



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

CARLOS ROBERTO MARTINS JUNIOR

DANO ESTRUTURAL NA MEDULA ESPINHAL E NO ENCÉFALO NA ATAXIA
ESPINOCEREBELAR DO TIPO 1: CARACTERIZAÇÃO E CORRELATOS
CLÍNICOS

*SPINAL AND ENCEPHALIC STRUCTURAL DAMAGE IN SPINOCEREBELLAR
ATAXIA TYPE 1: CHARACTERIZATION AND CLINICAL CORRELATES*

CAMPINAS

2018

CARLOS ROBERTO MARTINS JUNIOR

DANO ESTRUTURAL NA MEDULA ESPINHAL E NO ENCÉFALO NA ATAXIA
ESPINOCEREBELAR DO TIPO 1: CARACTERIZAÇÃO E CORRELATOS
CLÍNICOS

*SPINAL AND ENCEPHALIC STRUCTURAL DAMAGE IN SPINOCEREBELLAR
ATAXIA TYPE 1: CHARACTERIZATION AND CLINICAL CORRELATES*

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Thesis presented to the School of Medical Sciences of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science.

ORIENTADOR: MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ALUNO
CARLOS ROBERTO MARTINS JUNIOR, E
ORIENTADO PELO PROF. DR. MARCONDES
CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR.

CAMPINAS
2018

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

M366d Martins Junior, Carlos Roberto, 1986-
Dano estrutural na medula espinhal e no encéfalo na ataxia
espinocerebelar do tipo 1 : caracterização e correlatos clínicos / Carlos Roberto
Martins Junior. – Campinas, SP : [s.n.], 2018.

Orientador: Marcondes Cavalcante França Junior.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Ciências Médicas.

1. Imagem por ressonância magnética. 2. Ataxia. 3. Mapeamento cerebral.
I. França Junior, Marcondes Cavalcante, 1976-. II. Universidade Estadual de
Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Spinal and encephalic structural damage in spinocerebellar ataxia
type 1 : characterization and clinical correlates

Palavras-chave em inglês:

Magnetic resonance imaging

Ataxia

Brain mapping

Área de concentração: Fisiopatologia Médica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Marcondes Cavalcante França Junior [Orientador]

Marcio Luiz Figueredo Balthazar

Ana Carolina Coan

Pedro Braga Neto

Laura Bannach Jardim

Data de defesa: 15-06-2018

Programa de Pós-Graduação: Fisiopatologia Médica

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

CARLOS ROBERTO MARTINS JUNIOR

ORIENTADOR: PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

MEMBROS:

1. PROF. DR. MARCONDES CAVALCANTE FRANÇA JUNIOR

2. PROF. DR. MARCIO LUIZ FIGUEREDO BALTHAZAR

3. PROF. DRA. ANA CAROLINA COAN

4. PROF. DR. PEDRO BRAGA NETO

5. PROF. DRA. LAURA BANNACH JARDIM

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 15/06/2018

DEDICATÓRIA

*Aos melhores pais e irmã que alguém
poderia ter. Carlos, Dalva e Camila.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, que me mantêm forte e confiante para seguir;

A meus pais Carlos Roberto Martins Obregon e Dalva Maria Silva Martins pelo incentivo incansável, luta diária e amor incondicional, sem medir esforços para o sucesso de nossa família. Meus melhores amigos e mentores, que me fazem sempre querer crescer e melhorar cada vez mais para, no mínimo, chegar perto dos extraordinários seres que são;

À minha irmã Camila Roberta Silva Martins. Amiga e médica primorosa. Exemplo e objeto constante de inspiração em minha jornada;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcondes Cavalcante França Júnior, neurologista memorável, cientista valioso e professor excepcional. Fonte de conhecimento inesgotável, que passou a inspirar-me desde os primeiros plantões no pronto-socorro e visitas na enfermaria, em meados de 2013. Tornou-se mais que um professor, um amigo.

Ao meu amigo e parceiro de todas as horas, Alberto Martinez, pela torcida sincera e sem vaidades. Pessoa iluminada e conselheira, que se tornou um irmão em Campinas. Parceiro fiel para os jogos da Ponte, mesmo quando há inesperadamente gás de pimenta;

Aos pacientes e ao grupo controle. Agradeço a oportunidade de poder estudar e a paciência de todos para realizar os testes e exames necessários;

Ao Prof. Dr. José Luiz Pedroso, professor de neurologia da Escola Paulista de Medicina – UNIFESP. Indivíduo sensacional, que foi essencial para a conclusão deste projeto, cedendo pacientes e consolidando uma parceria entre as duas escolas médicas que rendeu e, com certeza, renderá muitos frutos à ciência e aos doentes;

Aos funcionários e residentes do ambulatório de Neurologia pela gentileza e colaboração durante a coleta de dados, em especial à Marcia e à Gisele,

enfermeiras e pessoas fantásticas, sempre prestativas, com bom trato ao doente e sorriso no rosto;

Aos colegas dos laboratórios de física médica e de neuroimagem pelas conversas e ensinamentos. Ressalta-se aqui agradecimento especial ao físico Thiago Junqueira pela importantíssima ajuda com a análise das imagens e ao físico Rafael Casseb pelas dicas e ensinamentos estatísticos valiosos;

Estamos vivendo um momento no Brasil no qual a educação representa a mais genuína ameaça aos poderes e aos privilégios daqueles que se instalaram no poder. Quanto menos acessível for o ensino superior, quanto menos viável for a vida acadêmica, mais ignorante o país permanece; e é exatamente isso que eles querem. Sou um homem com muitas dúvidas e poucas certezas na vida, mas espero um dia, tornar-me professor, a fim de transformar aquilo que é difícil e árduo na ótica dos iniciantes, em belo e empolgante à luz dos ensinamentos. Enfim, a todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para o êxito deste projeto, o meu humilde obrigado.

RESUMO

A ataxia espinocerebelar do tipo 1 (SCA1) é uma doença neurodegenerativa cuja expressão clínica predominante é a ataxia cerebelar progressiva associada à hiperreflexia profunda e às alterações sacádicas. Causada por expansão instável de uma sequência CAG no gene *ATXN1* no cromossomo 6, foi a primeira ataxia espinocerebelar que teve seu substrato genético elucidado. Apesar disso, existem poucos estudos acerca de seus aspectos clínicos e morfológicos, principalmente no que diz respeito às manifestações não motoras e suas correlações estruturais. Desta forma, o objetivo deste trabalho é caracterizar, clínica e morfológicamente, os pacientes com SCA1, utilizando escalas clínicas bem estabelecidas e técnicas multimodais de ressonância magnética. Para tanto, foram recrutados 33 pacientes adultos com teste molecular positivo para SCA1 acompanhados nos serviços de neurologia da UNICAMP e UNIFESP. Os pacientes foram submetidos a exame neurológico pormenorizado, enfatizando aspectos motores e não-motores. Para a graduação da ataxia utilizou-se a *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA). Para avaliação de sintomas não-motores utilizou-se a *Modified Fatigue Impact Scale* (MFIS) para fadiga, *Epworth Sleepiness Scale* (ESS) para sonolência excessiva diurna, *Beck Depression Inventory* (BDI) para depressão e *Addenbrooke's Cognitive Examination – Revised* (ACE-R) para cognição. O dano estrutural encefálico e medular foi avaliado por imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 e DTI. Para análise, foram utilizadas as ferramentas FreeSurfer, T1 MultiAtlas, DTI MultiAtlas, CERES e SpineSeg. Com o objetivo de avaliar evolutivamente a SCA1, os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com o tempo de doença. Variáveis clínicas e imaginológicas foram comparadas nesses grupos a fim de determinar, temporalmente, o padrão evolutivo das alterações no SNC. Os sintomas motores correlacionaram-se diretamente com o dano dos núcleos rubros, medular e cerebelar. Os níveis de fadiga foram significativamente maiores nos pacientes comparado aos controles e apresentaram relação direta com depressão e duração da doença. A depressão foi mais frequente nos pacientes e correlacionou-se com aspectos motores, entretanto, não houve correlação com áreas encefálicas. As alterações cognitivas foram importantes, principalmente nos domínios de memória e fluência, os quais correlacionaram-se

diretamente com atrofia na amígdala e lóbulo VIII cerebelar, respectivamente. Evidenciou-se redução da área e aumento da excentricidade significativos na medula cervical dos pacientes quando comparados aos controles. A redução da área medular correlacionou-se diretamente com aspectos motores, apresentando duração e CAGn como possíveis determinantes. Avaliações transversais do encéfalo revelaram danos significativos em áreas primárias e associativas em córtex cerebral, substância cinzenta profunda, córtex cerebelar e substância branca encefálica, principalmente em regiões infratentoriais. Do ponto de vista evolutivo, verificou-se padrão lesional em sentido caudo-cranial. Por fim, fomos capazes de caracterizar fenoticamente a SCA1 e correlacionar seus aspectos clínicos e estruturais.

Palavras-chave: Ataxia Espinocerebelar do tipo 1. Ressonância Magnética. MultiAtlas. FreeSurfer. Spineseg. CERES.

