS**

### **4.4.1 Seleção de pacientes e controles**

Foram selecionados 19 pacientes com AEC 3 e 18 com AEC 10 que estavam sendo acompanhados no Ambulatório de Ataxia da Unidade de Distúrbios do Movimento do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, no período de setembro de 2017 a agosto de 2018. Todos os pacientes tinham diagnóstico clínico e genético, e 18 anos de idade ou mais. Os critérios de exclusão foram: comorbidade psiquiátrica grave, gravidez, presença de material implantado incompatível com RM, alcoolismo, uso de medicação neurotóxica (principalmente ao cerebelo), neoplasias sistêmicas malignas ou outras doenças neurológicas que poderiam afetar a NI. O comitê de ética em pesquisa (CEP) do HC-UFPR aprovou este estudo transversal (CAAE: 47417015.9.0000.0096).

Grupos controle para AEC 3 (n = 19) e para AEC 10 (n = 18) foram constituídos por voluntários saudáveis pareados por idade e sexo (cônjuges ou cuidadores não relacionados) como comparação. Todos pacientes e voluntários controle normais assinaram termo de consentimento informado.

#### **4.4.2 Avaliação clínica**

Os pacientes foram avaliados durante consultas de rotina, onde foram convidados a participar do estudo. Nestas consultas, é realizada anamnese, exame físico geral e neurológico, solicitação de exames laboratoriais e exames de imagem (toda esta avaliação é feita a todos os pacientes, independente da participação em pesquisa científica).

##### **4.4.2.1 Anamnese**

Os pacientes foram avaliados com escalas padronizadas: protocolo de atendimento às ataxias espinocerebelares (Apêndice 2). Este protocolo faz parte do atendimento no ambulatório de Ataxia na primeira consulta, e é complementado a cada consulta com adição de novos sintomas.

O protocolo visa investigar os principais sintomas que esclarecem melhor a provável etiologia da AEC: identificação do paciente, idade, sexo, origem étnica da família, tipo de herança, cidade de origem, presença de consangüinidade, número de parentes afetados (heredograma), além de dados clínicos – ataxia de marcha, axial, apendicular (incluindo os sinais de dismetria, disdiadococinesia, decomposição de movimentos, tremor intencional e manobra do rechaço positiva), disartria, oftalmoparesia/oftalmoplegia, nistagmo, dismetria ocular, movimentos sacádicos anormais, presença de retração palpebral (“*bulging eyes*” ou sinal de Collier), alterações de pares cranianos, disfunção cognitiva, sinais piramidais, hiperreflexia profunda, espasticidade, sinal de Babinski, distúrbios do movimento (coréia, distonia, balismo, mioclonia, estereotipia, acatisia, parkinsonismo, bradicinesia, tremor de repouso, rigidez muscular, instabilidade postural), hipoestesia tátil e dolorosa, hipopalestesia, alteração da noção de posição segmentar, hipo/arreflexia profunda, fasciculações, amiotrofia, disfunção autonômica (incontinência urinária, hipotensão ortostática, disfunção sexual).

##### **4.4.2.2 Avaliação e graduação da Ataxia**

A graduação da ataxia ocorre em cada consulta do paciente, como forma de avaliação da progressão da doença. É utilizada a escala SARA (do inglês, Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) desenvolvida por Schmitz-Hübbsch et al. (2006), e traduzida e validada para o português por Braga-Neto et al., (2010) – Anexo 2.

Esta escala conta com 8 itens, que são avaliados após a realização de testes padronizados. Cada item é pontuado em um valor que pode ir de 0 a 8, dependendo do item. Os itens de 5 a 8 recebem pontuação resultante da a média aritmética da pontuação de cada lado, direito e esquerdo. A pontuação mínima é 0 (sem ataxia) e a máxima, 40 (mais grave ataxia). Não é necessário que o examinador tenha realizado cursos prévios, no entanto no contexto deste estudo, os examinadores foram treinados adequadamente para o uso correto e padronizado da escala.

Os itens estudados são: marcha, postura, sentar, distúrbio de fala, teste de perseguição do dedo, teste índex-nariz, movimento alternados e rápidos das mãos, manobra calcunar joelho.

#### **4.4.2.3 Exames complementares**

Após exame clínico inicial, foram realizados exames complementares para todos os pacientes: hemograma, velocidade de hemossedimentação, glicemia de jejum, sódio, potássio, creatinina, uréia, VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*), TSH (*Thyroid Stimulating Hormone*); são os exames de rotina.

Em casos selecionados, a partir da história clínica, foram solicitados: eletromiografia, estudo de condução nervosa, eletroencefalografia e/ou exame do líquido cefalorraquidiano completo.

Estes estudos têm por objetivo descartar diagnósticos diferenciais ou comorbidades que cursem com ataxia, que poderiam confundir os resultados apresentados.

#### **4.4.2.4 Diagnóstico genético molecular**

Todos pacientes que fizeram parte deste estudo tem diagnósticos firmados, da forma de AEC 3 ou AEC 10, por testes genéticos utilizando técnicas padronizadas no Laboratório Genetika (Prof. Dr. Salmo Raskin).

Foi realizada coleta de sangue periférico dos pacientes participantes, extração de DNA e realização dos exames de genética molecular, por meio da técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase).

O material foi enviado para estudo de genética molecular por meio do laboratório Genetika em Curitiba, Paraná (Prof. Dr. Salmo Raskin), onde foi feita a extração do DNA, realizado através de técnica padrão (SAMBROOK J; FRITSCH EF; MANIATIS T, 2001), e posteriormente todo DNA extraído foi para a pesquisa da mutação da AEC

tipo 1, 2, 3, 6, 7, 10, 12, 17 e ADRPL. Sendo que os casos deste estudo, confirmaram as suspeitas iniciais de AEC 3 ou 10.

A pesquisa de AEC tipo 3 é realizada com a genotipagem para a pesquisa das diferentes expansões repetidas do triplete CAG localizadas nos genes AEC 3. E no caso da AEC tipo 10, a pesquisa da expansão repetida do pentanucleotídeo ATTCT localizado no intron 9 do gene da AEC tipo 10, também chamado de E46L (LOPES-CENDES I et al., 1997; MATSUURA T et al., 2000; RASMUSSEN A et al., 2001).

A análise por PCR foi realizada para detectar a repetição:

1. CAG no gene da AEC tipo 3 por meio de amplificação da reação de cadeia em polimerase (PCR) utilizando-se primers 3F-CCAGTCACTACTTTGATTC e 3R-GGCTGGCCTTTCACATGGAT, para a AEC tipo 3;
2. ATTCT no gene da AEC tipo 10 por meio da amplificação da reação de cadeia em polimerase (PCR) utilizando-se primers atttc-L (5'-AGAAAACAGATGGCAGAATGA-3') e attct-R (5'-GCCTGGGCAACATAGAGAGA-3'), para a AEC tipo 10.

Quando as amostras demonstram apenas um alelo normal, por meio de *Southern blot* para a verificação de grandes expansões, utilizou-se 10 ug de DNA genômico EcoR1-digest e uma sonda AEC 10 intron 9 de 800 bp, para verificar grandes expansões (MATSUURA T et al., 2000).

A reação de cadeia em polimerase foi executada com um volume total de 12,5 ul, com 100 ng de DNA genômico, 1 uM de cada primer, 200uM de dGTP, dCTP, dTTP, 01 unidade de Taq polimerase e 2 % de formamida. As amostras foram processadas por meio de 30 a 32 ciclos de desnaturação, anelamento (hibridização) e alongamento (extensão), em diferentes temperaturas, metodologia já validada. O produto desta etapa foi separado em gel a 6% de polycrilamida e em seguida transferido para membranas de nylon Hybond N+ e hibridizados com uma sonda rotulada como P32 3" (CAG)15. O tamanho dos alelos foi determinado a partir da migração comparada relativa à corrida de seqüenciamento M13. Os controles positivos em todas as análises são paciente previamente identificados (LOPES-CENDES I et al., 1997).

A determinação do tamanho dos alelos normais e os expandidos foram baseados nos relatos prévios da literatura:

1. AEC tipo 3: alelos normais - 12 a 42; alelos expandidos - 54 a 86 (PULST S, 2003);

2. AEC tipo 10: alelos normais - 10 a 21; alelos expandidos - 800 a 4500 (MATSUURA T et al., 2000; RASMUSSEN A et al., 2001).

#### 4.4.3. Avaliação por neuroimagem

Os pacientes foram submetidos a exame de ressonância magnética (RM) realizado em aparelho Siemens MAGNETOM Skyra scanner 3.0 T (Siemens Medical Systems, Erlangen, Germany) Syngo MR D13, do Serviço coparticipante DAPI (conforme anexo 3).

Os exames de imagem obtidos foram avaliados separadamente por dois neurorradiologistas certificados (ACN e SEO), cegos para o grupo pertencente de cada caso: AEC 3pacientes, AEC 10pacientes, AEC 3controle ou AEC 10controle.

Foi realizado protocolo convencional de RM que inclui imagens:

- 3D T1 MP-RAGE sagital (*Magnetization-Prepared Rapid Gradient-Echo*: TR 2530 / TE 3.36 / TI 1100 ms, largura de banda de 200Hz/pixel, ângulo de inclinação 7°, campo de visão 256 mm, 256 x 256 matriz, 176 cortes sagitais, com espessura de corte de 1 mm, dimensões do voxel: 1.0 x 1.0 x 1.0 mm<sup>3</sup>);
- 3D SPACE FLAIR sagital (*Fluid-attenuated inversion recovery*: TR 5000 / TE 395 ms, campo de visão 256 mm, 256 x 256 matrix, 176 cortes sagitais, com espessura de corte de 1 mm, dimensões do voxel: 1.0 x 1.0 x 1.0 mm<sup>3</sup>);

Os dados morfométricos (espessura cortical e volumes subcorticais) foram extraídos do padrão do *FreeSurfer* (versão estável 5.3, <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>).

A reconstrução cortical e a segmentação volumétrica será feita utilizando-se o pacote de software de análise de imagens *FreeSurfer*, que está documentado e disponível para consulta online (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). O processamento é feito com uma aquisição de RM volumétrica (3D) ponderada em T1, removendo tecidos que não são de interesse (ou seja, removendo por exemplo calota craniana, couro cabeludo, estruturas da face e pescoço, isolando-se apenas o encéfalo) (SEGONNE F et al., 2004), ajuste do volume T1 para coordenadas no espaço de coordenadas Talairach (*Talairach transformation*), segmentação volumétrica da substância branca subcortical e de estruturas de substância cinzenta profunda (inclui também hipocampus, amígdalas hipocampais, núcleos caudados, putamen, ventrículos) (FISCHL B et al., 2002; FISCHL B et al., 2004a), normalização da intensidade de sinal

(SLED et al., 1998), “tecelagem” (*tesselation*) da superfície (interface) substância branca – substância cinzenta com correções na superfície (*automated topology correction*) (FISCHL B et al., 2001; SEGONNE et al., 2007), e deformação na superfície seguindo gradientes de intensidade para otimizar o posicionamento dos limites entre substância branca e cinzenta e substância cinzenta e líquido cefalorraquidiano (DALE AM et al., 1999; FISCHL B, DALE AM, 2000). Na sequência procedimentos de deformação (*deformable procedures*) são realizados, incluindo “insuflação” (*inflation*) da superfície (FISCHL B et al., 1999a), registro para um atlas esférico, que é baseado em padrões da cortical para coincidir com a geometria cortical entre os indivíduos (FISCHL B et al., 1999b), divisão (*parcellation*) da córtex cerebral em unidades em relação ao sulcos e giros (DESIKAN RS et al., 2006; FISCHL B et al., 2004b), e criação de uma variedade de dados baseados em superfícies incluindo mapas de curvatura e profundidade de sulcos. Este método produz representações da espessura cortical, calculada como a distância mais próxima entre a interface córtex – substância branca e a interface córtex – líquido cefalorraquidiano em cada vértex da superfície “tecelada” (FISCHL B, DALE AM, 2000). Procedimentos de mensuração da espessura cortical tem sido validadas comparativamente a análises histológicas (ROSAS H et al., 2002) e a mensurações manuais (KURPERBERG G et al., 2003; SALAT D et al., 2004). Os procedimentos de morfometria do *FreeSurfer* tem mostrado boa confiabilidade em aparelhos de diversos fabricantes e em diferentes intensidade de campos magnéticos (DALE AM et al, 1999; FISCHL B et al., 1999a, 1999b, 2000, 2002, 2004a, 2004b; HAN X et al., 2006; REUTER M et al., 2010, 2011, 2012; SEGONNE F et al., 2004, 2007; SLED JG et al., 1998).

#### **4.4.4 Análise Estatística**

Os resultados foram apresentados como médias, medianas, valores mínimos e máximos e desvios-padrão (variáveis quantitativas) ou como frequências e porcentagens (variáveis categóricas). O teste t de Student ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney foram usados para comparar os grupos em termos de variáveis quantitativas. O teste do qui-quadrado com correção de Yates foi utilizado para a comparação dos grupos em relação às variáveis categóricas. Para avaliar a associação entre duas variáveis quantitativas, foi estimado o coeficiente de correlação

de Spearman. Os dados foram tabulados no software Microsoft Excel 2016 e analisados no Free Statistics Software (v 1.2.1) (WESSA P, 2017).

#### 4.5 RESULTADOS

A idade média dos pacientes com AEC 3 foi de  $46,04 \pm 12,49$  anos, enquanto a idade média no início dos sintomas foi de  $34,21 \pm 8,38$  anos. No grupo AEC 10, a idade média no dia da consulta e do início dos sintomas foram, respectivamente,  $46,43 \pm 8,04$  e  $32,72 \pm 8,51$  anos (Tabela 5).