ABSTRACT

Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is a neurodegenerative disease expressed clinically by progressive cerebellar ataxia associated with deep hyperreflexia and saccadic alterations. Caused by unstable expansions of a CAG sequence in the *ATXN1* gene on chromosome 6, it was the first spinocerebellar ataxia that had its genetic substrate elucidated. Despite this, there are few studies about its clinical and morphological aspects, mainly regarding non-motor manifestations and their structural correlations. In this way, the objective of this study is to characterize, clinically and morphologically, patients with SCA1, using well-established clinical scales and multimodal magnetic resonance techniques. We have thus evaluated 33 consecutive adult patients regularly followed at UNICAMP and UNIFESP and 33 healthy age-and-sex matched controls. All patients had molecular confirmation of SCA1. The patients underwent detailed neurological examination, emphasizing motor and non-motor aspects. For ataxia quantification, the *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA) was used. For the evaluation of non-motor symptoms, we used the *Modified Fatigue Impact Scale* (MFIS) for fatigue, *Epworth Sleepiness Scale* (ESS) for excessive daytime sleepiness, *Beck Depression Inventory* (BDI) for depression and *Addenbrooke's Cognitive Examination – Revised* (ACE-R) for cognition aspects. The encephalic and spinal structural damage were evaluated by DTI and T1-weighted magnetic resonance imaging. For MRI analyses, the tools FreeSurfer, T1 MultiAtlas, DTI MultiAtlas, CERES and SpineSeg were used. Attempting to analyse the evolution pattern, the patients were divided into three groups according to the disease duration. Clinical and imaging variables were compared in these groups to determine the evolutionary pattern of CNS changes. Motor symptoms correlated to damage of red nuclei, spinal cord and cerebellar cortex. Fatigue levels were significantly higher in patients compared to controls and were directly related to depression and disease duration. Depression was more frequent in patients and correlated to motor aspects, however, there was no association with brain areas. Cognitive alterations were important, especially in memory and fluency domains, which correlated directly to atrophy in the amygdala and cerebellar lobe VIII, respectively. Significant area reduction and eccentricity increase were observed in patients' cervical spinal cord when compared to controls.

The reduction of the cord area correlated directly to motor aspects; and duration and CAGn were possible determinants. Cross-sectional brain evaluations revealed significant damage in primary and associative areas in cerebral cortex, deep gray matter, cerebellar cortex and encephalic white matter, especially in infratentorial regions. Analysis of disease course disclosed a caudal-cranial pattern of damage in the CNS. Finally, we were able to phenotypically characterize SCA1 and to correlate its clinical and structural aspects.

Key words: Spinocerebellar ataxia type 1. MRI. MultiAtlas. FreeSurfer. Spineseg. CERES.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Desenho do Estudo.....	46
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3T: 3 Tesla

ACE-R: do inglês, *Addenbrooke's Cognitive Examination Revised* ou escala de Addenbrooke

AD: do inglês, *Axial Diffusivity* ou difusividade axial

ATXN1: do inglês, gene *Ataxin 1* ou ataxina 1

BDI: do inglês, *Beck Depression Inventory* ou inventário depressivo de Beck

CA: do inglês, *Cord Area* ou área medular

CAAE: Certificado de Apresentação para Apreciação Ética

CCAS: do inglês, *Cerebellar Cognitive Affective Syndrome* ou síndrome afetiva cognitiva cerebelar

CE: do inglês, *Cord Eccentricity* ou excentricidade medular

CERES: do inglês, *CEREbellum Segmentation* ou segmentação cerebelar

CNS: do inglês, *Central Nervous System* ou sistema nervoso central

CSF: do inglês, *Cerebrospinal fluid* ou fluido cerebrospinal

CST: do inglês, *Corticospinal Tract* ou trato corticoespinal

DTI: do inglês, *Diffusion Tensor Imaging* ou imagem por tensores de difusão

DWI: do inglês, *Diffusion Weighted Imaging* ou imagem ponderada por difusão

EC: Excentricidade medular

ESS: do inglês, *Epworth Sleepiness Scale* ou escala de sonolência de epworth

eTIV: *estimated Total Intracranial Volume* ou volume intracraniano estimado

FA: do inglês, *Fractional Anisotropy* ou anisotropia fracional

GM: do inglês, *Gray Matter* ou substância cinzenta

LH: do inglês, *Left Hemisphere* ou hemisfério esquerdo

MD: do inglês, *Mean Diffusivity* ou difusividade média

MFIS: do inglês, *Modified Fatigue Impact Scale* ou escala modificada do impacto da fadiga

MFIS-C: do inglês, *Modified Fatigue Impact Scale – cognitive component* ou escala modificada do impacto da fadiga – componente cognitivo

MFIS-P: do inglês, *Modified Fatigue Impact Scale – physical component* ou escala modificada do impacto da fadiga – componente físico

MFIS-S: do inglês, *Modified Fatigue Impact Scale – psychosocial component* ou escala modificada do impacto da fadiga – componente psicossocial

MNI: do inglês, *Montreal Neurological Institute*

MRI: do inglês, *Magnetic Resonance Imaging* ou imagem por ressonância magnética

PN: Polineuropatia Sensitiva

RD: do inglês, *Radial Diffusivity* ou difusividade radial

RH; do inglês, *Right Hemisphere* ou hemisfério direito

RM: Ressonância Magnética

ROI: do inglês, *Region of Interest* ou região de interesse

SARA: do inglês, *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* ou escala para avaliação e classificação da ataxia

SC: do inglês, *Spinal Cord* ou medula espinhal

SCA: do inglês, *Spinocerebellar Ataxia* ou ataxia espinocerebelar

SCA1: do inglês, *Spinocerebellar Ataxia type 1* ou ataxia espinocerebelar tipo 1

SCA3: do inglês, *Spinocerebellar Ataxia type 3* ou ataxia espinocerebelar tipo 3

SENSE: do inglês, *Sensitivity Encoding* ou codificação de sensibilidade

SNC: Sistema Nervoso Central

SpineSeg: do inglês, *Spinal Segmentation - a segmentation and measurement tool for evaluation of spinal cord atrophy* ou *segmentação medular*

TCE: Trato Corticoespinal

TE: Tempo ao Eco

TR: Tempo de Repetição

VLOM: do inglês, *Verbal-Language/Orientation-Memory ratio* ou razão dos domínios fluência verbal + linguagem / orientação + memória

Voxel: do inglês, *Volume Element* ou elemento de volume

WM: do inglês, *White Matter* ou substância branca

SUMÁRIO

Introdução.....	17
Revisão da Literatura.....	19
Objetivos.....	38
Metodologia.....	39
Resultados.....	47
Discussão Geral.....	108
Conclusão.....	112
Referências.....	113
Anexos.....	120

INTRODUÇÃO

A ataxia espinocerebelar do tipo 1 (SCA1) é um distúrbio autossômico dominante, caracterizado por ataxia cerebelar progressiva, sinais piramidais e sintomas não motores (1,2). Seu início geralmente ocorre na quarta década de vida e as famílias afetadas demonstram fenômeno de antecipação, em que os sintomas tendem a iniciar mais cedo com o passar das gerações (3,4). É causada por uma expansão CAG dentro da região codificante do gene *ATXN1* no cromossomo 6p22-p23 (3,5). Indivíduos saudáveis têm um número de repetição de CAG de 39 ou menos, por outro lado, os pacientes afetados têm mais de 44 repetições e alelos intermediários (39-44) resultam em penetrância reduzida. A ataxina-1 anormal agrega-se em pequenas inclusões intranucleares, levando à toxicidade neuronal (6,7).

Como em outros distúrbios neurodegenerativos, achados não motores são comuns na SCA1, entretanto, são poucos os estudos relacionados a essas manifestações, especialmente no que diz respeito à depressão, fadiga, sonolência excessiva diurna e comprometimento cognitivo. Em especial, os distúrbios cognitivos, geralmente leves, são observados em 20-30% dos casos (8). Vários estudos revelam deficiência na função executiva, principalmente de atenção, percepção visuo-espacial, fluência verbal, bem como alterações de memória imediata e remota (2,9,10). O atraso mental significativo, no entanto, foi relatado apenas em indivíduos com expansões de CAG muito grandes e início antes dos 15 anos de idade (8,11,12).

Atualmente, técnicas de neuroimagem são ferramentas poderosas na avaliação de muitos distúrbios neurodegenerativos estreitamente relacionados (13-16). Tais ferramentas demonstram anormalidades estruturais *in vivo* e proporcionam uma melhor compreensão dos mecanismos e da progressão da doença. Não obstante, não foram realizados grandes estudos para investigar a extensão da neurodegeneração e como ela afeta sequencialmente certas populações neuronais na SCA1. Em particular, pouco se sabe a respeito da extensão do dano estrutural, bem como sua relação com o fenótipo clínico.

Com base nisso, nosso objetivo é avaliar as características motoras e não motoras da doença, correlacionando esses achados com aspectos anatômicos. Além disso, pretendemos delinear como o curso da doença influencia o dano estrutural, proporcionando visões sobre a história natural da doença. Para tanto, empregamos técnicas multimodais de ressonância magnética, observando o encéfalo e a medula espinhal em uma grande coorte de pacientes em diferentes estágios da doença.

REVISÃO DA LITERATURA

Artigo 1: Twenty-five years since the identification of the first SCA gene: history, clinical features and perspectives for SCA1 (Artigo submetido em "*Arquivos de Neuro-Psiquiatria*" - Manuscript ID is ANP-2018-0054.R1).

Twenty-five years since the identification of the first SCA gene: history, clinical features and perspectives for SCA1.**Vinte e cinco anos desde a identificação do primeiro gene das SCAs: história, aspectos clínicos e perspectivas para a SCA1.**

Carlos Roberto Martins Junior¹, MD; Fabrício Castro de Borba¹, MD; Alberto Rolim Muro Martinez¹, MD; Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende¹, MD, PhD; Iscia Lopes Cendes², MD, PhD; José Luiz Pedroso³, MD, PhD; Orlando Graziani Povoas Barsottini³, MD, PhD; Marcondes Cavalcante França Júnior¹, MD, PhD.

1- Department of Neurology, School of Medical Sciences, University of Campinas—UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

2-Department of Medical Genetics, School of Medical Sciences, University of Campinas—UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

3- Department of Neurology, Ataxia Unit, Federal University of São Paulo—UNIFESP, São Paulo, Brazil

Word count: Title 17, Abstract: 109, Manuscript 3323, References 60, Figures: 02, Tables: 02

Funding agencies: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Grant #13/01766-7 and #2014/19786-7) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Relevant conflicts of interest/financial disclosures: Nothing to report related to this paper.

Correspondence to: Dr. Marcondes Cavalcante França Jr, Department of Neurology, University of Campinas – Rua Tessália Vieira de Camargo, 126. Campinas, SP-13083-887, Brazil (tel.: +551935219217; fax: +551935217933; e-mail: mcfrancajr@uol.com.br).

Abstract

Spinocerebellar ataxias (SCA) are a clinically and genetically heterogeneous group of monogenic diseases that share ataxia and autosomal dominant inheritance as the core features. An important proportion of SCAs are caused by CAG trinucleotide repeat expansions in the coding region of different genes. In addition to genetic heterogeneity, clinical features transcend motor symptoms, including

cognitive, electrophysiological and imaging aspects. Despite all the progress done in the past 25 years, the mechanisms that determine how neuronal death is mediated by these unstable expansions are still unclear. The aim of this article is to review, from a historical point of view, the first (CAG)-related ataxia to be genetically described: SCA 1.

Keywords: SCA1, Ataxin 1, Hereditary Ataxias.

Resumo

As ataxias espinocerebelares (SCA) são um grupo clínico e geneticamente heterogêneo de doenças monogênicas que compartilham ataxia e herança autossômica dominante como características principais. Uma proporção importante de SCAs é causada por expansões de repetição de trinucleotídeos CAG na região de codificação de diferentes genes. Além da heterogeneidade genética, os aspectos clínicos transcendem os sintomas motores, incluindo aspectos cognitivos, eletrofisiológicos e de imagem. Apesar de todo o progresso feito nos últimos 25 anos, os mecanismos que determinam como se dá a morte neuronal mediada por essas expansões instáveis ainda não estão claros. O objetivo deste artigo é revisar, de um ponto de vista histórico, a primeira ataxia geneticamente relacionada com o CAG descrita: SCA 1.

Palavras-chave: SCA1, Ataxina 1, Ataxias hereditárias.

Early Studies

In 1863, the German pathologist Nikolaus Friedreich described a new spinal disease which turned out to be the first description of a hereditary ataxia [1]. The disease was characterized by cerebellar ataxia, dysarthria and deep areflexia, generally with an early age of onset and presenting an autosomal recessive pattern of inheritance [1]. Over 30 years later, Pierre Marie reported a group of patients presenting hereditary ataxia, but with late disease onset, mostly presenting increased tendon reflexes and occasionally with an autosomal dominant pattern of inheritance [2]. It was later pointed out that Marie's cohort was both clinically and pathologically heterogeneous and several classifications throughout the 20th century failed to outline properly the full clinical and pathological spectrum of the autosomal dominant cerebellar ataxias (ADCA) [3,4]. The term spinocerebellar ataxia (SCA) remained from those early attempts to classify the ADCA, and nowadays they are used as

synonyms. Other terms previously used to describe ADCA were Marie's Ataxia, olivopontocerebellar atrophy and cerebello-olivary atrophy [2,4,5].

History of SCA1 Genetics

In the first half of the 20th century, many researchers published small families segregating ADCA, raising the most diverse hypotheses on the genetic basis of the disease, usually with conflicting results [5]. Nonetheless, in the late 1940's, a north-American group started following a large family of patients (n=342) in which 45 individuals presented the disease. At that time, authors attempted to determine the genetic basis of the disease using linkage analyses, but they failed to uncover the responsible gene/mutation [6].

Despite the initial disappointing results, the investigators kept following that kindred. From the 1970's to the 1980's, strong evidence came out supporting that the causative gene of at least that form of ADCA was related to the HLA human complex. Further studies mapped the disease locus to the short arm of chromosome 6 [7]. Finally, 100 years after Marie's original publication, in 1993, a collaborative study led by Zoghbi *et al.* was published describing an unstable CAG trinucleotide repeat expansion at the coding region of the implicated gene as the first causative mutation of ADCA [8]. The normal SCA1 allele contained 6 to 38 CAG repeats interrupted by the CAT trinucleotide, in contrast with mutation carriers that had 39-44 continuous CAG repeats (Table 1). These authors also pointed out that the size of the repeat inversely correlated with the age of onset of the symptoms (anticipation phenomenon) [8,9,10].

Other researchers such as Harry T. Orr and Sandro Banfi played key roles in the description and characterization of the *ATXN1* gene [8,11]. The disease locus was named *ATXN1* and those presenting the mutation would be thereafter definitively classified as having SCA type 1 [4]. Curiously, the gene related to Friedreich's Ataxia was only described three years later. Hence, SCA1 was indeed the first hereditary ataxia to have its genetic basis elucidated [3,8,11].

The *ATXN1* gene encodes a protein called Ataxin 1, which has nuclear location inside neurons, but cytoplasmic location in other peripheral tissues. Mutation carriers produce an abnormal form of Ataxin 1 with an excessive number of consecutive glutamine residues. Less than five years apart from the gene description, experimental studies with transgenic mice showed that the pathogenesis by which the mutation causes disease is a toxic gain of function [4]. Then, Zoghbi's

group revealed the specific role of protein misfolding in the pathogenesis of SCA1, a finding that has proved relevant to other polyglutamine disorders [12]. Afterwards, the group started looking at potential pharmacological interventions in animal models [13].

Demographic data and phenotypic characterization

SCAs are rare diseases with prevalence rates ranging from 1.0–4.0 per 100,000. SCA1 accounts for between 3% and 16% of all autosomal dominant SCAs [14]. The search for relative frequencies of SCAs in Brazilian cohorts showed that SCA1 represents 4.2% of all SCAs; it is the 4th most frequent SCA, behind SCA3, SCA2 and SCA7 [15]. The first descriptions of Brazilian cases with SCA1 are relatively recent. All patients attending our reference center in southeastern Brazil descend from Italian immigrants [16]. Relative frequencies of SCA1 in different populations are shown in Table 2 [17,18,19].

Clinical aspects

The up-to-date clinical description of SCA1 is a late onset cerebellar syndrome, showing inconstant degrees of ophthalmoplegia, pyramidal or extrapyramidal signs and peripheral neuropathy [3,4]. A phenomenon of progressive worsening of the phenotype across generations has been observed previously [4]. The first symptoms often include gait disturbances, later followed by diplopia, dysarthric speech, uncoordinated handwriting and episodic vertigo. Patients may less commonly present with vocal cord abductor paralysis or psychosis [3]. The average age of onset of SCA1 is between the third and fourth decades, but there is clear variability even within families. Survival from disease onset is around 15 years, but again there is remarkable variability (range 10 to 28 years) [3,5].

In a recent series of Brazilian cases [15], the most frequent clinical findings were in descending order: ataxia (100%), pyramidal findings (89%), dysarthria and/or dysphagia (89%), alterations in ocular movements (44%), nystagmus (33%), rigidity (33%), palpebral retraction (22%), sensory loss (11%), dystonic movements (11%), seizures (11%). Absent reflexes, amyotrophy, visual loss, tremor and cognitive decline were not found.

Disease progression has been recently assessed in a large multicentric European study [20]. Authors found that SCA1 progresses faster than other types of SCAs, with a mean annual progression in ataxia score of 2.11 (Scale of assessment and rating of ataxia-SARA). Within the SCA1 group, patients that had a shorter

duration of follow up, older age at initial evaluation and longer CAG repeats progressed at faster rates. It remains to be investigated whether such rates of progression also take place in SCA1 patients coming from other regions. Although ataxia is the main and most disabling symptom in most patients with SCA1, many have additional non-ataxia symptoms, which have a great impact on the quality of life of these patients.

Cognitive impairment

It is known that the cerebellum contributes to cognitive tasks, including executive and language functions [21]. In particular, patients with isolated acute or chronic focal cerebellar lesions show frontal-like and parietal-like symptoms; this clinical picture is referred to as the cerebellar cognitive affective syndrome (CCAS) [21]. The neuroanatomical basis for CCAS is not fully clear, but at least 2 hypotheses have been raised. It may stem either from the interruption, as in a disconnection syndrome, or from a dysfunctional contribution of the cerebellum in the neocerebellar–neocortical reverberant network. This syndrome is characterized by impairments in executive functions (deficiency in planning, set-shifting, abstract reasoning, working memory, verbal fluency), language disorders, disturbances in spatial cognition, and personality changes [21].