Todos os pacientes tinham ataxia de marcha. Outros sintomas cerebelares foram comuns tanto em pacientes com AEC3 quanto em pacientes com AEC 10: ataxia de membros (10 contra 11), disartria (17 contra 17) e nistagmo (13 x 13) . Movimentos sacádicos lentos (4 x 4) e sintomas piramidais (espasticidade [2 x 2], hiperreflexia [8 x 5] e sinal de Babinski [3 x 1]) foram menos frequentes. Os pacientes do grupo AEC 3 apresentaram “*bulging eyes*” (5 contra 0;  $p = 0,019$ ), oftalmoplegia vertical (12 contra 1;  $p = 0,008$ ) e horizontal (8 contra 1;  $p = 0,018$ ) em relação aos pacientes AEC 10. Apenas um paciente com AEC 3 apresentou parkinsonismo. Correlações significativas positivas foram encontradas entre a duração da doença e o escore SARA, para ambos os grupos: forte no grupo AEC 3 ( $\rho = 0,872$ ;  $p = 0,000$ ) e moderada no grupo AEC 10 ( $\rho = 0,590$ ;  $p = 0,005$ ). Não observaram-se correlações significativas entre os dados clínicos, demográficos e genéticos dos pacientes de ambos os grupos de AECs.

**Tabela 5.** Características demográficas, clínicas e genética dos grupos.

Características	AEC 3			AEC 10			$p^*$
	Pacientes (n=19)	Controles (n=19)	$p$	Pacientes (n=18)	Controles (n=18)	$p$	
Gênero (masculino)	11	11	1	9	9	1	0,879
Idade (anos $\pm$ DP)	$46,04 \pm 12,49$	$45,04 \pm 11,70$	0,80	$46,43 \pm 8,04$	$47,13 \pm 8,92$	0,81	0,911
Idade de início dos sintomas (anos)	$34,47 \pm 8,35$	NA	NA	$32,72 \pm 8,51$	NA	NA	0,532
Tempo de doença (anos)	$11,56 \pm 6,60$	NA	NA	$13,23 \pm 11,51$	NA	NA	0,588

Características	AEC 3			AEC 10			p*
	Pacientes (n=19)	Controles (n=19)	p	Pacientes (n=18)	Controles (n=18)	p	
Escore SARA	13,92 ± 6,14	NA	NA	10,44 ± 6,20	NA	NA	0,095
Repetições da expansão no alelo	71,47 ± 4,61	NA	NA	1908,61 ± 167,56	NA	NA	NA

SARA = *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia*; DP = desvio-padrão; NA = não aplicável; p\* = entre AEC 3 e AEC 10.

A espessura cortical calculada pela RM das estruturas cerebrais nos pacientes com AEC 3 e AEC 10 comparada aos controles é mostrada nas Tabela 6 e 7. A análise volumétrica das estruturas subcorticais nos pacientes com AEC 3 e AEC 10 são demonstradas nas Tabela 8 e 9. Os resultados demonstraram que nos pacientes com AEC 3 houve maior número de estruturas afetadas em comparação com pacientes AEC 10 (15 contra 5 estruturas com redução volumétrica). As correlações entre os achados de NI e os dados clínicos, demográficos e genéticos dos pacientes com AEC 3 e AEC 10 estão apresentadas nas Tabela 10 e Tabela 11.

Nos pacientes com AEC 3, o tamanho da expansão CAG apresentou correlações positivas com SC cerebelar, tálamo, tronco cerebral e volumes totais de SC (Tabela 10). Já nos pacientes com AEC 10 os escores de SARA e a duração da doença se correlacionaram mais com a redução de volume de substância cinzenta (SC) cerebelar, de volume de SC subcortical e do volume do globo pálido (Tabela 11).

**Tabela 6.** Espessura cortical (mm) dos giros cerebrais em pacientes com AEC3. Somente regiões com resultados estatisticamente significantes são demonstrados (p<0,05)

Giro (mm)	Hemisfério esquerdo			Hemisfério direito		
	AEC3 (n=19)	Controles (n=19)	P	AEC3 (n=19)	Controles (n=19)	P
Frontal médio caudal	2.341±0.125	2.413±0.131	0.096	<b>2.339±0.151</b>	<b>2.434±0.139</b>	<b>0.049</b>
Temporal médio	2.773±0.132	2.845±0.130	0.099	<b>2.805±0.100</b>	<b>2.886±0.120</b>	<b>0.029</b>
<u>Pars triangularis</u>	<b>2.269±0.120</b>	<b>2.395±0.163</b>	<b>0.010</b>	2.314±0.129	2.392±0.136	0.079
Polo temporal	3.616±0.248	3.645±0.292	0.746	<b>3.702±0.247</b>	<b>3.891±0.212</b>	<b>0.016</b>

**Tabela 7.** Espessura cortical (mm) dos giros cerebrais em pacientes com AEC10. Somente regiões com resultados estatisticamente significantes são demonstrados ( $p < 0,05$ )

Giro (mm)	Hemisfério esquerdo			Hemisfério direito		
	Pacientes AEC 10 (n=18)	Controles (n=18)	p	Pacientes AEC 10 (n=18)	Controles (n=18)	p
Lingual*	2.001 ± 0.137	1.911 ± 0.103	0.028	2.037±0.128	1.994±0.129	0.304
Frontal inferior orbital	2.388 ± 0.138	2.270 ± 0.169	0.023	2.275±0.158	2.200±0.093	0.081
Giro parahipocampal	2.828 ± 0.307	2.619 ± 0.258	0.029	2.822±0.275	2.660±0.207	0.047
Cíngulo anterior	2.752 ± 0.300	2.562 ± 0.215	0.031	2.564±0.145	2.482±0.176	0.126
Polo frontal	2.683 ± 0.287	2.526 ± 0.163	0.045	2.613±0.239	2.549±0.211	0.387

\*Giro occipitotemporal medial

**Tabela 8.** Volume de estruturas subcorticais em pacientes com AEC 3 comparados com controles. Somente regiões com alterações estatisticamente significativas são demonstradas ( $P < 0,05$ ).

Regiões	Pacientes com AEC 3 (n=19)	Controles (n=19)	p
L cerebelum WM	8533.83 ± 2232.24	15758.78 ± 1967.71	<b>0.000</b>
L cerebelum GM	41050.76 ± 8746.06	51405.87 ± 6905.83	<b>0.000</b>
L thalamus	6490.39 ± 774.01	7743.85 ± 1281.19	<b>0.001</b>
L putamen	5083.49 ± 602.57	5655.82 ± 794.57	<b>0.017</b>
L pallidum	1214.19 ± 204.16	1460.05 ± 245.48	<b>0.002</b>
3rd ventricule	1422.73 ± 738.46	1030.80 ± 339.12	<b>0.043</b>
4th ventricule	3064.14 ± 1094.96	1683.71 ± 463.03	<b>0.000</b>
Braim stem	15884.98 ± 3526.43	21685.29 ± 2403.85	<b>0.000</b>
CSF	1135.75 ± 275.73	962.60 ± 229.70	<b>0.043</b>
L Accumbens	531.10 ± 113.98	612.99 ± 124.96	<b>0.042</b>
L diencephalon	3244.61 ± 385.48	3932.83 ± 474.77	<b>0.000</b>
R cerebelum WM	8341.01 ± 2511.27	15663.86 ± 1788.86	<b>0.000</b>
R cerebelum GM	42406.45 ± 8662.22	52902.17 ± 7247.58	<b>0.000</b>
R thalamus	6149.85 ± 637.20	6970.23 ± 788.31	<b>0.001</b>
R caudate	3419.04 ± 498.30	3762.82 ± 519.93	<b>0.045</b>
R putamen	4798.81 ± 596.67	5395.73 ± 770.82	<b>0.011</b>
R pallidum	1223.29 ± 147.00	1554.05 ± 195.65	<b>0.000</b>
R diencephalon	3301.39 ± 443.48	4007.68 ± 505.98	<b>0.000</b>
Subcortical GM volume	52001.00 ± 4591.93	58328.95 ± 6415.40	<b>0.001</b>
Total GM volume	573568.42 ± 55765.78	625485.41 ± 74968.70	<b>0.021</b>

L: left; R: right; WM: White matter; GM: gray matter.

**Tabela 9.** Volume de estruturas subcortiais em pacientes com AEC 10 comparados com controles. Somente regiões com alterações estatisticamente significativas são demonstradas ( $p < 0,05$ ).

Regiões	Pacientes com AEC 10 (n=18)	Controles (n=18)	p
L cerebelum WM	10764.37 ± 3174.82	15311.48 ± 1805.87	<b>0.000</b>
L cerebelum GM	34876.15 ± 8862.76	47652.72 ± 6483.92	<b>0.000</b>
L pallidum	1260.32±297.54	1444.23±251.22	<b>0.044</b>
4th ventricule	2475.61 ± 783.54	1632.36 ± 479.73	<b>0.000</b>
R lateral ventricule	10014.29 ± 5074.49	7080.54 ± 2858.87	<b>0.035</b>
R cerebelum WM	11045.95 ± 3208.70	15320.37 ± 1628.60	<b>0.000</b>
R cerebelum GM	36524.56 ± 9105.03	49212.09 ± 6617.59	<b>0.000</b>
R pallidum	1367.30 ± 183.77	1496.96 ± 198.25	<b>0.033</b>

L: left; R: right; WM: White matter; GM: gray matter.

**Tabela 10.** Correlações da redução de volume de regiões encefálicas e aspectos clínicos, demográficos e genéticos de pacientes com AEC 3. \* Redução volumétrica ( $\text{mm}^3$ ). Correlações significativas em negrito ( $p < 0,05$ ). Teste de Spearman.

Regiões*	AEC 3			
	Idade de início dos sintomas (anos)	Duração da doença (anos)	Escore SARA	CAGn
SC cerebelo	$\rho = -0,265$ $p = 0,272$	$\rho = -0,349$ $p = 0,142$	$\rho = -0,461$ $p = 0,046$	$\rho = 0,555$ $p = 0,016$
Tálamo	$\rho = -0,382$ $p = 0,106$	$\rho = -0,136$ $p = 0,576$	$\rho = -0,324$ $p = 0,175$	$\rho = 0,524$ $p = 0,025$
Globo pálido	$\rho = 0,085$ $p = 0,728$	$\rho = -0,149$ $p = 0,542$	$\rho = -0,045$ $p = 0,852$	$\rho = 0,342$ $p = 0,163$
Tronco encefálico	$\rho = -0,217$ $p = 0,37$	$\rho = -0,335$ $p = 0,16$	$\rho = -0,257$ $p = 0,287$	$\rho = 0,563$ $p = 0,014$
Volume de SC subcortical	$\rho = -0,101$ $p = 0,68$	$\rho = -0,08$ $p = 0,74$	$\rho = -0,192$ $p = 0,43$	$\rho = 0,367$ $p = 0,133$
Volume total de SC	$\rho = 0,136$ $p = 0,578$	$\rho = 0,064$ $p = 0,79$	$\rho = -0,195$ $p = 0,422$	$\rho = 0,495$ $p = 0,036$

**Tabela 11.** Correlações da redução de volume de regiões encefálicas e aspectos clínicos, demográficos e genéticos de pacientes com AEC 10. \* Redução volumétrica (mm<sup>3</sup>) Correlações significativas em negrito ( $p < 0,05$ ). Teste de Spearman.

Regiões*	AEC 10			
	Idade de início dos sintomas (anos)	Duração da doença (anos)	Escore SARA	ATTCTn
SC cerebelo	$\rho = 0,02$ $p = 0,934$	<b><math>\rho = -0,586</math></b> <b><math>p = 0,008</math></b>	<b><math>\rho = -0,557</math></b> <b><math>p = 0,013</math></b>	$\rho = 0,022$ $p = 0,925$
Tálamo	$\rho = -0,412$ $p = 0,079$	$\rho = -0,419$ $p = 0,073$	$\rho = -0,267$ $p = 0,26$	$\rho = 0,075$ $p = 0,757$
Globo pálido	$\rho = -0,285$ $p = 0,235$	$\rho = -0,431$ $p = 0,065$	<b><math>\rho = -0,55</math></b> <b><math>p = 0,014</math></b>	$\rho = -0,003$ $p = 0,988$
Tronco encefálico	$\rho = -0,382$ $p = 0,106$	$\rho = -0,225$ $p = 0,352$	$\rho = -0,26$ $p = 0,281$	$\rho = -0,148$ $p = 0,544$
Volume de SC subcortical	$\rho = -0,436$ $p = 0,061$	<b><math>\rho = -0,50</math></b> <b><math>p = 0,029</math></b>	<b><math>\rho = -0,475</math></b> <b><math>p = 0,039</math></b>	$\rho = 0,019$ $p = 0,937$
Volume total de SC	$\rho = -0,407$ $p = 0,083$	$\rho = -0,272$ $p = 0,259$	$\rho = -0,102$ $p = 0,677$	$\rho = -0,22$ $p = 0,36$

## DISCUSSÃO

Este estudo encontrou uma redução significativa no volume de estruturas subcorticais e na espessura dos giros corticais em pacientes com AEC 3 em comparação com seus controles, bem como alterações nesses parâmetros também em pacientes com AEC 10, embora em menor proporção. Os sintomas e o curso clínico desses duas AECs são distintos e que refletem dos diferentes achados de NI nas duas formas de AEC quando comparadas aos grupos controle.

Nos pacientes com AEC 3, as principais áreas com redução volumétrica significativa foram cerebelo, núcleos da base, tálamo, tronco encefálico e diencéfalo. Já nos pacientes com AEC 10, o cerebelo e globos pálidos apresentaram redução significativa de volume. Houve alterações mais extensas em pacientes com AEC 3.