Several studies reported the neuropsychological features of patients with SCA1, and most show impaired executive function, attention, visuo-spatial perception, verbal fluency, immediate and delayed memory [22]. Fancellu *et al.* reported that patients had significant deficits compared to controls, mainly in executive functions (phonemic and semantic fluencies, attentional matrices) and the dissociation in the progression of motor disability and cognitive impairments, suggesting that motor and cognitive functions might be related to different progression rates in SCA1 [23].

Ma *et al.* reported that SCA1 causes mild impairment on executive function, temporal orientation and logical thinking. The cognitive deficits were correlated with clinical severity of ataxia symptoms, but not age, age of onset, years of education and disease duration [24]. Klinka *et al.* showed that asymptomatic SCA1 carriers have normal cognitive test scores, thus suggesting that cognitive dysfunction does not seem to precede cerebellar ataxia [25]. While some phenotypic traits, such as age of onset, progression rate and disease severity are directly related to genotype (CAG expansion length), it is unclear whether the occurrence and severity of

cognitive impairment also depend on it. Moriarty *et al.* reported impairments on executive functions, speed, attention, visual memory and Theory of Mind in SCA1 patients. These authors also found SCA1 to have the fastest cognitive decline when compared to the other SCAs, a finding in line with the motor deterioration pattern in SCAs [25].

The pattern of alterations in executive and visuospatial functions described in SCA1 [22] suggests a fronto-parietal dysfunction that could be caused by an alteration in the fronto-ponto-cerebello-thalamo-cortical circuits [21]. A direct dysfunction of fronto-parietal areas could be hypothesized, however impairments in these cortical areas have not yet been proven in SCA1. In addition, the involvement of subcortical structures, such as basal ganglia, could play a role in development of cognitive dysfunction [26].

Depression

Patients with cerebellar degenerative diseases have greater apathy, depression, anxiety and personality changes than normal individuals, especially when the cerebellar degeneration is associated with basal ganglia involvement [21, 22]. It is hypothesized that these symptoms could be caused by a dysfunction in the connections between prefrontal cortex (dorsolateral, orbitomedial, dorsomedial) and basal ganglia [27]. Fancellu *et al.* reported that SCA1 patients had significantly higher depression scores and apathy than controls [23]. Klinker *et al.* disclosed mildly depressed mood (*Beck Depressive Inventar* score 11–18) in 50% of SCA1 patients, though no patient showed scores indicating severely depressed mood (score ≥ 18) [22]. McMurtry *et al.* identified depressive and memory symptoms as heralding features of SCA1 in 25% and 42% of the patients, respectively [28].

Sleep disorders and Fatigue

Hypersomnolence in SCA1 can interfere with daytime functioning and periodic limb movements can be a cause of sleep fragmentation in these patients [29]. Obstructive sleep apnea can co-exist with SCA1, possibly as a manifestation of pharyngeal dilator muscle incoordination in response to impending airway collapse [29]. According to Abele *et al.*, restless legs syndrome is significantly more frequent in patients with SCA1 than in the general population and present in 28% of patients [30]. Fatigue is a major manifestation in SCA1 and related to disease duration, depression and probably disease severity [31].

Electrophysiological features

Multisystem involvement in SCA1 is common and electrophysiology is a potent tool to uncover impairment of multiple neuronal systems and even to decipher subclinical affection. Electrooculography reveals quantitatively abnormal eye movements, such as gaze-evoked nystagmus and slowing of saccades [32]. Visual-evoked potentials (VEP) reveal decreased amplitude and/or prolonged latency of P100 wave [33]. Abnormal acoustic-evoked potentials (AEPs) findings include loss of waves as well as increased interpeak intervals [33].

Somatosensory-evoked potentials (SEP) also show impairment of central or peripheral sensory tracts in SCA1. Abele *et al.* using SEP showed loss of P40 in 100% of patients. Motor-evoked potentials (MEPs) are helpful to show subclinical affection of the corticospinal tracts, which is very frequent in SCA1 [33]. Almost all patients present with prolonged central motor conduction times (CMCT) and peripheral motor conduction times (PMCT) in all extremities [33,34].

Nerve conduction studies reveal mildly reduced nerve conduction velocities in sensory and motor nerves, but amplitude reduction is much more prominent in sensory rather than motor nerves [34]. Electromyography (EMG) often reveals signs of chronic denervation affecting proximal and distal muscles. The pattern may resemble a distal neuropathy in some patients, but in others, it is much like a diffuse motor neuronopathy [34]. In a recent study, Linnemann *et al.* reported the features of peripheral neuropathy in SCA1, in which mixed neuropathy was the most frequent pattern (83%), followed by axonal (11%) and demyelinating (6%) disease [35].

Neuropathology

SCA1 is characterized macroscopically by olivopontocerebellar atrophy [36]. On microscopy, there is dramatic loss of cerebellar Purkinje cells and also of neurons of the dentate nuclei, basal pontine and other brainstem areas, including the red nuclei, vestibular and motor cranial nerve nuclei [36]. In contrast, the pars compacta of the substantia nigra, the basal ganglia, thalamus, cerebral cortex and hippocampus are usually spared [36]. Hence, SCA1 neuropathology can involve components of the cerebello-thalamocortical loop, the basal ganglia-thalamocortical loop, the visual system and the somatosensory system [37]. The impairment of the spinal cord is conspicuous. It is characterized by gross atrophy, caused by loss of anterior horn cells, fibers in the posterior columns and neurons from the Clarke's column [38].

Neuroimaging

Schulz *et al.* evaluated volumetric changes in SCA1 using Voxel-based morphometry (VBM) in a multicenter study with 48 patients. The authors reported gray matter volume loss in the cerebellar hemispheres, vermis, brainstem and white matter loss in the midbrain, pons, middle cerebellar peduncles, and cerebellar hemispheres. The brainstem and pons volumes correlated inversely with ataxia severity [39].

Analyses of supratentorial structures revealed gray matter volume loss in the caudate nuclei, putamina and temporal lobes, but no correlations with clinical or molecular data were found. [39] In a 2 year-prospective study, Reetz *et al.* evaluated 37 patients with SCA1. Cross-sectional analyses found a significant decline in gray matter volume for the whole brainstem, left anterior and posterior cerebellum and the right putamen and pallidum compared to healthy controls. The length of the expanded CAG repeat allele correlated with cerebellum and pons volume loss in these patients. Longitudinal analyses identified progressive atrophy in the brainstem, pons, putamen, left caudate and left cerebellar hemisphere after 2 years. The length of the expanded CAG repeat allele correlated with the rate of cerebellar volume loss. In the same study, authors attempted to compare the rates of atrophy within different SCA subtypes. The SCA1 group indeed had an increased rate of volume loss in the whole brainstem, left cerebellar hemisphere, and putamen, when compared to the SCA3 group [40].

Other studies using VBM also reported volume loss in cerebellum and brainstem involving both gray and white matter [41]. Regional damage to cerebral white matter in individuals with SCA1 has been repeatedly demonstrated by diffusion tensor imaging in several studies [42].

A multicenter observational European study, with 26 presymptomatic carriers of SCA1 mutations reported gray matter loss in the medulla oblongata extending to the pons and to the lobule IX of the cerebellum in these individuals compared to matched healthy controls. These results indicate that anatomical damage takes place before symptom onset in SCA1 [43]. Patients with SCA1 also have cervical spinal cord atrophy combined with anteroposterior flattening [44]. Interestingly, spinal cord area correlates with ataxia severity, disease duration, and CAG expansion [44].

Regarding neurochemical alterations detected by proton magnetic resonance spectroscopy, measurements of metabolites such as N-acetylaspartate and myoinositol indicate neuronal loss in the cerebellum and pons in SCA1. These

parameters correlated with motor disability [45]. Figure 1 discloses some aspects of imaging in SCA1.

Disease mechanisms and future therapeutic perspectives

Wild-type *ATXN1* includes a polyQ tract that normally contains 6–34 glutamines. A monopartite nuclear-localization signal (NLS) motif near the carboxyl terminus directs the localization of the protein to the nucleus [46]. *ATXN1* containing a wild-type polyQ tract can move between the cytoplasm and nucleus inside neurons. On the other hand, *ATXN1* containing an expanded polyQ tract is transported to the nucleus but cannot be exported to the cytoplasm [47]. Such abnormal and obligatory localization inside the nucleus seems to be important for SCA1 pathogenesis, since the substitution of a single amino acid within the NLS prevents the expanded *ATXN1* from entering the cell nucleus and this mitigates its toxicity [48].

Wild-type and expanded *ATXN1* interact with various nuclear elements, such as RNA [47,48], several regulators of transcription, capicua (CIC) [48], and others. An important approach to understanding SCA1 pathogenesis has been to model disease features in mice. The importance of ATXN1–CIC complexes in SCA1 pathogenesis is suggested by the observation that reducing CIC levels, either genetically or through exercise, decrease the deficit in motor performance and the premature lethality of the SCA1-like phenotypes in animal models [49].

On entering the nuclei of Purkinje cells, Ataxin-1 binds to CIC. Although Ataxin-1 alone does not bind to DNA [48,49], the Ataxin-1–CIC complex is targeted to chromatin and transcription sites, binding DNA. Noticeably, as transcription proceeds, Ataxin-1 is hypothesized to shuttle between complexes with CIC and the splicing factor RBM17. Ataxin-1 can be found in two high-molecular-weight soluble complexes: one that includes CIC and another that includes RBM17 [49]. These two Ataxin-1 complexes could be in a dynamic equilibrium and the dynamics of the complexes affect gene expression. An altered balance in the interaction of expanded Ataxin-1 with CIC and RBM17 could drive pathogenesis in SCA1. In this way, expansion of the polyQ tract in Ataxin-1 favours Ataxin-1 –RBM17 complex formation [50], implicating this complex in SCA1 pathogenesis (Figure 2).

Like other neurodegenerative disorders, such as Huntington disease [51], mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling is altered in SCA1. In the cerebellar proteomes of transgenic mice with Ataxin-1 [82Q]-expressing Purkinje

cells, mTOR levels were decreased before the onset of symptoms [52]. The DNA-damage and DNA-repair pathways have also been implicated in the pathogenesis of SCA1 [53]. In *Sca1154Q/2Q* mice, enhanced expression of proteins that function in several DNA-repair pathways and restoration of mitochondrial DNA repair by expressing the DNA-repair protein [54], could improve motor performance, Purkinje cell morphology, molecular functions and attenuate SCA1-like phenotypes.

Furthermore, early changes in the expression of specific receptors and ion channels that are important for regulating membrane excitability, such as the dysregulation of calcium-activated potassium channel physiology, contribute not only to motor dysfunction but also to structural changes in neurons that consistently precede cell death, changing the intrinsic excitability of Purkinje neurons [55].

Several aspects of SCA1 pathogenesis still remain unclear 25 years after the gene/mutation description. Moreover, the studies have shown that long polyglutamine tracts expressed by the mutated gene have an increased tendency to aggregate, creating nuclear inclusion bodies in affected neurons that are ubiquitinated [3,4]. Screening is in progress to find poly-Q aggregate inhibitors and also to check whether silencing gene expression can be an interesting therapeutic option [3,4]. However, as described above, several cellular pathways are implicated in SCA1 pathogenesis and this multi-pathway picture turns the development of new therapies difficult. To date, there is no curative treatment for SCA1. Nevertheless, symptomatic therapy may ameliorate symptoms, especially the non-motor aspects, like depression and sleep disorders.

There are several lines of research on therapeutic agents for SCA1, usually based on animal and cell-based models. Given that mutant polyQ disease proteins can disturb gene expression, RNA homeostasis and protein homeostasis through diverse pathways with largely downstream consequences, acting proximally in the disease cascade to lower the levels of the toxic protein can be a useful strategy towards developing a disease-modifying therapy. In this sense, endeavors to target the expression of polyQ SCA proteins have used antisense oligonucleotides (ASOs) or virus-mediated delivery of short hairpin RNAs or artificial miRNAs to interfere with translation. Preclinical tests of ASOs or miRNA-based drugs for SCA1 [56] show considerable promise, making clinical trials increasingly likely.

Experimental data suggested that lithium treatment improves motor coordination, multiple behavioral measures and might lead to neuroprotective

properties in the cerebellum of SCA1 mouse models [57]. Based on this, lithium could be a potential treatment for human SCA1. A Phase I trial of oral lithium has been completed as an intramural NIH study, but results have not yet been published (NCT00683943). Riluzole has been shown to provide some symptomatic relief of ataxia in a mixed group of individuals including people with SCA1 [58]; however, further investigation is needed, particularly long-term disease-specific trials. A double-blind randomized placebo controlled trial of riluzole prodrug BHV4157 is ongoing (NCT02960893).

In line to other therapies, Matsuura *et al.* reported that intrathecal injection of mesenchymal stem cells (MSCs) into the meningeal covering of the cerebellum improved Purkinje cell organization, reduced cerebellar dendrite atrophy and normalized behavior and motor deficits in B05 mice injected at 5 weeks of age [59]. Thus, further investigation is needed to confirm the therapeutic potential of stem cells in SCA1. Gene therapy is based on reducing expression of the mutant *ATXN1* through gene silencing or overexpressing a paralog of *ATXN1*, ataxin-1-like (*ATAXIN-1L*), to competitively inhibit the formation of toxic complexes by polyQ-ATAXIN-1 [60]. This approach appears to be promising, but further clinical studies are still needed.

Conclusion

In conclusion, in over 100 years of research, there is still a long path to fully understand and treat patients diagnosed with SCA1. Nevertheless, recent progress and the genetic outbreaks of the 1990's have given neurologists and neuroscientists valuable hints on where to search for answers.

References

1. Friedreich, N. Ueber degenerative Atrophie der spinalen Hinterstränge. Arch. für Pathol. Anat. und Physiol. und für Klin. Med. 1863;26:391–419.
2. Marie, P. La semaine médicale: Sur l'héredo-ataxie cérébelleuse. La Semaine médicale. 1893.
3. Finsterer, J. Ataxias with autosomal, X-chromosomal or maternal inheritance. Can. J. Neurol. Sci. 2009;36:409–28.
4. Cummings, C. J., Orr, H. T. & Zoghbi, H. Y. Progress in pathogenesis studies of spinocerebellar ataxia type 1. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 1999;354:1079–1081.
5. Schut, J. W. Hereditary Ataxia. Clinical Study Through Six Generations. Arch

NeurPsych. 1950;63:535-568.

6. Matson, G. A., Schut, J. W., Swanson, J. Hereditary ataxia: Linkage studies in hereditary ataxia. *Ann. Hum. Genet.* 1961;25:7–23.

7. Rich, S. S., Wilkie, P., Schut, L., Vance, G. & Orr, H. T. Spinocerebellar ataxia: localization of an autosomal dominant locus between two markers on human chromosome 6. *Am. J. Hum. Genet.* 1987;41:524–31.

8. Orr H., Chung M.-Y., Banfi S., Kwiatkowski T. J., Jr., Servadio A., Beaudet A. L., McCall A. E., Duvick L. A., Ranum L. P. W., Zoghbi H. Y. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat. Genet.* 1993;4:221–226.

9. Goldfarb LG, Vasconcelos O, Platonov FA, Lunkes A, Kipnis V, Kononova S, Chabrashvili T, Vladimirtsev VA, Alexeev VP, Gajdusek DC. Unstable triplet repeat and phenotypic variability of spinocerebellar ataxia type 1. *Ann Neurol.* 1996;39:500–6.

10. Zühlke C, Dalski A, Hellenbroich Y, Bubel S, Schwinger E, Bürk K. Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1): phenotype-genotype correlation studies in intermediate alleles. *Eur J Hum Genet.* 2002;10:204–9.

11. Banfi, S. *et al.* Identification and characterization of the gene causing type 1 spinocerebellar ataxia. *Nat. Genet.* 1994;7:513–520.

12. Cummings C. J., Mancini M. A., Antalffy B., DeFranco D. B., Orr H. T., Zoghbi H. Chaperone suppression of aggregation and altered subcellular proteasome localization imply protein misfolding in SCA1. *Nat. Genet.* 1998;19:148–154.

13. Emamian E. S., Kaytor M. D., Duvick L. A., Zu T., Tousey S. K., Zoghbi H. Y., Clark H. B., Orr H. T. Serine 776 of ataxin-1 is critical for polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice. *Neuron.* 2003;38:375–387.

14. Manto M, Marmolino D. Cerebellar ataxias. *Curr Opin Neurol* 2009;22:419–29.

15. de Castilhos RM, Furtado GV, Gheno TC, Schaeffer P, Russo A, Barsottini O, Pedroso JL, Salarini DZ, *et al.* Spinocerebellar ataxias in Brazil - frequencies and modulating effects of related genes. *Cerebellum.* 2014;13:17-28.

16. Lopes-Cendes I, Steiner CE, Silveira I, Pinto Júnior W, Maciel JA, Rouleau GA. Clinical and molecular characteristics of a Brazilian family with spinocerebellar ataxia type 1. *Arq Neuropsiquiatr.* 1996;54:412-8.

17. Filla A, Mariotti C, Caruso G, Coppola G, Coccozza S, Castaldo I, Calabrese O, Salvatore E, De Michele G, Riggio MC, Pareyson D, Gellera C, Di Donato S. Relative

frequencies of CAG expansions in spinocerebellar ataxia and dentatorubropallidoluysian atrophy in 116 Italian families. *Eur Neurol.* 2000; 44:31-6.

18. Illarioshkin SN, Slominsky PA, Ovchinnikov IV, Markova ED, Miklina NI, Klyushnikov SA, Shadrina M, Vereshchagin NV, Limborskaya SA, Ivanova-Smolenskaya IA. Spinocerebellar ataxia type 1 in Russia. *J Neurol.* 1996; 243:506-10.

19. Krysa W, Sulek A, Rakowicz M, Szirkowiec W, Zaremba J. High relative frequency of SCA1 in Poland reflecting a potential founder effect. *Neurological Sciences.* 2016; 37:1319-1325.

20. Jacobi H, du Montcel ST, Bauer P, Giunti P, Cook A, Labrum R, Parkinson MH, Durr A, et al. Long-term disease progression in spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol.* 2015;14:1101-8.

21. Schmahmann, J. D., & Sherman, J. C. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain.* 1998;121:561–579.

22. Klinka I, Minnerop M, Schmitz-Hubsch T, Hendriks M, Klockgether T, Wullner U, Helmstaedter C. Neuropsychological features of patients with spinocerebellar ataxia (SCA) types 1, 2, 3, and 6. *Cerebellum.* 2010;9:433–42.