Para os pacientes com AEC 3, houve correlação significativa positiva entre a expansão da repetição CAG (CAGn) e a perda de volume de substância branca (SB) cerebelar, tálamo, tronco cerebral e substância cinzenta (SC) subcortical total. Ainda, a perda de SC cerebelar correlacionou-se com maior gravidade dos sintomas

atáxicos (SARA). Assim, corroborando com esses resultados, estudos anteriores correlacionaram inversamente ataxia da marcha e dos membros e postura, medidos pelos escores da SARA, ao volume do tronco encefálico e dos hemisférios cerebelares e à área da medula espinhal (JACOBI H et al., 2012; FAHL CN et al., 2015). De acordo com resultados destes estudos, a correlação entre CAGn ou escores de SARA e o grau da atrofia do córtex cerebelar e dos núcleos cerebelares foi diversa de outro estudo (HUANG SR et al., 2016). Em outros estudos, o grau de atrofia no tronco encefálico e no cerebelo correlacionou-se não apenas à CAGn, mas também à idade, à duração da doença e à gravidade da doença, conforme pontuado pela *International Cooperative Ataxia Rating Scale* (ICARS) (CAMARGOS ST et al., 2011). Redução significativa volumétrica foi encontrada no cerebelo, tronco cerebral e córtex do lobo occipital, sendo que a SC cerebelar e o giro do cíngulo apresentaram correlação negativa significativa com os escores do SARA por STEFANESCU et al., 2015.

Nesta amostra do sul do Brasil, os pacientes com AEC 10 raramente apresentam epilepsia, assim como pouco comprometimento cognitivo ou presença de outros sinais não motores. Portanto, o aparecimento de alterações extracerebelares significativas da NI cerebral constitui um novo achado ainda não descrito na literatura. De forma diversa dos achados em AEC 3, nas imagens de pacientes com AEC 10 não houve correlação entre regiões cerebrais afetadas com o tamanho das expansões ATTCT (ATTCTn). Interrupções, arranjos genéticos cis e trans e instabilidade de repetição são algumas das características genéticas já sugeridas para explicar a evolução da doença e as características clínicas (MCFARLAND KN et al., 2013; TEIVE HAG et al., 2004). A variabilidade encontrada entre os pacientes com AEC 10 aqui estudadas e as famílias mexicanas com AEC 10 e com fenótipo mais complexo, pode ser devido as diferentes características genéticas destas populações (MCFARLAND KN et al., 2013; TEIVE HAG et al., 2004).

Pacientes pré-sintomáticos com AEC 3 podem apresentar alterações na NI principalmente na SB cerebelar, pedúnculo cerebral e também redução volumétrica no mesencéfalo, medula espinhal e substância negra (FAHL et al., 2015; REZENDE et al., 2018).

Com relação ao córtex cerebral de pacientes com AEC 3 comparados aos controles, foram encontradas dimensões reduzidas no polo temporal direito (PT), giro temporal médio direito (TM), giro frontal médio-caudal (FMC) direito e *pars triangularis*

do giro frontal inferior esquerdo, achados estes parcialmente concordantes com os observados por REZENDE TJR et al, 2014.

Alterações da motricidade ocular foi muito mais comum nos pacientes com AEC 3 em relação aos com AEC 10. De fato, estas alterações podem estar presentes em até 80% dos pacientes com AEC 3 e podem ser úteis no diagnóstico diferencial com outros AECs (NASCIMENTO FA et al., 2019).

Memória episódica e pessoal (PT), memória semântica e integração de diferentes tipos de sentidos (TM) também são funções das áreas corticais afetadas observadas nos pacientes com AEC 3 deste estudo. A *pars triangularis* do giro frontal inferior esquerdo está envolvida no processamento semântico da linguagem (área de Brodmann 45 - área de Broca). Tais achados suportam achados de estudos anteriores que demonstraram alteração da cognição principalmente para nomeação, atenção, memória e função executiva (GARRARD P et al., 2008) e memória verbal (BÜRK K et al., 2003) em pacientes com AEC 3.

D'ABREU et al. (2012) também encontraram alterações das estruturas neocorticais em pacientes com AEC 3 demonstrando redução da densidade de massa cinzenta nos lobos frontal, parietal, temporal, occipital e límbico. Os principais fatores relacionados ao grau de atrofia na análise multivariada foram CAGn, duração da doença e idade. Neste estudo, o padrão de redução de volume entre pacientes com AEC 3, quando comparado aos controles, foi ainda maior do que o encontrado em nosso estudo.

A constatação de envolvimento mais amplo supratentorial em estudos prévios e no presente estudo estão em discordância com estudos neuropatológicos e de neuroimagem anteriores, nos quais foi não observado envolvimento cortical (COUTINHO P et al., 1982; LUKAS C et al., 2006; SCHULZ JB et al., 2010), e estão em acordo com o conhecimento de que a ataxina-3 é difusamente presente no cérebro (PAULSON et al., 1997). Esta aparente discrepância deve-se provavelmente às diferentes características técnicas entre métodos como a volumetria baseada em voxels (VBM) e o método Freesurfer (MacDONALD et al. 2000; REZENDE TJR et al, 2014).

Essas áreas corticais parecem estar relacionadas com o comprometimento cognitivo das AECs. A síndrome de Schmahmann é conhecida em pacientes com disfunção cerebelar e inclui disfunção executiva, disfunção espacial, déficits de

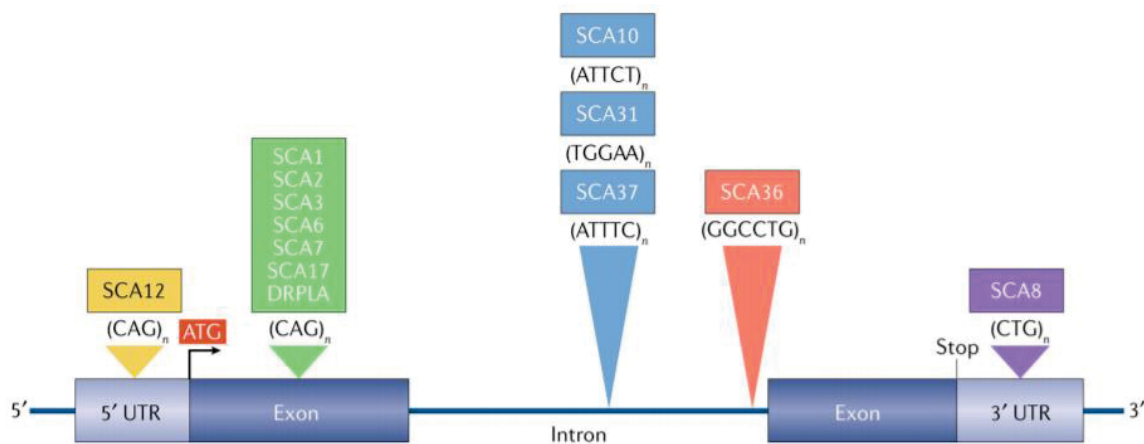
linguagem (fluência fonêmica) e distúrbios de personalidade como exemplos principais de comprometimento cognitivo (HOICHE F et al., 2017).

Em pacientes com AEC 10, o comprometimento da espessura das estruturas corticais foi significativamente menor quando comparada aos controles, sendo notadas no polo frontal esquerdo, no giro orbital médio, no giro do cíngulo anterior rostral, giro occipitotemporal medial (lingual) esquerdos e giro para-hipocampal bilateralmente. Essas estruturas são importantes para muitas funções cognitivas, comportamentais e de humor. O giro para-hipocampal bilateral desempenha um papel importante na codificação e recuperação da memória. Finalmente, poucas alterações não motoras em pacientes com AEC 10 tem sido constatados com algumas diferenças sutis nos testes de cognição quando comparados aos controles (NAITO H et al., 2017; TEIVE et al., 2004; MORO et al, 2017, 2019).

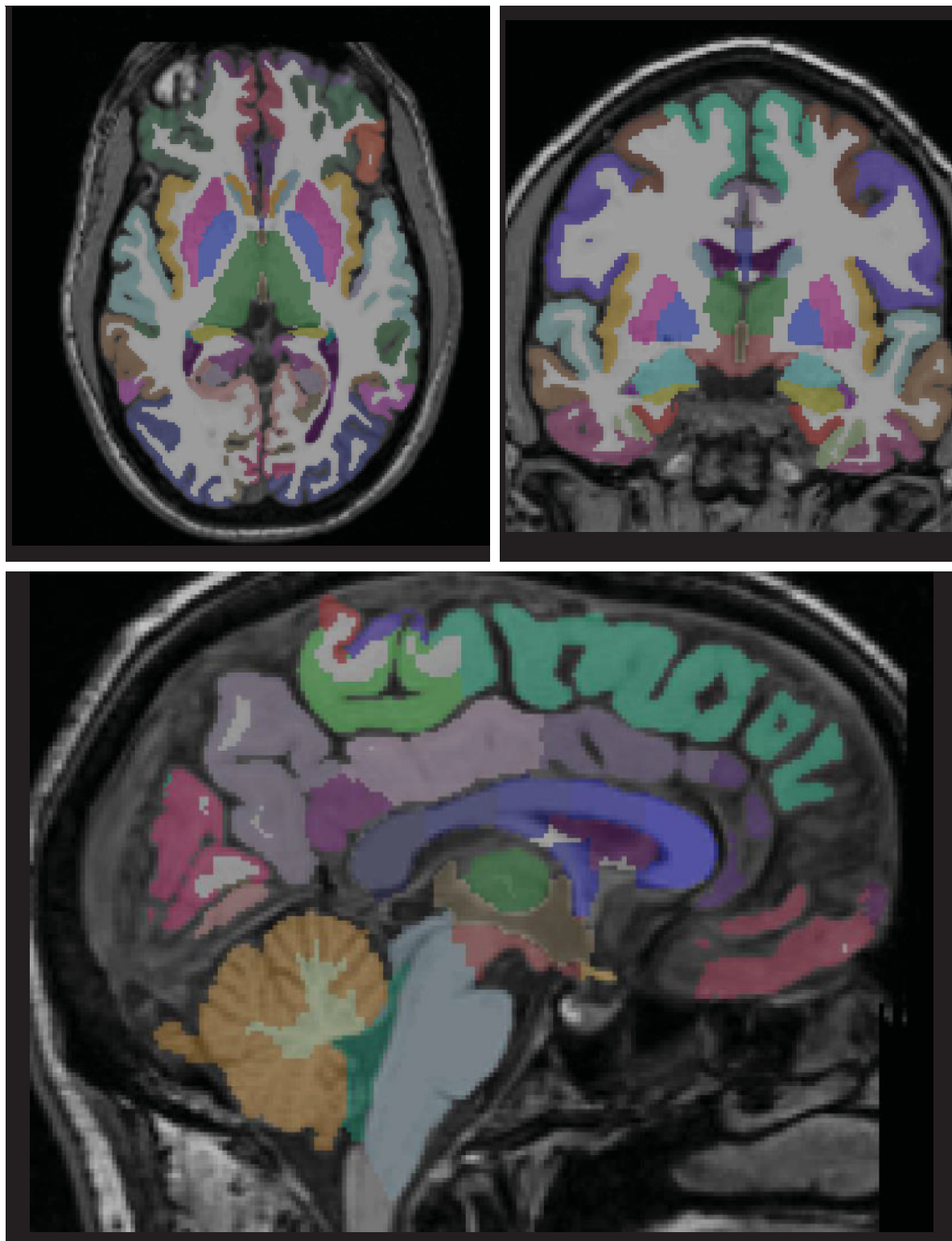
O não comprometimento do tálamo em nossos pacientes com AEC 10, todos sem apresentarem epilepsia associada, corrobora com a observação de HERNANDEZ-CASTILLO CR (2019), no qual em seu estudo de 18 pacientes mexicanos com AEC 10 (11 com epilepsia) foi o acometimento severo do tálamo nos pacientes com epilepsia, o que sugere o papel potencial do envolvimento do tálamo para o desenvolvimento de epilepsia nos pacientes com AEC 10.

**MATERIAL SUPLEMENTAR - FIGURAS**

**Figura 1** – Ataxias hereditárias degenerativas causadas por expansões de repetições em microssatélites. 5' UTR ; 3'UTR - untranslated region. - Extraído de ASHISAWA T, ÖZ G, PAULSON HL, Spinocerebellar ataxias: prospects and challenges for therapy development. *Nat Rev Neurol* 2018;14:590-605.