23. Fancellu R, Paridi D, Tomasello C, Panzeri M, Castaldo A, Genitrini S, Soliveri P and Girotti F. Longitudinal study of cognitive and psychiatric functions in spinocerebellar ataxia types 1 and 2. *J Neurol* 2013;260:3134-3143.

24. Ma J, Wu C, Lei J, Zhang X. Cognitive impairments in patients with spinocerebellar ataxia types 1, 2 and 3 are positively correlated to the clinical severity of ataxia symptoms. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7:5765–71.

25. Moriarty A, Cook A, Hunt H, Adams ME, Cipolotti L, Giunti P. A longitudinal investigation into cognition and disease progression in spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, 6, and 7. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11:82.

26. Jacobi H, Hauser TK, Giunti P, Globas C, Bauer P, Schmitz-Hu"bsch T, Baliko L, Filla A, Mariotti C, Rakowicz M, 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.

27. Leroi I, O'Hearn E, Marsh L, Lyketsos CG, Rosenblatt A, Ross CA, Brandt J, Margolis RL. Psychopathology in patients with degenerative cerebellar diseases: a comparison to Huntington's disease. *Am J Psychiatry.* 2002;159:1306–1314.

28. McMurtray AM, Clark DG, Flood MK, Perlman S, Mendez MF. Depressive and

memory symptoms as presenting features of spinocerebellar ataxia. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 2006;18: 420–422.

29. Dang D, Cunnington D. Excessive daytime somnolence in spinocerebellar ataxia type 1. *J Neurol Sci.* 2010;290(1-2):146-7.

30. Abele M, Bürk K, Laccone F, Dichgans J, Klockgether T. Restless legs syndrome in spinocerebellar ataxia types 1, 2, and 3. *J Neurol.* 2001;248:311–4.

31. Martins CR Jr, Martinez AR, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, França MC Jr. Fatigue is frequent and severe in spinocerebellar ataxia type 1. *Parkinsonism Relat Disord.* 2015;21(7):821-2.

32. Buttner N, Geschwind D, Jen JC, et al. Oculomotor phenotypes in autosomal dominant ataxias. *Arch Neurol.* 1998;55:1353–7.

33. Abele M, Burk K, Andres F, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I. Nerve conduction and evoked potential studies in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain.* 1997;120(Pt 12):2141–8.

34. Van de Warrenburg BP, Notermans NC, Schelhaas HJ, et al. Peripheral nerve involvement in spinocerebellar ataxias. *Arch Neurol.* 2004;61:257–61.

35. Linnemann C, Tezenas du Montcel S, Rakowicz M, Schmitz-Hübsch T, Szymanski S, Berciano J, van de Warrenburg BP, Pedersen K, Depondt C, Rola R, Klockgether T, García A, Mutlu G, Schöls L. Peripheral Neuropathy in Spinocerebellar Ataxia Type 1, 2, 3, and 6. *Cerebellum.* 2016;15:165-73.

36. Globas, C. et al. Early symptoms in spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. *Mov. Disord.* 2008;23:2232–2238.

37. Rüb U, Schöls L, Paulson H, Auburger G, Kermer P, Jen JC, Seidel K, Korf HW, Deller T. Clinical features, neurogenetics and neuropathology of the polyglutamine spinocerebellar ataxias type 1, 2, 3, 6 and 7. *Prog Neurobiol.* 2013;104:38–66.

38. Iwabuchi K, Tsuchiya K, Uchihara T, Yagishita S. Autosomal dominant spinocerebellar degenerations. Clinical, pathological and genetic correlations. *Rev Neurol (Paris).* 1999;155:255–70.

39. Schulz JB, Borkert J, Wolf S, et al. Visualization, quantification and correlation of brain atrophy with clinical symptoms in spinocerebellar ataxia types 1, 3 and 6. *Neuroimage.* 2010;49:158–68.

40. Reetz K, Costa AS, Mirzazade S, et al; Ataxia Study Group Investigators. Genotype specific patterns of atrophy progression are more sensitive than clinical

- decline in SCA1, SCA3 and SCA6. *Brain*. 2013; 136:905–17.
41. Guerrini L, Lolli F, Ginestroni A, Belli G, Della Nave R, Tessa C, Foresti S, Cosottini M, Piacentini S, Salvi F, Plasmati R, De Grandis D, Siciliano G, Filla A, Mascalchi M. Brainstem neurodegeneration correlates with clinical dysfunction in SCA1 but not in SCA2. A quantitative volumetric, diffusion and proton spectroscopy MR study. *Brain*. 2004;127:1785–95.
42. Della Nave R, Ginestroni A, Tessa C, Salvatore E, De Grandis D, Plasmati R, Salvi F, De Michele G, Dotti MT, Piacentini S, Mascalchi M. Brain white matter damage in SCA1 and SCA2. An in vivo study using voxel-based morphometry, histogram analysis of mean diffusivity and tract-based spatial statistics. *Neuroimage*. 2008;43:10–9.
43. Jacobi H, Reetz K, du Montcel ST, et al. Biological and clinical characteristics of individuals at risk for spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6 in the longitudinal RISCA study: analysis of baseline data. *Lancet Neurol* 2013;12:650–58.
44. Martins CR Jr, Martinez ARM, de Rezende TJR, Branco LMT, Pedroso JL, Barsottini OGP, Lopes-Cendes I, França MC Jr. Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1. *Cerebellum*. 2017;16:792-796.
45. Oz G, Hutter D, Tkác I, Clark HB, Gross MD, Jiang H, Eberly LE, Bushara KO, Gomez CM. Neurochemical alterations in spinocerebellar ataxia type 1 and their correlations with clinical status. *Mov Disord*. 2010;25:1253–61.
46. Klement, I. A. et al. Ataxin-1 nuclear localization and aggregation: role in polyglutamine-induced disease in SCA1 transgenic mice. *Cell*. 1998;95:41–53.
47. Irwin, S. et al. RNA association and nucleocytoplasmic shuttling by ataxin-1. *J. Cell Sci*. 2005;118:233–242.
48. Yue, S. et al. The spinocerebellar ataxia type 1 protein, ataxin-1, has RNA-binding activity that is inversely affected by the length of its polyglutamine tract. *Hum. Mol. Genet*. 2001;10:25–30.
49. Fryer, J. D. et al. Exercise and genetic rescue of SCA1 via the transcriptional repressor Capicua. *Science*. 2011;334:690–693.
50. Lim, J. et al. Opposing effects of polyglutamine expansion on native protein complexes contribute to SCA1. *Nature*. 2008;452:713–719.
51. Lee, J. H. et al. Reinstating aberrant mTORC1 activity in Huntington's disease mice improves disease phenotypes. *Neuron*. 2015;85:303–315.
52. Sánchez, I., Balagué, E. & Matilla-Dueñas, A. Ataxin-1 regulates the cerebellar

bioenergetics proteome through the GSK3 β –mTOR pathway which is altered in spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). *Hum. Mol. Genet.* 2016;25:4021–4040.

53. Bettencourt, C. et al. DNA repair pathways underlie a common genetic mechanism modulating onset in polyglutamine diseases. *Ann. Neurol.* 2016;79:983–990.

54. Taniguchi, J. B. et al. Rpa1 ameliorates symptoms of mutant ataxin-1 knock-in mice and enhances DNA damage repair. *Hum. Mol. Genet.* 2016;25:4432–4447.

55. Hourez, R. et al. Aminopyridines correct early dysfunction and delay neurodegeneration in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 1. *J. Neurosci.* 2011;31:11795–1180.

56. Miyazaki, Y. et al. An miRNA-mediated therapy for SCA6 blocks IRES-driven translation of the CACNA1A second cistron. *Sci. Transl Med.* 2016;8:347ra94.

57. Watase K, Gatchel JR, Sun Y, Emamian E, Atkinson R, Richman R, Mizusawa H, Orr HT, Shaw C, Zoghbi HY. Lithium therapy improves neurological function and hippocampal dendritic arborization in a spinocerebellar ataxia type 1 mouse model. *PLoS Med.* 2007; 4:e182.

58. Romano S, Coarelli G, Marcotulli C, Leonardi L, Piccolo F, Spadaro M, Frontali M, Ferraldeschi M, Vulpiani MC, Ponzelli F, Salvetti M, Orzi F, Petrucci A, Vanacore N, Casali C, Ristori G. Riluzole in patients with hereditary cerebellar ataxia: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Neurol.* 2015;14:985–91.

59. Matsuura, S., Shuvaev, A.N., Iizuka, A., Nakamura, K., and Hirai, H. Mesenchymal stem cells ameliorate cerebellar pathology in a mouse model of spinocerebellar ataxia type 1. *Cerebellum.* 2014; 13:323–330.

60. Keiser, M.S., Boudreau, R.L., and Davidson, B.L. Broad therapeutic benefit after RNAi expression vector delivery to deep cerebellar nuclei: implications for spinocerebellar ataxia type 1 therapy. *Mol. Ther.* 2014; 22:588–595.

Tables and figures

Table 1. *ATXN1* allele ranges.

Allele types	(CAG) repeat length	Penetrance
Normal	6–38; 39–44 CAT interrupted	None
Intermediate	44 CAT interrupted*	Partial
Expanded	39–44 CAGs uninterrupted; 45–91	Full

* A woman with 44 CAG repeats with CAT repeat interruptions had an affected father but was herself asymptomatic at age 66 years [9].

Table 2. Relative frequency of SCA1 in different populations.

Author / Year	Country	Cohort size (n)	Relative frequency
Filla <i>et al</i> 2000	Italy	116 families	24%
Illarionkin <i>et al</i> 1996	Russia	15 families	33%
Krysa <i>et al</i> 2016	Poland	203 families	68%
de Castilhos <i>et al</i> 2014	Brazil	359 families	4.2%

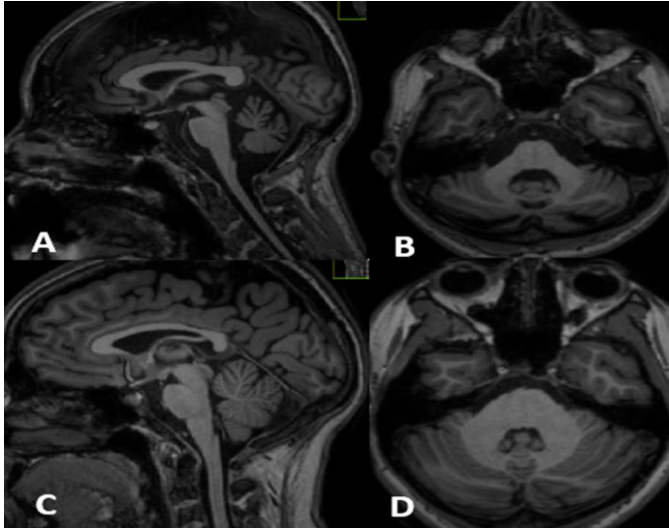


Figure 1. A. Sagittal T1-weighted brain MRI demonstrates cervical spinal cord atrophy in SCA1; B. Axial T1-weighted brain MRI discloses moderate olivopontocerebellar atrophy in SCA1. C and D demonstrates spinal cord and brainstem in a healthy control.

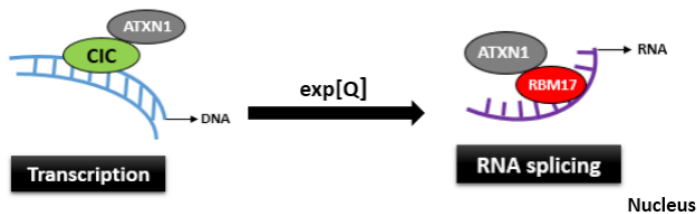


Figure 2. This picture illustrates a model of SCA1 pathogenesis that incorporates the crucial nuclear interactions and functions of ATXN1. On entering the nuclei of Purkinje cells, ATXN1 readily binds to CIC (transcriptional regulator capicua). Although ATXN1 alone does not bind to DNA, CIC can bind DNA. ATXN1 can be found in two high-molecular-weight soluble complexes: one that includes CIC and another, distinct complex that includes RBM17 (RNA splicing factor). Importantly, expansion of the polyQ tract in ATXN1 favours ATXN1–RBM17 complex formation, implicating this complex in SCA1 pathogenesis. PolyQ expansion is depicted by ‘exp[Q]’.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Caracterizar o fenótipo e as alterações estruturais do sistema nervoso central na SCA1.

Objetivos específicos

1. Caracterizar as manifestações motoras e não motoras, incluindo alterações cognitivas, fadiga, depressão e sonolência excessiva diurna em pacientes com SCA1;
2. Caracterizar as alterações estruturais da medula cervical e do encéfalo através de neuroimagem e correlacionar com parâmetros clínicos na SCA1;
3. Identificar prováveis determinantes das alterações estruturais na SCA1.

METODOLOGIA

Seleção dos Voluntários/Imagens

Para este estudo, foram selecionados 33 pacientes com diagnóstico molecular de ataxia espinocerebelar do tipo 1, acompanhados no ambulatório de Neurogenética e Neurologia do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e do Hospital São Paulo da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Foram excluídos do estudo pacientes com outras doenças neurológicas não relacionadas e portadores assintomáticos da mutação. Para controles, foram selecionados voluntários saudáveis pareados para sexo e idade, sem enfermidades neurológicas ou antecedentes de ataxia

Este projeto foi realizado após a análise e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (parecer nº 49976215.4.0000.5404 – ANEXO 1). Cada participante assinou Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes da realização dos procedimentos experimentais (ANEXO 2).

Caracterização Clínica

Imediatamente antes da aquisição das imagens, os pacientes foram submetidos a exame neurológico detalhado e à aplicação de escalas para mensuração de sintomas motores e não motores, a saber: *Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA) para ataxia; *Modified Fatigue Impact Scale* (MFIS), com subdivisão física (MFIS-P), cognitiva (MFIS-C) e psicossocial (MFIS-S) para fadiga, *Epworth Sleepiness Scale* (ESS) para sonolência excessiva diurna, *Beck Depression Inventory* (BDI) para sintomas depressivos e *Addenbrooke-s Cognitive Examination – Revised* (ACE-R) para cognição. Todos os testes foram aplicados por apenas um examinador e todas as escalas encontram-se validadas para a população brasileira (ANEXO 3).

- ***Scale for the Assessment and Rating of Ataxia* (SARA) (ANEXO 3.1)**

A SARA (17) é uma escala clínica que visa medir o grau de perda de coordenação muscular e de equilíbrio em pacientes com ataxia cerebelar. A escala abrange a avaliação de oito domínios, quais sejam: marcha, postura, sentar, distúrbios de fala, teste de perseguição do dedo, teste índice-nariz, teste de diadococinesia (movimentos alternados) e manobra calcunar-joelho. A pontuação varia de 0 a 40 e é diretamente relacionada à gravidade da doença: quanto mais grave o quadro do paciente, maior a pontuação.

- ***Addenbrooke's Cognitive Examination – Revised (ACE-R)***
(ANEXO 3.2)

A ACE-R (18,19) é uma ferramenta de testes neuropsicológicos validados para a população brasileira que avalia funções corticais e subcorticais. A pontuação varia de 0 a 100 (escores menores indicam maior acometimento cognitivo) e envolve 05 domínios: atenção/orientação, memória, fluência, linguagem e habilidades visuo-espaciais. Para a população brasileira, considera-se alterado um escore total <78 para escolaridade maior que 11 anos ou <68 para nível educacional menor que 11 anos (19). Através do ACE-R pode-se calcular o índice VLOM, a qual é composto pela razão das pontuações dos domínios fluência + linguagem / orientação + memória. Uma razão < 2.2 corresponde a possível disfunção frontotemporal com 95% de especificidade (18). Razões > 3.2, por outro lado, remetem a disfunções com características da doença de Alzheimer.

- ***Modified Fatigue Impact Scale – MFIS (ANEXO 3.3)***

Trata-se de inventário composto por 21 domínios a serem classificados de 0 a 4 de acordo com a frequência de ocorrência nas últimas 04 semanas. Considera-se anormal quando ≥ 38 . Apresenta subescores referentes a aspectos físicos (MFIS-P), cognitivos (MFIS-C) e psicossociais (MFIS-S) (20).

- ***Epworth Sleepiness Scale – ESS (ANEXO 3.4)***

A escala de sonolência de Epworth, desenvolvida por Murray Johns, é uma ferramenta muito utilizada para aferir o grau de sonolência diurna. Classificam-se 08 situações diárias com 0 a 3 pontos. Um resultado ≥ 10 pontos reflete excesso de sonolência diurna (21).

- **Beck Depression Inventory – BDI (ANEXO 3.5)**

É um inventário de autoavaliação que conta com 21 afirmações a serem classificadas com 0 a 3 pontos a depender do estado do indivíduo na última semana. Considera-se estado depressivo quando a pontuação total encontra-se ≥ 11 e depressão grave quando ≥ 18 pontos (22).

Estudo de Imagem

Aquisição

As aquisições das imagens de ressonância magnética foram realizadas em um equipamento de 3T Achieva (*Philips, Holanda*). Foi utilizada uma bobina padrão de cabeça com 8 canais com capacidade para aplicar a técnica SENSE. Foram adquiridas imagens ponderadas em T1 (avaliação de substância cinzenta e medula espinhal) e em T2 - tensor de difusão (avaliação de substância branca). Os seguintes parâmetros de aquisição foram utilizados:

- Sequência T1 volumétrica (3D) do crânio: espessura entre os cortes de 1 mm, TE=3.2ms, TR=7.1ms, ângulo de excitação (flip angle) 8°, voxels isotrópicos de 1 x 1 x 1 mm e FOV = 240x240;
- Sequência spin eco DTI: voxels adquiridos com tamanho 2x2x2 mm³ e interpolados para 1x1x2 mm³, matriz de reconstrução 256x256, 70 fatias, TE/TR 61/8500 ms, ângulo de flip 90°, 32 direções de gradiente e sem médias, b-factor máximo = 1000 s/mm²; 6 minutos de tempo total de scan.

Métodos de Segmentação

As imagens adquiridas (T1 e DTI) foram processadas usando os seguintes *softwares*: FreeSurfer e T1 MultiAtlas para avaliar a substância cinzenta do cérebro e do tronco encefálico; DTI MultiAtlas para avaliar a substância branca do encéfalo; CERES para avaliar a substância cinzenta do córtex cerebelar e SpineSeg para avaliação da medula cervical.