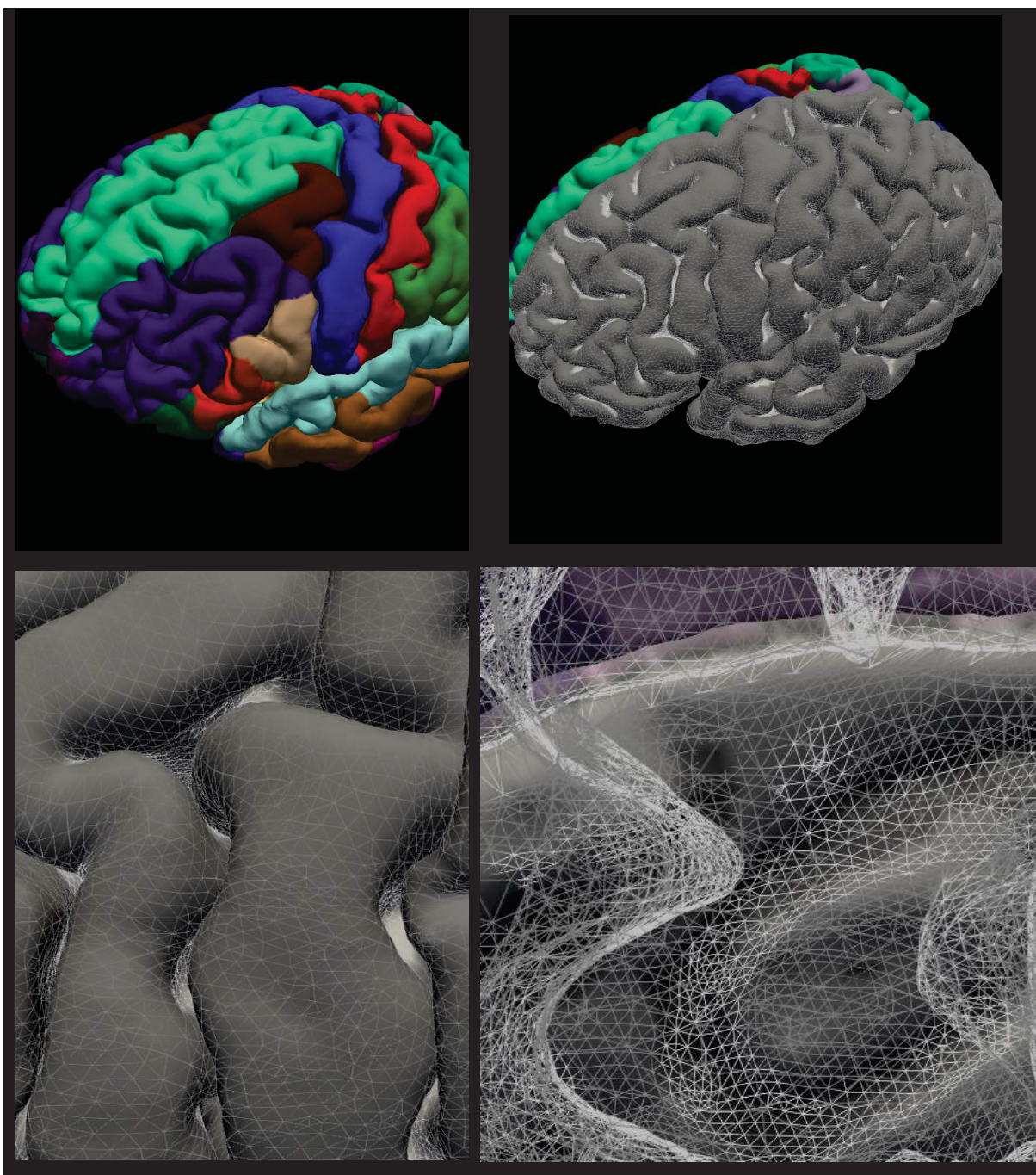
**Figura 2** – Substância cinzenta em sobreposição à imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 para produção de representação de espessura cortical



No sentido horário: corte transversal, corte coronal, corte sagital na linha média

**Figura 3** – Imagens do processo de produção da representação da espessura cortical

\*



No sentido horário: segmentação automática dos giros; superfície e malha formada pelos vértices; zoom da imagem anterior; tecelagem da malha de vértice (*tessellated surface*)

\*calculada como a distância mais próxima do limite cinza / branco) até o limite cinza / CSF em cada vértice na tecelagem da malha de vértex (*tessellated surface*).

## CONCLUSÕES

1 – Observaram-se alterações significativas em diversas áreas corticais e subcorticais encefálicas com redução de espessura e volume, em pacientes com AEC 3 e AEC 10, quando comparadas ao grupo controle. A extensão de áreas afetadas em pacientes com AEC3 (cerebelo, tálamo, globos pálidos, putamen, núcleo caudado, *nucleus accumbens*, diencéfalo e tronco encefálico) foi maior que a observada em pacientes com AEC10 (cerebelo e os globos pálidos).

- a) Nos pacientes com AEC 10, quanto maior a duração da doença, maior foi a perda de substância cinzenta cerebelar e da substância cinzenta subcortical. Não observou-se correlação entre duração da doença e perda de volume encefálico entre os pacientes com AEC 3.

- b) Houve correlação entre a tamanho das expansões CAG com maior perda de substância cinzenta cerebelar, tronco encefálico, tálamo e volume total reduzida da substância cinzenta. Nos pacientes com AEC 10 não houve correlação significativa entre o tamanho das expansões ATTCT e graus de perda de volume de todas estruturas analisadas.

- c) Os pacientes com AEC3 e AEC10 não apresentam diferença significativa no tocante à idade de início e gravidade avaliado pela escala SARA. Não obstante, os pacientes com AEC3 apresentam uma quadro sintomatológico muito mais rico em comparação aos pacientes com AEC10, provavelmente reflexo do maior grau de alterações volumétricas corticais e subcorticais observadas naquele grupo. Em ambos grupos (AEC3 e AEC10), maior tempo de duração da doença com maior perda resultante de volume cerebelar tiveram correlação significativa com a gravidade dos sintomas (SARA).

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. et al. Ancestral Origin of the ATTCT Repeat Expansion in Spinocerebellar Ataxia Type 10 (SCA10). **PLoS ONE** 2009; 4: e4553.
- ARRUDA, WO; TEIVE, H. A. G. Ataxias cerebelares hereditárias: do martelo ao gen. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 1997; 55:666–676.
- ASHIZAWA T. Spinocerebellar ataxia type 10. **Handbook of Clinical Neurology** 2012; 103:507–519.
- ASHIZAWA, T.; XIA, G. Ataxia. **CONTINUUM: Lifelong Learning in Neurology**, 2016; 22:1208–1226.
- ASHISAWA T, ÖZ G, PAULSON HL, Spinocerebellar ataxias: prospects and challenges for therapy development. **Nat Rev Neurol**. 2018;14:590-605.
- BARSOTTINI, O. G. P. et al. Adult onset sporadic ataxias: a diagnostic challenge. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 2014; 72:232–240
- BESSMAN, M. J. et al. Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. **Biochimica et biophysica acta** 1956; 21:197–8
- BIRD, T. D. **Hereditary Ataxia Overview**. 1993. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20301317>>. Acesso em: 19 out. 2018.
- BRAGA-NETO, P. et al. Translation and validation into Brazilian version of the Scale of the Assessment and Rating of Ataxia (SARA). **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, 2010; 68:228–230.
- BRUSCO, A. et al. Molecular Genetics of Hereditary Spinocerebellar Ataxia. **Arch Neurol**. 2005; 61:727–733
- BÜRK, K. et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2 and SCA3. **Brain** 1996; 119:1497–505
- BÜRK, K. et al. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. **Journal of Neurology**. 2003; 250: 207–211.
- BÜRK, K.; SKALEJ, M.; DICHGANS, J. Pontine MRI hyperintensities (“the cross sign”) are not pathognomonic for multiple system atrophy (MSA). **Movement Disorder** 2001;

16:535–535.

CAMARGOS, S. T.; MARQUES-JR, W.; SANTOS, A. C. Brain stem and cerebellum volumetric analysis of Machado Joseph disease patients. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 2011; 69:292–296.

CAMPBELL, W. W. Chapter 43 - Cerebellar function. In: **DeJong's. The Neurologic examination**. 6<sup>a</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Company, 2005. p. 427–439.

COUTINHO, P Doença de Machado-Joseph : Tentativa de definição. Dissertação de candidatura ao grau de Doutor, apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, sob a orientação dos Professores Corino Andrade, Jorge Sequeiros e Carolina Costa Silva. 1992. [https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/644\\_TD\\_01\\_P](https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/644_TD_01_P)

COUTINHO, P.; ANDRADE, C. Autosomal dominant system degeneration in Portuguese families of the Azores Islands. A new genetic disorder involving cerebellar, pyramidal, extrapyramidal and spinal cord motor functions. **Neurology** 1978; 28:703–709.

COUTINHO, P.; GUIMARÃES, A.; SCARAVILLI, F. The pathology of Machado-Joseph disease: report of a possible homozygous case. **Acta Neuropath (Berlin)** 1982; 58: 48–54.

D'ABREU, A. et al. Neocortical atrophy in Machado-Joseph disease: a longitudinal neuroimaging study. **J Neuroimaging**. 2012; 22: 285-291.

DALE, A. M.; FISCHL, B.; SERENO, M.I.. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. **Neuroimage** 1999; 9:179-194

DAYAN, M. et al. Impact of cerebellar atrophy on cortical gray matter and cerebellar peduncles as assessed by voxel-based morphometry and high angular resolution diffusion imaging. **Functional Neurology** 2016; 31:239–248

DE CASTILHOS, R. M. et al. Spinocerebellar Ataxias in Brazil—Frequencies and Modulating Effects of Related Genes. **The Cerebellum** 2014; 13:17–28.

DEISTUNG, A. et al. Structural and Functional Magnetic Resonance Imaging of the Cerebellum: Considerations for Assessing Cerebellar Ataxias. **The Cerebellum** 2016; 15:21–25.

DESIKAN, R.S. et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. **Neuroimage** 2006; 31: 968-980.

DÖHLINGER, S. et al. Magnetic resonance imaging in spinocerebellar ataxias. **The Cerebellum** 2008; 7:204–214.

DURR, A. et al. Spinocerebellar ataxia 3 and Machado-Joseph disease: Clinical, molecular, and neuropathological features. **Annals of Neurology** 1996; 39:490–499

FAHL, C. N. et al. Spinal Cord Damage in Machado-Joseph Disease. **The Cerebellum**. 2015; 14: 128-132.

FAHN, S.; JANKOVIC, J. Chapter 22 – Ataxia. Pathophysiology and Clinical Syndromes. In: **Principles and Practice of Movement Disorders**. 1<sup>st</sup>. ed. Churchill Livingstone Elsevier, 2007.

FISCHL, B., et al. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. **Neuroimage** 1999a; 9:195-207.

FISCHL, B., et al. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. **Hum Brain Mapp** 1999b; 8:272-284

FISCHL, B.; DALE, A.M.. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 2000; 97:11050-11055

FISCHL, B., LIU, A., DALE, A.M. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. **IEEE Trans Med Imaging** 2001; 20:70-80.

FISCHL, B. et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. **Neuron** 2002; 33: 341-355.

FISCHL, B., et al. Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. **Neuroimage** 2004a; 23:S69-84.

FISCHL, B., et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. **Cereb Cortex**. 2004b; 14:11-22.

FOLHA SANTOS, F.A. et al., Sleep apnea in Machado-Joseph disease: a clinical and polysomnographic evaluation. **Sleep Med.** 2018; 48:23-26.

GARRARD, P. et al. Cognitive and social cognitive functioning in spinocerebellar ataxia: a preliminary characterization. **J Neurol.** 2008; 255: 398-405.

GLICKSTEIN M, DORON K. Cerebellum: connections and functions. **Cerebellum** 2008; 7: 589–94.

HANNAN AJ. Tandem repeats mediating genetic plasticity in health and disease. **Nat Rev Genet.** 2018; 19:286-298.

HARA, D. et al. MRI-based cerebellar volume measurements correlate with the International Cooperative Ataxia Rating Scale score in patients with spinocerebellar degeneration or multiple system atrophy. **Cerebellum & Ataxias.** 2016; 3:1-10.

HAN, X., et al. Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: the effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. **Neuroimage** 2006; 32:180-194.

HEKMAN, K. E.; GOMEZ, C. M. The autosomal dominant spinocerebellar ataxias: Emerging mechanistic themes suggest pervasive Purkinje cell vulnerability. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry.** 2015; 86:554–561.

HERNANDEZ-CASTILLO, C.R. et al. Extensive cerebellar and thalamic degeneration in spinocerebellar ataxia type 10. **Parkinsonism and Related Disorders** 2019; 66:182-188.

HIRAYAMA, K. et al. Clinicopathological study of dentatorubro-pallidoluysian atrophy. Part 1. Its clinical form and analysis of symptomatology. **Shinkei Kenkyu no Shinpo** 1981; 25:725–736.

HIRAYAMA, K. et al. Spinocerebellar degenerations in Japan: a nationwide epidemiological and clinical study. **Acta Neurologica scandinavia.** 1994; 153:1–22.

HOCHE, F. et al. The cerebellar cognitive affective/Schmahmann syndrome scale. **Brain.** 2017; 141: 248–270.

HUANG, S. R. et al. CAG repeat length does not associate with the rate of cerebellar degeneration in spinocerebellar ataxia type 3. **NeuroImage: Clinical.** 2017; 13: 97–105

IGARASHI, S. et al. Intergenerational instability of the CAG repeat of the gene for Machado-Joseph disease (MJD1) is affected by the genotype of the normal chromosome: implications for the molecular mechanisms of the instability of the CAG repeat. **Human molecular genetics** 1996; 5:923–32.

JACOBI, H. et al. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3 and 6: The clinical spectrum of ataxia and morphometric brainstem and cerebellar findings. **Cerebellum** 2012; 11:155–166.

JARDIM, L. B. et al. Neurologic findings in Machado-Joseph disease: relation with disease duration, subtypes, and (CAG)<sub>n</sub>. **Archives of neurology** 2001; 58:899–904.

JOSEPH SAMBROOK; EF FRITSCH; T MANIATIS. **Molecular cloning : a laboratory manual / J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis - Details - Trove**. 3rd. ed. N.Y.: Cold Spring Harbor, 2001. <https://trove.nla.gov.au/work/13615226>

JOVICICH, J., et al. Reliability in multi-site structural MRI studies: effects of gradient non-linearity correction on phantom and human data. **Neuroimage** 2006; 30:436-443.

KANG J-S et al. White matter damage is related to ataxia severity in SCA3. **J Neurol**. 2014; 261: 291-299.

KAWAGUCHI, Y. et al. CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. **Nature Genetics**. 1994; 8: 221–228.

KLAES A. et al. MR Imaging in Spinocerebellar Ataxias: A Systematic Review. **AJNR Am J Neuroradiol**. 2016; 37 (8): 1405-1412.

KLOCKGETHER, T. et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. MRI-based volumetry of posterior fossa structures and basal ganglia in spinocerebellar ataxia types 1, 2 and 3. **Brain** 1998 ; 121:1687–1693.

KLOCKGETHER, T. Ataxias. **Parkinsonism and Related Disorders** 2007; 13: S391–S394.

KOIDE, R. et al. Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral–pallidoluysian atrophy (DRPLA). **Nature Genetics** 1994; 6:9–13.

KUPERBERGER G et al. Regionally localized thinning of the cerebral cortex in

schizophrenia. **Archives of General Psychiatry** 2003; 60:878-888.

LONDON E, et al. Sleep disorders in spinocerebellar ataxia type 10. **J Sleep Res.** 2018; 27:e12688. Epub 2018 Apr 6.

LOPES-CENDES, I. et al. Molecular characteristics of Machado-Joseph disease mutation in 25 newly described Brazilian families. **Brazilian Journal of Genetics** 1997; 20: 717–724.

LOPES-CENDESI, I. et al. Frequency of the different mutations causing spinocerebellar ataxia (SCA1, SCA2, MJD/SCA3 and DRPLA) in a large group of Brazilian patients. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 1997 ; 55: 519–529.

LUKAS, C. et al. Dissociation of grey and white matter reduction in spinocerebellar ataxia type 3 and 6: A voxel-based morphometry study. **Neuroscience Letters** 2006; 408: 230–235.

MacDONALD D et al. Automated 3-D extraction of inner and outer surfaces of cerebral cortex from MRI. **Neuroimage** 2000; 12: 340-356.

MARUFF, P. et al. Cognitive deficits in Machado-Josephs disease. **Annals of Neurology.** 1996; 40: 421–427.

MARUYAMA, H. et al. Molecular features of the CAG repeats and clinical manifestation of Machado-Joseph disease. **Human molecular genetics** 1995; 4:807–812.

MATSUMURA, R. et al. The relationship between trinucleotide repeat length and phenotypic variation in Machado-Joseph disease. **Journal of the Neurological Sciences.** 1996; 139: 52–57.

MATSUURA, T. et al. Large expansion of the ATTCT pentanucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 10. **Nature Genetics.** 2000; 26:191–194.

MATSUURA, T, et al. Somatic and germline instability of the ATTCT repeat in spinocerebellar ataxia type 10. **Am J Hum Genet.** 2004; 74:1216-1224.

MCFARLAND, K. N. et al. Repeat interruptions in spinocerebellar ataxia type 10 expansions are strongly associated with epileptic seizures. **Neurogenetics** 2014; 15:59–64.

MCFARLAND, K. N. et al. Paradoxical effects of repeat interruptions on

spinocerebellar ataxia type 10 expansions and repeat instability. **European Journal of Human Genetics**. 2013; 21: 1272–1276.

MEERA P et al. Cellular and circuit mechanisms underlying spinocerebellar ataxias. **Journal of Physiology**. 2016; 594:4653-60

MEIRA AT et al. Neuroradiological Findings in the Spinocerebellar Ataxias. **Tremor Other Hyperkinet Mov**. 2019: 9.

MINATI L. et al. MR Spectroscopy, Functional MRI, and Diffusion-Tensor Imaging in the Aging Brain: A Conceptual Review. **J Geriatr Psychiatry Neurol**. 2007; 20: 3-21.

MORO, A. et al. Clinical relevance of “bulging eyes” for the differential diagnosis of spinocerebellar ataxias. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 2013; 71: 428–430.

MORO, A. et al. Spinocerebellar ataxia type 3: subphenotypes in a cohort of brazilian patients. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**, 2014; 72:659–662.

MORO, A. et al. Nonmotor Symptoms in Patients with Spinocerebellar Ataxia Type 10. **Cerebellum**, 2017; 16: 938–944.

MORO, A. et al. Nonmotor symptoms in spinocerebellar ataxias (SCAs). **Cerebellum Ataxias**. 2019a; 27:6-12

MORO A, et al. Is fatigue an important finding in patients with spinocerebellar ataxia type 10 (SCA10)? **Journal of Clinical Neuroscience**. 2019b. pii: S0967-5868(19)31391-8. doi: 10.1016/j.jocn.2019.08.097. [Epub ahead of print]

NAITO, H.; OYANAGI, S. Familial myoclonus epilepsy and choreoathetosis: hereditary dentatorubral-pallidoluysian atrophy. **Neurology**. 1982; 32: 798–807.

NAITO, H. et al. First report of a Japanese family with spinocerebellar ataxia type 10: The second report from Asia after a report from China. **PLoS One**. 2017; 12 (5): e0177955.

NAKANO, K. K.; DAWSON, D. M.; SPENCE, A. Machado disease. A hereditary ataxia in Portuguese emigrants to Massachusetts. **Neurology** 1972; 22: 49–55.

NASCIMENTO, F. A. et al. Spinocerebellar ataxias in Southern Brazil: Genotypic and phenotypic evaluation of 213 families. **Clin Neurol Neurosurg**. 2019; 184:105427.

NÉMETH, A. H. et al. Next generation sequencing for molecular diagnosis of

neurological disorders using ataxias as a model. **Brain**. 2013; 136: 3106–3118

NIBEELING EAR, et al. Exome sequencing and network analysis identifies shared mechanisms underlying spinocerebellar ataxia. **Brain**. 2017;140: 2860-2878

OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man: An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Center for Medical Genetics, Johns Hopkins University (Baltimore, MD) & National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine (Bethesda, MD), 1999. Disponível em: <<https://www.omim.org/>>. Acesso em: 19 out. 2018.

PAULSON, H. L. **Machado – Joseph disease / spinocerebellar ataxia type 3**. 1. ed. Elsevier B.V., 2012. v. 103

PAULSON, H. L. The Spinocerebellar Ataxias. **Journal of Neuro-Ophthalmology**, 2009; 29: 227–237.

PAULSON, H. L.; SUBRAMONY, S. H. Spinocerebellar ataxia 3-Machado-Joseph disease (SCA 3). In: PULST, S. M. (Ed.). **Genetics of Movement Disorders**. Amsterdam: Academic Press, 2003. p. 57–70.

PAULSON H. L. et al. Machado-Joseph disease gene product is a cytoplasmic protein widely expressed in brain. **Ann Neurol**. 1997; 41: 453-62.

PEDROSO, J. L. et al. Machado-Joseph disease in Brazil: from the first descriptions to the emergence as the most common spinocerebellar ataxia. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. 2012; 70:630–632.

PEDROSO, J. L. et al. Nonmotor and extracerebellar features in Machado-Joseph disease: A review. **Movement Disorders** 2013; 28: 1200–1208.

PERUCCA, G. et al. Role of neuroimaging in the diagnosis of hereditary cerebellar ataxias in childhood. **Journal of Neuroradiology**. 2016; 43:176–185.

PULST, S. M. Introduction to medical genetics and methods of DNA testing. In: PULST, S. M. (Ed.). **Genetics of Movement Disorders**. Orlando: Academic Press, 2003. p. 01-18.

PULST, S.; PERLMAN, S. Hereditary ataxias. In: PULST, S. (Ed.). **Neurogenetics**. Oxford: Oxford University Press, 2000. p. 231–264.

RASMUSSEN, A. et al. Clinical and genetic analysis of four Mexican families with spinocerebellar ataxia type 10. **Annals of neurology** 2001; 50: 234–239.

REUTER M. et al. Within-Subject Template Estimation for Unbiased Longitudinal Image Analysis. **Neuroimage** 2012; 61: 1402-1418.

REUTER, M.; FISCHL, B. Avoiding asymmetry-induced bias in longitudinal image processing. **Neuroimage**. 2011; 57 :19-21.

REUTER, M.; ROSAS, H.D.; FISCHL, B. Highly Accurate Inverse Consistent Registration: A Robust Approach. **Neuroimage**. 2010; 53: 1181–1196.

REZENDE, T.J.R. et al. Cerebral cortex involvement in Machado-Joseph disease. **European Journal of Neurology** 2015; 22: 277-283

REZENDE, T. J. R. et al. Structural signature of SCA3: From presymptomatic to late disease stages. **Annals of Neurology** 2018; 84: 401–408.

RIESS, O. et al. SCA3: Neurological features , pathogenesis and animal models. **Mov Dis**, 2008; 7: 125–137.

RODRIGUES, C.M.; TODD, P.K. New pathologic mechanisms in nucleotide repeat expansion disorders. **Neurobiol Dis**. 2019;130:1-15.

ROMANUL, F. C. A. et al. Azorean Disease of the Nervous System. **New England Journal of Medicine**. 1977; 296:1505–1508.

ROSENBERG, R. N. et al. Autosomal dominant striatonigral degeneration. A clinical, pathologic, and biochemical study of a new genetic disorder. **Neurology**. 1976; 26:703–714.

RUANO, L. et al. The global epidemiology of hereditary ataxia and spastic paraplegia: A systematic review of prevalence studies. **Neuroepidemiology** 2014; 42:174–183.

RÜB, U.; BRUNT, E. R.; DELLER, T. New insights into the pathoanatomy of spinocerebellar ataxia type 3 (Machado–Joseph disease). **Current Opinion in Neurology**. 2008; 21:111–116.

SAIKI, R. K. et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science (New York, N.Y.)** 1985; 230:1350–1354, 1985.

- SAKAKIBARA, R. et al. Genetic Screening for Spinocerebellar Ataxia Genes in a Japanese Single-Hospital Cohort. **Journal of Movement Disorders**. 2017; 10:116–122.
- SALAT D et al. Thinning of the cerebral cortex and aging. **Cerebral Cortex** 2004; 14: 721-730.
- SALEEM, Q. et al. Molecular analysis of autosomal dominant hereditary ataxias in the Indian population: high frequency of SCA2 and evidence for a common founder mutation. **Human genetics** 2000; 106:179–187.
- SARVA, H.; SHANKER, V. L. Treatment Options in Degenerative Cerebellar Ataxia: A Systematic Review. **Movement Disorders Clinical Practice**. 2014; 1:291–298.
- SCHMIDT, T. et al. An Isoform of Ataxin-3 Accumulates in the Nucleus of Neuronal Cells in Affected Brain Regions of SCA3 Patients. **Brain Pathology** 1998; 8:669–679.
- SCHMITZ-HÜBSCH, T. et al. Reliability and validity of the International Cooperative Ataxia Rating Scale: A study in 156 spinocerebellar ataxia patients. **Movement Disorders** 2006; 21: 699–704.
- SCHÖLS, L. et al. Relations between genotype and phenotype in German patients with the Machado-Joseph disease mutation. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry** 1996; 61:466–470.
- SCHÖLS, L. et al. Sleep disturbance in spinocerebellar ataxias: is the SCA3 mutation a cause of restless legs syndrome? **Neurology** 1998; 51:1603–1607.
- SCHÖLS, L. et al. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. **Lancet Neurol**. 2004; 3: 291-294.
- SCHÖLS, L.; PAULSON, H.; RIESS, O. Spinocerebellar ataxia type 3. In: KLOCKGETHER, T. (Ed.). **Handbook of ataxia disorders**. New York: Marcel Dekker, 2000. p. 385–423.
- SCHULZ J. B. et al. Visualization, quantification and correlation of brain atrophy with clinical symptoms in spinocerebellar ataxia types 1, 3 and 6. **Neuroimage**. 2010; 49 (1): 158-168.
- SEGONNE, F., et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. **Neuroimage** 2004; 22:1060-1075.

SEGONNE, F.; PACHECO, J.; FISCHL, B. Geometrically accurate topology-correction of cortical surfaces using nonseparating loops. **IEEE Trans Med Imaging** 2007; 26:518-529.

SEQUEIROS, J.; COUTINHO, P. Epidemiology and clinical aspects of Machado-Joseph disease. **Advances in neurology** 1993; 61:139–153.

SILVEIRA, I. et al. Trinucleotide repeats in 202 families with ataxia: a small expanded (CAG)<sub>n</sub> allele at the SCA17 locus. **Archives of neurology** 2002; 59:623–629.

SLED, J.G.; ZIJDENBOS, A.P.; EVANS, A.C. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. **IEEE Trans Med Imaging** 1998; 17: 87-97.

SOUTHERN, E. M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. **Journal of molecular biology** 1975; 98: 503–517.

STEFANESCU, M. R. et al. Structural and functional MRI abnormalities of cerebellar cortex and nuclei in SCA3, SCA6 and Friedreich's ataxia. **Brain** 2015; 138:1182–1197.

SUBRAMONY, S. H.; FILLA, A. Autosomal dominant spinocerebellar ataxias ad infinitum? **Neurology** 2001; 56:287–289.

SUENAGA, T. et al. Ubiquitin-immunoreactive inclusions in anterior horn cells and hypoglossal neurons in a case with Joseph's disease. **Acta Neuropathol (Berl)** 1993; 85:341–344.

SUN YM, LU C, WU ZY. Spinocerebellar ataxia: relationship between phenotype and genotype - a review. **Clin Genet.** 2016; 90 (4): 305-314.

SYMMS, M. A review of structural magnetic resonance neuroimaging. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry** 2004; 75:1235–1244.

TANG, B. et al. Frequency of SCA1, SCA2, SCA3/MJD, SCA6, SCA7, and DRPLA CAG trinucleotide repeat expansion in patients with hereditary spinocerebellar ataxia from Chinese kindreds. **Archives of Neurology** 2000; 57:540–544.

TEIVE, H. A. G. et al. Spinocerebellar ataxias – genotype-phenotype correlations in 104 Brazilian families. **Clinics** 2012; 67: 443–449.

TEIVE, H. A. G. et al. Clinical phenotype of Brazilian families with spinocerebellar

ataxia 10. **Neurology** 2004; 63:1509–1512.

TEIVE, H. A. G. et al. The history of spinocerebellar ataxia type 10 in Brazil: Travels of a gene. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria** 2007; 65:965–968.

TEIVE, H. A. G. Spinocerebellar ataxias. **Arquivos de Neuro-Psiquiatria**. 2009; 67:1133–1142, 2009.

TEIVE, H. A. G. et al. Spinocerebellar ataxia type 10: Frequency of epilepsy in a large sample of Brazilian patients. **Movement Disorders** 2010; 25: 2875–2878.

TEIVE, H. A. G.; ASHIZAWA, T. Primary and secondary ataxias. **Current opinion in neurology** 2015; 28:413–422.

TEIVE, H. A. G. et al. The Geographic Diversity of Spinocerebellar Ataxias (SCAs) in the Americas: A Systematic Review. **Movement Disorders** 2019; 6: 531-540

VAN ALFEN, N. et al. Intermediate CAG repeat lengths (53,54) for MJD/SCA3 are associated with an abnormal phenotype. **Annals of neurology** 2001; 49: 805–7

WANG, Y. et al. Six cases of SCA3/MJD patients that mimic hereditary spastic paraplegia in clinic. **Journal of the Neurological Sciences**. 2009; 285:121–124.

WANG K. et al. Spinocerebellar ataxia type 10 in Chinese Han. **Neurol Genet**. 2015; 1: e26.

WESSA, P. **Spearman Rank Correlation - Free Statistics and Forecasting Software (Calculators) v.1.2.1**. 2017.

WOODS, B. T.; SCHAUMBURG, H. H. Nigro-spino-dentatal degeneration with nuclear ophthalmoplegia. A unique and partially treatable clinico-pathological entity. **Journal of the neurological sciences** 1972; 17:149–166.

XIA, G. et al. Purkinje cell loss is the major brain pathology of spinocerebellar ataxia type 10. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**. 2013; 84:1409–1411,

ZESIEWICZ, T. A. et al. Comprehensive systematic review summary: Treatment of cerebellar motor dysfunction and ataxia. **Neurology**. 2018; 90:464–471.

## **APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO USADO NO ESTUDO**

O senhor (a) está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “Avaliação Fenotípica e Genotípica dos pacientes com Ataxias Cerebelares Hereditárias”. É através das pesquisas clínicas que ocorrem os avanços importantes em todas as áreas, por isso a sua participação neste estudo é fundamental.

a) O objetivo desta pesquisa é fazer um estudo do seu DNA. O DNA é um composto orgânico cujas moléculas contêm instruções genéticas que coordenam o funcionamento e desenvolvimento de todos os seres vivos. Os segmentos do DNA que contêm informações genéticas são chamados de genes. Dessa forma, com esse estudo buscamos analisar um determinado segmento de DNA e comparar esse resultado com o da população normal, a fim de relacionar os seus sintomas com a mutação encontrada. Ao mesmo tempo pretende organizar uma biblioteca de DNA (banco de DNA), que poderá ser utilizado no futuro, caso não seja encontrada no momento uma alteração no seu exame; isso possibilita novos testes à medida que a ciência for se desenvolvendo. Possivelmente no futuro deverá existir um tratamento para cada tipo de ataxia e é necessário conhecermos exatamente o tipo que você é portador.

b) Caso o senhor (a) participe da pesquisa, será necessário apenas estar no local das atividades, nas dependências do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná, em data e horário pré-determinados. Para que o senhor (a) seja elegível para estudo deverá ser portador de uma ataxia cerebelar progressiva comprovada por história clínica e exame neurológico, ter investigação neurológica e por neuroimagem (tomografia computadorizada ou ressonância magnética) negativa (normal) para outras causas de ataxia, devendo ser excluídas as doenças tóxico-infecciosas que determinem sintomas semelhantes.

c) Para tanto, o senhor (a) deverá estar presente no ambulatório de distúrbios do movimento, no 6º andar do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (Rua General Carneiro, 181, CEP: 80.060-900, Curitiba-PR) para realização das avaliações, durante um dia da semana, sendo a duração dos procedimentos de aproximadamente 60 minutos. Após concordar em participar voluntariamente do estudo e ter assinado este termo de consentimento livre e esclarecido, será submetido

aos seguintes procedimentos:

1. Inicialmente será realizada uma avaliação clínica com exame neurológico por um dos pesquisadores envolvidos, com registro de seus dados.
  2. Investigação laboratorial para afastar outras doenças que podem simular ataxia cerebelar degenerativa, como exames de sangue rotineiros, neuroimagem, líquido cefalorraquidiano ou testes eletrofisiológicos, dependendo dos dados colhidos na avaliação clínica.
  3. Em seguida serão colhidos 20 ml (centímetros cúbicos) de sangue, que será propriamente identificado para controle de laboratório.
  4. Dependendo dos dados colhidos na avaliação clínica, poderá ser realizada biópsia de pele, de aproximadamente 2x2mm.
  5. Esse sangue será enviado ao Laboratório de Biologia Molecular da Neurologia, bem como ao Laboratório Genetika, de onde será extraído o seu DNA.
  6. O DNA será armazenado em freezer com a devida identificação.
  7. O DNA será enviado para Instituições parceiras (Reta Lila Weston Institute of Neurological Studies – UCL Institute of Neurology and Department of Neurology - University of Florida); A biópsia de pele, quando for o caso, será enviada para Department of Neurology - University of Florida.
  8. Serão feitas amplificações e classificação de segmentos do DNA que interessam ao estudo, através de métodos de laboratório específicos para as diversas ataxias cerebelares degenerativas.
  9. O restante do DNA será armazenado para futuras análises e pesquisas, pois eventualmente é possível que nenhuma das ataxias testadas no momento seja positiva e o senhor (a) possua uma forma diferente ainda não descrita. Acompanhando a literatura, conforme forem sendo descritas novas formas de ataxia, será feito o teste em seu material.
- d) RISCOS E DESCONFORTOS: É possível que o senhor (a) experimente algum desconforto da picada da agulha para retirada de sangue, porém, este será realizado com técnicas padrões e com material estéril. Se for necessário realizar a biópsia de pele, de acordo com a avaliação clínica, esta será feita por meio de punch, que

consiste em retirar um pequeno fragmento de pele, de aproximadamente dois mm, com material estéril apropriado; este procedimento poderá gerar um leve desconforto da pressão do material que possui a extremidade cortante.

e) Não existem riscos físicos ou complicações secundárias à retirada de sangue ou biópsia de pele e à participação neste estudo. Se durante as avaliações houver necessidade de algum cuidado específico à sua saúde, relacionado ao estudo ele será encaminhado ao Hospital das Clínicas, no município de Curitiba, onde qualquer problema decorrente deste estudo será tratado e os custos referentes ao tratamento serão de responsabilidade dos pesquisadores envolvidos neste estudo.

f) Os BENEFÍCIOS esperados são: saber com segurança o tipo de ataxia da qual o senhor (a) é portador, conhecer a incidência desta doença na população Brasileira, bem como eventualmente ajudar na elucidação do mecanismo de produção dos sintomas e talvez no desenvolvimento de um tratamento no futuro. Cumpre salientar que nem sempre você será diretamente beneficiado com o resultado deste teste, mesmo que seja encontrada uma alteração, pois essas doenças genéticas ainda não possuem tratamento. Porém, você estará contribuindo para o avanço científico.

g) Você poderá entrar em contato com os pesquisadores envolvidos, Adriana Moro, Hélio Afonso Ghizoni Teive, Walter Oleschko Arruda, Simone Karuta e Mariana Moscovich no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, Rua General Carneiro, 181, CEP: 80060-900, Curitiba, Paraná, ou pelos telefones 3360-1800, Ramal 6261 ou 6154, ou através do celular 9720-9695, no horário das 8:00-12:00h ou 13:00-17:00h. Assim você poderá esclarecer eventuais dúvidas a respeito desta pesquisa.

Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como um paciente de pesquisa, você pode contatar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná, pelo telefone 3360-1896 ou 3360-1865 ou e-mail: [cometica.saude@ufpr.br](mailto:cometica.saude@ufpr.br).

h) Todos os procedimentos de avaliação serão realizados pelos pesquisadores envolvidos na pesquisa, Adriana Moro, Walter Oleschko Arruda, Simone Karuta, Mariana Moscovich e supervisionados pelo pesquisador orientador, Prof. Dr. Hélio Afonso Ghizoni Teive.

i) Estão garantidas todas as informações e esclarecimentos que o senhor (a) queira, sobre a metodologia, antes, durante e depois do estudo.

j) A sua participação neste estudo é voluntária. Contudo, se houver desistência da pesquisa, o senhor (a) poderá solicitar de volta o termo de consentimento livre esclarecido assinado.

k) As informações relacionadas ao estudo poderão ser acessadas pelos pesquisadores e pelas autoridades legais. No entanto, será garantida a confidencialidade dos sujeitos frente às autoridades. A inspeção pelas autoridades legais ocorrerá apenas nos dados já codificados (não aparecerá o nome do participante, e sim um código), para que os participantes da pesquisa não sejam identificados e não haja alguma forma de constrangimento. Ainda, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada (não aparecerá o nome do participante, e sim um código), para que a confidencialidade e o sigilo sejam mantidos.

l) O senhor (a) está livre para cancelar a sua participação na pesquisa a qualquer momento, sem aviso prévio.

m) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não são da sua responsabilidade.

n) Pela sua participação no estudo você não receberá qualquer valor em dinheiro. O senhor (a) terá a garantia de que qualquer problema decorrente do estudo será tratado no Hospital das Clínicas, no município de Curitiba, e os custos referentes ao tratamento serão de responsabilidade do pesquisador orientador, Prof. Dr. Hélio Afonso Ghizoni Teive e pesquisadores envolvidos.

o) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá o seu nome, e sim um código.

Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual participarei. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper a minha participação a qualquer momento sem justificar esta decisão e sem que a mesma me afete de qualquer maneira. Eu entendi o que não se pode fazer durante o estudo e sei que qualquer problema relacionado a este estudo será tratado

sem custos para mim.

Eu, \_\_\_\_\_ fui informado sobre todos os procedimentos que serão realizados e concordo voluntariamente em participar deste estudo.

---

(Assinatura do sujeito de pesquisa)

Curitiba, \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

---

Pesquisador

## APÊNDICE 2- PROTOCOLO DE ATENDIMENTO ÀS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES

Nome Registro-

Data Data de Nascimento Sexo Raça

Profissão Endereço

Telefone

Idade Idade de início dos sintomas

### HISTÓRIA FAMILIAR

Pais consanguíneos: - sim - não

Etnia: avós maternos \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ avós paternos  
\_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Antecedentes familiares:

Sim ( ) Não ( ) não sabe ( )

Heredograma

HERANÇA: ( ) autossômica dominante ( ) autossômica recessiva ( )  
outra \_\_\_\_\_

Comorbidades

\_\_\_\_\_  
Uso de medicamentos?

### EXAMES COMPLEMENTARES

Tomografia de Crânio: realizada em

\_\_\_\_\_  
( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

\_\_\_\_\_  
Ressonância Nuclear Magnética Encefálica: realizada em

\_\_\_\_\_

(     ) normal     (     ) não realizada     (     ) alterada

---

Eletromiografia/ECN: realizada em

---

(     ) normal     (     ) não realizada     (     ) alterada

---

ECG: realizada em

---

(     ) normal     (     ) não realizada     (     ) alterada

---

Ecocardiograma: realizada em \_\_\_\_\_

(     ) normal     (     ) não realizada     (     ) alterada

---

Estudo Urodinâmico: realizada em \_\_\_\_\_

(     ) normal     (     ) não realizada     (     ) alterada

---

#### MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS DATA

Ataxia

de marcha

Axial

Apendicular

Tremor cerebelar

Disartria

Disfunção cognitiva

Distúrbios da motricidade ocular

Oftalmoparesia/plegia horizontal

Oftalmoparesia/plegia vertical

Movimentos sacádicos lentos

Nistagmo

Horizontal

Vertical

Outro

Outros distúrbios da motricidade ocular

Comprometimento de pares cranianos

“Bulging eyes”

Sinais piramidais MMSS MMII

Hiperreflexia

Espasticidade

Sinal de Babinski

Sinal de Hoffmann

Distúrbios do movimento

Movimentos coreicos

Distonia [Tipo: \_\_\_\_\_]

Mioclonia

Tremor [Tipo: \_\_\_\_\_]

Balismo

Atetose

Estereotipia

Acatisia

Parkinsonismo

Tremor de repouso

Rigidez

Bradicinesia

Instabilidade postural

Outro distúrbio do movimento

Comprometimento da sensibilidade

Superficial tipo neuropático

Profunda- Ataxia sensitiva

Hipopalestesia/Apalestesia

Sinais de NMI

Amiotrofia periférica

Arreflexia profunda

Fasciculações

Face

Tronco

MMSS/MMII

Perda da acuidade visual

Fundoscopia alterada

Perda da acuidade auditiva

Pés cavus

Escoliose

Epilepsia

Ceruloplasma Sérica:  realizada  em

normal  não realizada  alterada

VDRL:  realizada  em

normal  não realizada  alterada

Vitamina B12:  realizada  em

normal  não realizada  alterada

Vitamina E:  realizada  em

normal  não realizada  alterada

CPK:  realizada  em

normal  não realizada  alterada

Proteína total e frações: realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

Alfa-feto-proteína: realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

IgA: realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

Lipidograma: realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

Anticorpos antigliadina (IgG, IgA): realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

Anticorpo anti-GAD: realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

---

Anticorpos anti-Hu (ANNA-1): realizada em

---

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

\_\_\_\_\_  
Líquor: realizada em

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

\_\_\_\_\_  
HTLV: ( ) LCR ( ) Soro realizada em

( ) normal ( ) não realizada ( ) alterada

#### DIAGNÓSTICO CLÍNICO

AEC tipo \_\_\_\_\_

ADPRL

ILOCA

FA

outras \_\_\_\_\_

ESTUDO

GENÉTICO:

\_\_\_\_\_  
COLETADO SANGUE EM :

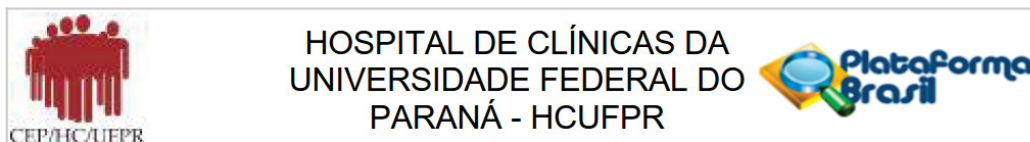
\_\_\_\_\_  
RESULTADO:

\_\_\_\_\_  
TRATAMENTO

INSTITUÍDO:

## ANEXOS

### ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ENSINO E PESQUISA



Continuação do Parecer: 1.207.065

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica. Após, xerocar este TCLE em duas vias, uma ficará com o pesquisador e uma para o participante da pesquisa.

#### Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Proponho a aprovação.

#### Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto conforme proposto para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Manter os documentos da pesquisa arquivado.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos, por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Declaração do Orientador.pdf	15/07/2015 11:24:17		Aceite
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO PILOTO DETALHADO.docx	15/07/2015 11:26:02		Aceite
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO DE CONSENTIMENTO INFORMADO LIVRE E ESCLARECIDO.docx	15/07/2015 11:26:30		Aceite
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Condordancia do DAPI com a CEP.pdf	19/07/2015 19:36:52		Aceite
Declaração de Instituição e	Concordancia da GENETIKA.pdf	19/07/2015 19:38:01		Aceite

**Endereço:** Rua Gal. Carneiro, 181

**Bairro:** Alto da Glória

**CEP:** 80.060-900

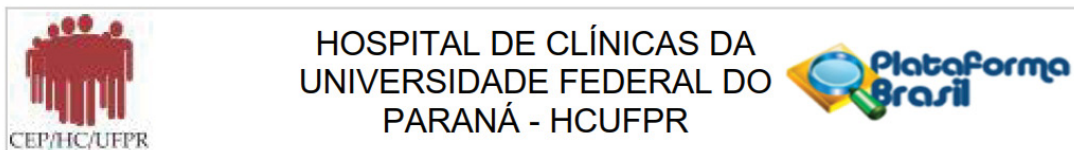
**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-1041

**Fax:** (41)3360-1041

**E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.207.065

Infraestrutura	Concordancia da GENETIKA.pdf	19/07/2015 19:38:01		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Condordancia do DAPI.pdf	19/07/2015 19:38:28		Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Concordancia Insituição HC.pdf	19/07/2015 19:38:46		Aceito
Outros	Declaração do orientador e co-orientadores.pdf	19/07/2015 19:40:45		Aceito
Outros	Declaração dos orientadores SIGILO DOS PRONTUARIOS.pdf	19/07/2015 19:41:00		Aceito
Outros	Declaração dos pesquisadores - amostras biologicas descartadas.pdf	19/07/2015 19:41:30		Aceito
Outros	Declaração dos pesquisadores sigilo de propriedades intelectuais.pdf	19/07/2015 19:41:51		Aceito
Outros	Termo de guarda de material biológico.pdf	19/07/2015 19:42:55		Aceito
Outros	Declaração do pesquisador - publicação dos dados.pdf	19/07/2015 19:43:17		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Qualificação do pesquisadores - Lattes.pdf	19/07/2015 19:45:05		Aceito
Declaração de Pesquisadores	Orcamento do Projeto.pdf	19/07/2015 19:47:44		Aceito
Outros	Termo de consentimento p1.pdf	19/07/2015 19:49:54		Aceito
Outros	Temp de consentimento p2.pdf	19/07/2015 19:50:27		Aceito
Outros	Termo de consentimento p3.pdf	19/07/2015 19:50:57		Aceito
Outros	Termo de consentimento p4.pdf	19/07/2015 19:51:14		Aceito
Folha de Rosto	Folho de Rosto PLATAFORMA.pdf	19/07/2015 19:33:59		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_83980.pdf	21/07/2015 10:40:56		Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	PB_XML_INTERFACE_REBEC.xml	21/07/2015 10:40:58	WALTER OLESCHKO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO PILOTO DETALHADO CORRIGIDO 13.08.2015.docx	13/08/2015 10:42:03		Aceito
Orçamento	Orçamento Programado Detalhado 2015 REVISADO 13.08.2015.pdf	13/08/2015 10:43:24		Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	CARTA_RESPOSTA_AO_CEP_18082015.pdf	19/08/2015 11:03:28	WALTER OLESCHKO	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_83980.pdf	19/08/2015 11:37:02		Aceito

**Endereço:** Rua Gal. Carneiro, 181

**Bairro:** Alto da Glória

**CEP:** 80.060-900

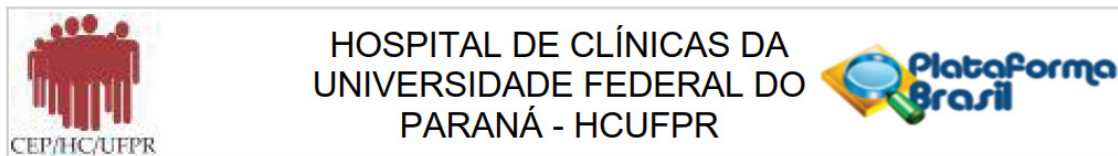
**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-1041

**Fax:** (41)3360-1041

**E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 1.207.065

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CURITIBA, 31 de Agosto de 2015

---

**Assinado por:**  
**Renato Tambara Filho**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** Rua Gal. Carneiro, 181

**Bairro:** Alto da Glória

**CEP:** 80.060-900

**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-1041

**Fax:** (41)3360-1041

**E-mail:** cep@hc.ufpr.br

## **ANEXO 2 – ESCALA PARA AVALIAÇÃO E GRADUAÇÃO DE ATAXIA (SARA)**

### **1) MARCHA**

O paciente é solicitado (1) a andar em uma distância segura paralela a uma parede e dar uma meia-volta (meia-volta para a direção oposta da marcha) e (2) andar pé-ante-pé sem apoio.

0 normal, sem dificuldades para andar, virar-se ou andar na posição pé-ante-pé (até um erro aceito).

1 Discretas dificuldades, somente visíveis quando anda 10 passos consecutivos na posição pé-ante-pé.

2 Claramente anormal. Marcha na posição pé-ante-pé impossível com 10 ou mais passos.

3 Consideravelmente cambaleante, dificuldades na meia-volta, mas ainda sem apoio.

4 Marcadamente cambaleante, necessitando de apoio intermitente da parede.

5. Gravemente cambaleante, apoio permanente de uma bengala ou apoio leve de um braço.

6 Marcha < 10m somente possível com apoio (2 bengalas especiais ou andador ou um acompanhante).

7 Marcha < 10m somente possível com apoio forte (2 bengalas especiais ou um andador ou um acompanhante).

8 Incapaz de andar mesmo com apoio.

### **2) POSTURA**

O paciente é solicitado a permanecer (1) na posição natural (2) com os pés juntos e em paralelo (dedões juntos) e (3) em pé-ante-pé (ambos os pés em uma linha, sem espaço entre os tornozelos e os dedos). Deve-se retirar os sapatos e os olhos permanecem abertos. Para cada condição três tentativas são permitidas. A melhor resposta é considerada.

0 Normal, consegue permanecer em pé na posição pé-ante-pé por > 10 segundos.

1 Capaz de permanecer em pé com os pés juntos sem desvio, mas não na posição de pé-ante-pé por > 10 segundos.

2 Capaz de permanecer em pé por > 10 segundos, mas somente com desvios.

3 Capaz de permanecer em pé por > 10 segundos sem apoio na posição natural, mas não com os pés juntos.

4 Capaz de permanecer em pé por > 10 segundos na posição natural com apoio intermitente.

5 Capaz de permanecer em pé por > 10 segundos na posição natural com apoio constante de um braço.

6 Incapaz de permanecer em pé por > 10 segundos mesmo com apoio constante de um braço.

### **3) SENTAR**

O paciente é solicitado a sentar na cama de exame sem apoio dos pés, olhos abertos e braços esticados na frente.

0 Normal, sem dificuldades de sentar > 10 segundos.

1 Discretas dificuldades, desvios leves.

2 Desvios constantes, mas capaz de sentar > 10 segundos sem apoio.

3 Capaz de sentar > 10 segundos somente com apoio intermitente.

4 Incapaz de sentar > 10 segundos sem apoio constante.

### **4) DISTÚRBO DA FALA**

A fala é avaliada durante uma conversa normal.

0 Normal.

1 Sugestivo de alteração na fala.

2 Alteração na fala, mas fácil de entender.

3 Ocasionalmente palavras difíceis de entender.

4 Muitas palavras difíceis de entender.

5 Somente palavras isoladas compreensíveis.

6 Fala ininteligível / anartria.

### **5) TESTE DE PERSEGUIÇÃO DO DEDO**

Cada lado é avaliado isoladamente. O paciente deve permanecer confortavelmente sentado. Se necessário, é permitido o apoio dos pés e do tronco. O examinador senta em frente ao paciente e realiza 5 movimentos consecutivos inesperados e rápidos de apontar em um plano frontal, a mais ou menos 50% do alcance do paciente. Os movimentos deverão ter uma amplitude de 30 cm e uma frequência de 1 movimento a cada 2 segundos. O paciente é solicitado a seguir os movimentos com o índice, o mais preciso e rápido possível. É considerada a execução dos 3 últimos movimentos.

0 Ausência de dismetria.

1 Dismetria, não atingir ou ultrapassar o alvo < 5cm.

2 Dismetria, não atingir ou ultrapassar o alvo < 15cm.

3 Dismetria, não atingir ou ultrapassar o alvo > 15cm.

4 Incapaz de realizar os 5 movimentos.

### **6) TESTE ÍNDEX-NARIZ**

Cada lado é avaliado isoladamente. O paciente permanece confortavelmente sentado. Se necessário, é permitido o apoio dos pés e do tronco. É solicitado que o paciente aponte repetidamente seu índice em seu nariz para o dedo do examinador, que está a cerca de 90% do alcance do paciente. Os movimentos são realizados a uma velocidade moderada. A execução do movimento é graduada de acordo com a amplitude do tremor de ação.

0 Ausência de tremor.

1 Tremor com uma amplitude de < 2cm.

2 Tremor com uma amplitude de < 5cm.

3 Tremor com uma amplitude > 5cm.

4 Incapaz de realizar os 5 movimentos.

### **7) MOVIMENTOS ALTERNADOS E RÁPIDOS DAS MÃOS**

Cada paciente deve permanecer confortavelmente sentado. Se necessário, é permitido o apoio dos pés e do tronco. É solicitado que o paciente realize 10 ciclos com alteração pronação e supinação em suas coxas o mais rápido e preciso possível.

O movimento é demonstrado ao paciente a aproximadamente 10 ciclos em 7 segundos. O tempo exato para execução do movimento deverá ser obtido.

0 Normal, sem irregularidades (realiza < 10 segundos).

1 Discretamente irregular (realiza < 10 segundos).

2 Claramente irregular, difícil de distinguir movimentos individuais ou interrupções relevantes, mas realiza < 10 segundos.

3 Muito irregular, difícil de distribuir movimentos individuais ou interrupções relevantes, realiza > 10 segundos.

4 Incapaz de completar 10 ciclos.

### **8) MANOBRA CALCANHAR-JOELHO**

Cada lado é avaliado isoladamente. O paciente deita na cama de exame, sem conseguir visualizar suas pernas. É solicitado que levante uma perna, aponte com o calcanhar no outro joelho, deslize pela tíbia até o tornozelo e retorne a perna em repouso na cama. A tarefa é realizada 3 vezes. O movimento de deslizamento deverá ser feito em 1 segundo. Se o paciente deslizar sem o contato com a tíbia em todas as três tentativas, gradue como 4.

0 Normal

1 Discretamente anormal, contato com a tíbia mantido.

2. Claramente anormal, saída da tíbia mais do que 3 vezes durante 3 ciclos.

3 Gravemente anormal, saída da tíbia 4 ou mais vezes durante 3 ciclos.

4 Incapaz de realizar a tarefa.

## ANEXO 3 – DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA DAPI



### DECLARAÇÃO DE CONCORDÂNCIA DO DAPI SERVIÇO DE IMAGEM

Curitiba, 08 de junho de 2015.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFPR

Prezado Coordenador:

Declaramos que o DAPI, Diagnóstico Avançado por Imagem, está de acordo com a participação no projeto de pesquisa intitulado **“ANÁLISE ESTATÍSTICA DE IMAGENS DE TENSOR DE DIFUSÃO (DTI) E ESTATÍSTICA ESPACIAL BASEADA EM TRATOGRAFIA (TBSS) DAS ATAXIAS ESPINOCEREBELARES SCA 3 E SCA 10: ESTUDO COMPARATIVO COM GRUPO CONTROLE”** sob a responsabilidade do Prof. WALTER OLESCHKO ARRUDA nas nossas dependências, tão logo o projeto seja aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas / UFPR, até o seu final em 2017.

Estamos cientes que os sujeitos de pesquisa serão pacientes do ambulatório do HC-UFPR, portadores de ataxias espinocerebelares (SCA) e que o presente trabalho deve seguir a resolução 196/96 do CNS e complementares. Também ressaltamos que não haverá custos destes exames para os pacientes ou para o Hospital de Clínicas.

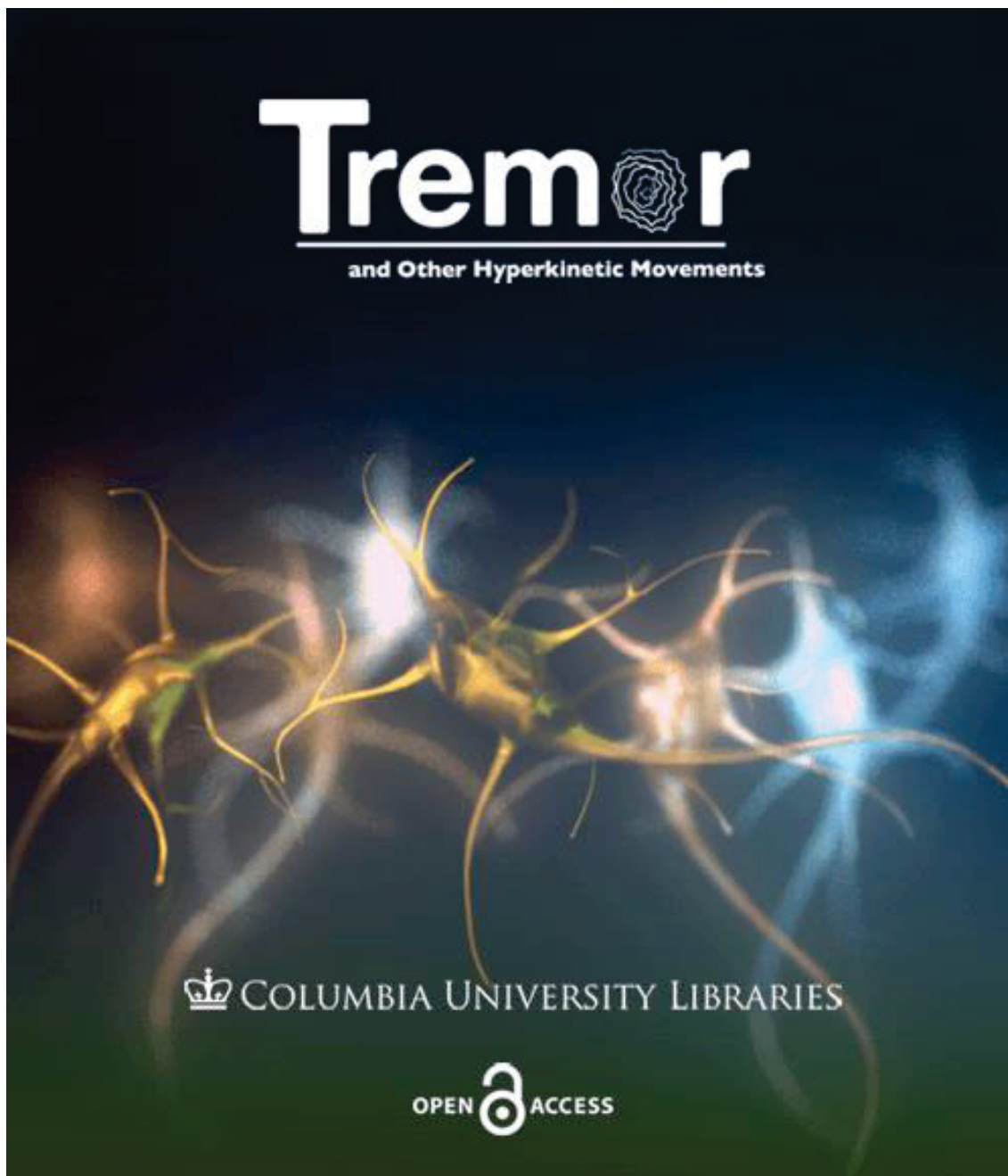
Sendo o que se apresenta aproveitamos para enviar nossas cordiais saudações.

Atenciosamente,

  
Responsável Técnico - DAPI

Dr. ARNOLFO CARVALHO NETO  
Médico  
CRM - PR 7830

ANEXO 4 – ARTIGO PUBLICADO NA REVISTA TREMOR AND OTHER  
HYPERKINETIC MOVEMENTS



## Review article

## Neuroradiological Findings in the Spinocerebellar Ataxias

Alex Tiburtino Meira<sup>1</sup>, Walter Oleschko Arruda<sup>1</sup>, Sergio Eiji Ono<sup>2</sup>, Arnolfo de Carvalho Neto<sup>2,3</sup>, Salmo Raskin<sup>4</sup>, Carlos Henrique F. Camargo<sup>3</sup> & Hélio Afonso G. Teive<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Movement Disorders Unit, Neurology Service, Internal Medicine Department, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, BR, <sup>2</sup>DAPI, Diagnóstico Avançado por Imagem, Curitiba, BR, <sup>3</sup>Neurological Diseases Group, Graduate Program of Internal Medicine, Hospital de Clínicas, Federal University of Paraná, Curitiba, BR, <sup>4</sup>Genetika – Centro de aconselhamento e laboratório de genética, Curitiba, BR

### Abstract

**Background:** The spinocerebellar ataxias (SCAs) are a group of autosomal dominant degenerative diseases characterized by cerebellar ataxia. Classified according to gene discovery, specific features of the SCAs – clinical, laboratorial, and neuroradiological (NR) – can facilitate establishing the diagnosis. The purpose of this study was to review the particular NR abnormalities in the main SCAs.

**Methods:** We conducted a literature search on this topic.

**Results:** The main NR characteristics of brain imaging (magnetic resonance imaging or computerized tomography) in SCAs were: (1) pure cerebellar atrophy; (2) cerebellar atrophy with other findings (e.g., pontine, olivopontocerebellar, spinal, cortical, or subcortical atrophy; “hot cross bun sign”, and demyelinating lesions); (3) selective cerebellar atrophy; (4) no cerebellar atrophy.

**Discussion:** The main NR abnormalities in the commonest SCAs, are not pathognomonic of any specific genotype, but can be helpful in limiting the diagnostic options. We are progressing to a better understanding of the SCAs, not only genetically, but also pathologically; NR is helpful in the challenge of diagnosing the specific genotype of SCA.

**Keywords:** Spinocerebellar ataxia, brain imaging, magnetic resonance imaging, ataxia, gait ataxia, cerebellar diseases

**Citation:** Meira AT, Arruda WO, Ono SE, de Carvalho Neto A, Raskin S, Camargo CHF, et al. Neuroradiological Findings in the Spinocerebellar Ataxias. Tremor Other Hyperkinet Mov. 2019; 9. doi: 10.7916/tohm.v0.682

\*To whom correspondence should be addressed. E-mail: hageive@mps.com.br

**Editor:** Ruth H. Walker, Mount Sinai School of Medicine, USA

**Received:** May 16, 2019; **Accepted:** September 2, 2019; **Published:** September 26, 2019

**Copyright:** © 2019 Meira et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial-No Derivatives License, which permits the user to copy, distribute, and transmit the work provided that the original authors and source are credited; that no commercial use is made of the work; and that the work is not altered or transformed.

**Funding:** None.

**Financial Disclosures:** None.

**Conflicts of Interest:** The authors report no conflicts of interest.

**Ethics Statement:** Not applicable for this category of article.

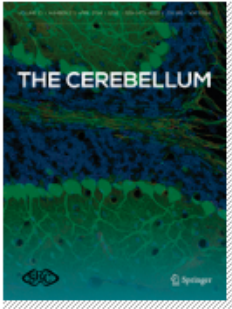
### Introduction

The spinocerebellar ataxias (SCA) are a group of autosomal dominant degenerative diseases characterized by cerebellar ataxia. The most accepted classification of the SCAs is to name them according to the order of gene discovery, SCA 1–SCA 48. Although genetic testing is increasingly available, it is essential to know the specific features of the SCAs – clinical, laboratorial, and neuroradiological (NR) – to improve diagnostic accuracy, especially when genetic testing is not available. Neuroimaging cannot predict the genotype of any specific person with an SCA due to the overlap between symptomatology and macroscopic pathology; however, it is possible to cluster subgroups of SCAs, thereby limiting the diagnostic possibilities. Magnetic resonance imaging (MRI)

and computed tomography (CT) are widely available, and can facilitate investigation of symptomatic cases. In the presymptomatic scenario, the relevance of neuroimaging is not yet widely accepted, although quantitative and functional imaging is becoming more and more useful in understanding the disease progression and its preclinical stage.<sup>1,2</sup>

The main findings in NR examinations are cortical cerebellar atrophy (known as “pure” cerebellar degeneration), spinal atrophy, or olivopontocerebellar atrophy. These are not characteristic of any subtype of SCA, but together with other information (specifically ethnicity, and extracerebellar motor and nonmotor symptoms and signs, including systemic findings), these studies can guide the genetic diagnosis. It is also of note that, within the same genotype, there may be some individuals showing atrophy

## ANEXO 5 – ARTIGO SUBMETIDO A REVISTA THE CEREBELLUM

<p>SUBDISCIPLINES   JOURNALS   BOOKS   SERIES   TEXTBOOKS   REFERENCE WORKS</p>	
	<h2>The Cerebellum</h2> <p>Editor-in-Chief: <b>Mario Manto</b></p> <p>ISSN: 1473-4222 (print version) ISSN: 1473-4230 (electronic version)</p> <p>Journal no. 12311</p> <p><b>80,33 €</b> <small>Personal Rate e-only</small></p> <p><a href="#">Get Subscription</a></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Online subscription, valid from January through December of current calendar year</li> <li>Immediate access to this year's issues via SpringerLink</li> <li>1 Volume(-s) with 6 issue(-s) per annual subscription</li> <li>Automatic annual renewal</li> <li>More information: <a href="#">&gt;&gt; FAQs</a> // <a href="#">&gt;&gt; Policy</a></li> </ul> <p><a href="#">Like 17</a> <a href="#">Tweet</a></p>
<p>TASKFORCES   ABOUT THIS JOURNAL   EDITORIAL BOARD   CONSENSUS PAPERS   ETHICS &amp; DISCLOSURES</p>	
<p>FOR AUTHORS AND EDITORS</p>	
<p><a href="#">i</a> 2018 Impact Factor <b>3.413</b></p>	
<p> </p>	
<p> </p>	
<p> </p>	

**The Cerebellum**  
**Volumetric MRI changes in spinocerebellar ataxias (SCA3 and SCA10) patients**  
 --Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	
<b>Full Title:</b>	Volumetric MRI changes in spinocerebellar ataxias (SCA3 and SCA10) patients
<b>Article Type:</b>	Original Article
<b>Corresponding Author:</b>	Carlos Henrique F Camargo, MD, MSc, PhD Universidade Federal do Parana Hospital de Clinicas Ponta Grossa, PR BRAZIL
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidade Federal do Parana Hospital de Clinicas
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Walter Oleschko Arruda, MD, MSc
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Walter Oleschko Arruda, MD, MSc Alex Tiburtino Meira, MD, MSc Sergio Eiji Ono, MD, MSc Arnolfo de Carvalho Neto, MD, PhD Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting, MD, PhD Salmo Raskin, MD, PhD Carlos Henrique F Camargo, MD, MSc, PhD Hélio Afonso Ghizoni Teive, MD, PhD
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p><b>Background</b> - The spinocerebellar ataxias type 3 (SCA3) and type 10 (SCA10) are two more prevalent in southern Brazil. <b>Objective</b> - This study aimed to analyze the relationship between volumetric MRI changes and clinical and genetic findings of SCA3 and SCA10 patients. <b>Methods</b> - All patients in the study had a confirmatory genetic diagnosis. Demographic data, ataxia severity scale (SARA) and expansions of the affected genes were evaluated. Nineteen patients with SCA 3 and 18 patients with SCA10 were selected and compared to the same number of healthy controls. The patients and the control group were submitted to the same neuroimaging protocol on a 3T MRI Siemens MAGNETOM Skyra scanner. Morphometric data (cortical thickness and subcortical volumes) were extracted from the standard FreeSurfer pipeline.</p> <p><b>Results</b> - The results herein demonstrated that SCA3 is a disease which impairs more often brain structures (15 vs. 5 structures with volume reduction) than those of SCA10, as well as that the reduction of encephalic structures volume is also higher in SCA3 patients. For SCA3, the main areas with significant volumetric reduction were cerebellum, basal ganglia, brain stem, and diencephalon. For SCA10, cerebellum and pallidum showed significant volume reduction. SARA and disease duration correlated more with volume reduction for SCA10, while, for SCA3, CAGn presented positive correlations with cerebellar WM, thalamus, brain stem, and total GM volumes.</p> <p><b>Conclusion</b> - There were significant differences between SCA3 and SCA10 patients regarding neuroimaging, and it was compatible with the clinical presentation in each case.</p>
<b>Suggested Reviewers:</b>	Orlando Barsottini, MD, PhD Universidade Federal de Sao Paulo

	orlandobarsottini@gmail.com
	Fabrcio Stewan Feltrin, MD, PhD Universidade Estadual de Ponta Grossa fabrcio.feltrin@gmail.com
	José Luiz Pedroso, MD, PhD Universidade Federal de Sao Paulo zeliuzpedroso@icloud.com
	Renato Puppi Munhoz, MD, PhD University of Toronto renatopuppi@gmail.com

★ CERE-D-19-00171 : Submission Confirmation for Volumetric MRI changes in spinocerebellar ataxias (SCA3 and SCA10) patients

Enviado em: 24/09/2019 | 10:00

De: "Editorial Office CERE" <em@editorialmanager.com>

Para: chcamargo@uol.com.br

Dear Dr. Camargo,

Your submission entitled "Volumetric MRI changes in spinocerebellar ataxias (SCA3 and SCA10) patients" has been received by journal The Cerebellum

The submission id is: CERE-D-19-00171

Please refer to this number in any future correspondence.

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author. The URL is <https://www.editorialmanager.com/cere/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Office  
The Cerebellum

Now that your article will undergo the editorial and peer review process, it is the right time to think about publishing your article as open access. With open access your article will become freely available to anyone worldwide and you will easily comply with open access mandates. Springer's open access offering for this journal is called Open Choice (find more information on [www.springer.com/openchoice](http://www.springer.com/openchoice)). Once your article is accepted, you will be offered the option to publish through open access. So you might want to talk to your institution and funder now to see how payment could be organized; for an overview of available open access funding please go to [www.springer.com/oafunding](http://www.springer.com/oafunding).

Although for now you don't have to do anything, we would like to let you know about your upcoming options.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our privacy policy at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.