- FreeSurfer

As medidas de espessura do córtex cerebral foram obtidas através do software FreeSurfer (versão 6.0) conforme protocolos propostos por Fischl and Dale, 2000 (23). Resumidamente, as imagens são corrigidas para inomogeneidades do campo magnético, alinhadas ao atlas de Talairach e Tournoux (24) e é feita a remoção de tecido não cerebral (*skull-strip*). Em seguida, há a segmentação dos voxels em GM, WM e CSF, os quais são identificados baseados na sua localização, na sua intensidade de sinal e na intensidade dos voxels vizinhos. Uma rede de faces de triângulos é construída em torno da superfície de WM, onde cada voxel é caracterizado por 2 triângulos.

A rede, por sua vez, é suavizada usando um algoritmo que leva em consideração a intensidade local na imagem original para uma resolução subvoxel, usando interpolação trilinear. A fim de garantir que a superfície possui as mesmas propriedades topológicas de uma esfera, os defeitos topológicos (buracos na superfície) são corrigidos (25). Neste sentido, uma representação mais realística da interface entre GM e WM é necessária. Portanto, uma segunda interação de suavização é aplicada produzindo, assim, uma superfície chamada *White Surface*. Neste contexto, a superfície cortical externa, a qual compreende a *pia mater*, é produzida empurrando (*nudging outwards*) a *White Surface* rumo à *pia mater* em um ponto onde o contraste do tecido é máximo (23). Esta superfície recebe o nome de *Pial Surface*.

Essa superfície é, então, segmentada em pequenas regiões neuroanatômicas, segundo Desikan *et al.*, 2006 (26), usando um processo automatizado proposto por Fischl *et al.*, 2004 (27). Para isto, a *pial surface* é mapeada homeomorficamente (*homeomorphically mapping*) em um sistema de coordenadas esféricas (28), ou seja, a *pial surface* é inflada na forma de uma esfera, e os padrões de dobramento são correspondidos a um atlas de probabilidades. Com isso, por meio de um processo de segmentação Bayesiano, é atribuída para cada vértice uma marcação neuroanatômica que, por sua vez, possuem seus rótulos confrontados com relação à atribuição de seus vizinhos, utilizando, para isto, um algoritmo de Campos Aleatórios de Markov (27,29). A espessura cortical (em mm) é calculada, então, como a menor distância entre a pial e white surface para cada vértice através do manto cortical. Para todas as análises, os mapas foram

suavizados usando um filtro de kernel Gaussiano através da superfície com um FWHM de 10 mm e com uma média entre os sujeitos.

- T1 MultiAtlas

As imagens foram processadas usando o “MRICloud” (MRICloud.org), uma plataforma *web* pública para segmentar e quantificar imagens multi-contrastes. O processamento da imagem envolve a correção da orientação (sagital para axial), para corresponder à orientação do atlas de segmentação, correção para homogeneidade usando o algoritmo N4 (30) e dois níveis de segmentação: primeiro, *skull-stripping* (31) e depois a segmentação de todo o cérebro. Nesta ferramenta são usados alinhamentos lineares e não-lineares, além do algoritmo LDDMM (*Large Deformation Diffeomorphic Metric Mapping*) (32) para co-registrar a imagem do voluntário com o atlas de segmentação. Para identificar as regiões cerebrais é utilizado o algoritmo MALF (*Multi-Atlas Labeling Fusion*) (31), seguido por uma última etapa de ajuste da segmentação, a qual é realizada pelo algoritmo PICSL (33). Vinte e seis atlas (atlas JHU versão V9B) foram usados para gerar 283 estruturas em uma relação hierárquica de 5 níveis ontológicos (34,35). Todas as análises foram realizadas no espaço nativo e o processamento foi feito no *cluster* Gordon do XSEDE (36). Por fim, determina-se o volume (em mm³) das estruturas cinzentas profundas cerebrais.

- CERES

O CERES é uma ferramenta dedicada à segmentação automatizada do cerebelo em regiões anatômicas (37). Em linhas gerais, o processamento é feito com redução do ruído da imagem, correção para inhomogeneidades de campo no espaço nativo, alinhamento das imagens com o MNI via registro *affine*, correção para inhomogeneidades de campo no espaço do MNI, redução da dimensionalidade da imagem para a área do cerebelo, registro não-linear com um atlas de cerebelo para melhorar o alinhamento da imagem com os atlas de segmentação, normalização da intensidade de cinza, alinhamento não-linear com os atlas de segmentação e, por fim, a identificação das estruturas anatômicas (37). A identificação das estruturas é feita por um algoritmo que combina a segmentação de referência dos atlas para formar a segmentação correta (37,38). O *software* fornece o volume e a espessura de cada estrutura no espaço nativo. Para nossas análises, utilizamos a espessura (em mm) como parâmetro.

- **DTI MultiAtlas**

As imagens brutas de DTI são primeiramente co-registradas e corrigidas para *eddy currents* (39) e movimento usando uma transformação *affine* de 12 graus de liberdade. Os parâmetros de difusão são calculados através de um ajuste multivariado e *skull-stripping* usando a imagem de não difusão ($b = 0$) por limiar de intensidade. Este processamento é realizado usando o DTIStudio (40). Em seguida, é realizado um registro não-linear usando o algoritmo LDDMM (41) e para o parcelamento é empregado o algoritmo DLFA (41). Oito atlas (atlas adulto JHU versão V1) foram usados para gerar 168 estruturas. Todas as análises foram realizadas no espaço nativo. Os cálculos foram processados no *cluster* Gordon do XSEDE (36). O dano microestrutural da substância branca é avaliado usando mapas de Anisotropia Fracional (FA), Difusividade Axial (AD), Difusividade Média (MD) e Difusividade Radial (RD). Tais valores são utilizados para aferir de forma indireta o dano aos tractos mielinizados do SNC.

- **SpineSeg**

O *software* SpineSeg foi desenvolvido para estimar, semi-automaticamente, a área da medula espinhal cervical (em mm^2) e a sua excentricidade, a qual é definida pela raiz quadrada de $1-(d/D)^2$, onde d e D são, respectivamente, o menor e o maior diâmetros da medula (42). Primeiramente, o programa re-amostra as imagens de ressonância a fim de corrigir variações na angulação da imagem e posição do pescoço. Na sequência, áreas transversais da medula espinhal são segmentadas, usando um algoritmo de *tree pruning* automático (43) e é ajustada uma elipse na área desejada por meio de um protocolo semiautomático. Estas medidas foram realizadas na altura dos discos intervertebrais C2 e C3 usando uma aquisição de imagem de ressonância padrão para o cérebro (44). Nós escolhemos este nível porque ele inclui a intumescência cervical, tornando o cordão medular mais largo, o que permite facilmente detectar atrofia. As medidas representam uma média de três níveis consecutivos de medição para a seção média de um disco intervertebral entre C2 e C3 de cada sujeito (44). É importante salientar que valores de excentricidade próximos de 1 condizem com maior achatamento antero-posterior medular. Todas as medidas foram realizadas por um único investigador (CRMJr).

Análises Transversais e de Curso da Doença

As análises das imagens foram realizadas transversalmente (total de pacientes), bem como separadamente de acordo com a duração da doença, a fim de identificar alterações estruturais no curso da enfermidade. Para tanto, os pacientes foram distribuídos em três grupos, a saber: grupo 1 (tempo de doença < 5 anos), grupo 2 (tempo de doença entre 5 e 9 anos) e grupo 3 (tempo de doença \geq 10 anos).

Organograma da Pesquisa

Para fins práticos apresenta-se organograma de delineamento do estudo (adaptado do Artigo 4).

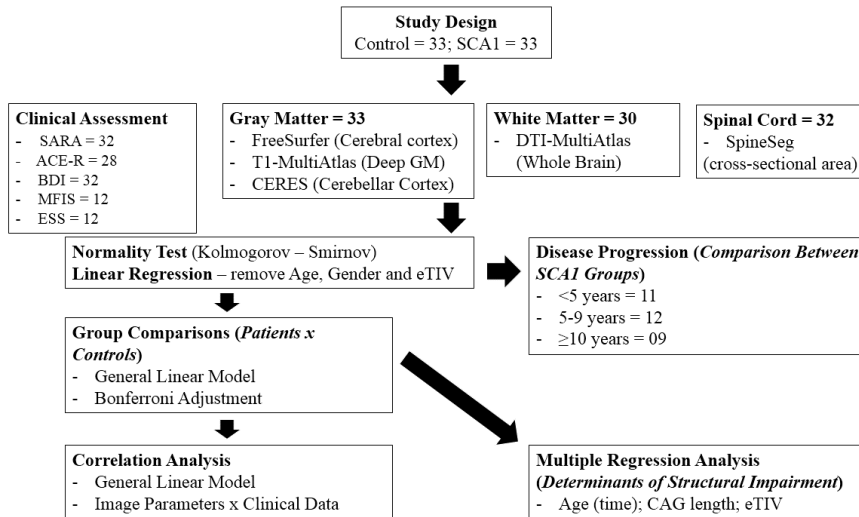


Figura 1. Desenho do estudo.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram individualizadas para cada estudo, pois cada um deles exigiu um nível de complexidade diferente. Dessa forma, a descrição completa da análise estatística deve ser feita na leitura dos artigos que se encontram na sessão “Resultados”.

RESULTADOS

Artigo 02: Fatigue is frequent and severe in spinocerebellar ataxia type 1.

(Autorização para o uso no Anexo 04).



Letter to the Editor

Fatigue is frequent and severe in spinocerebellar ataxia type 1



Keywords:
Spinocerebellar ataxia type 1
Fatigue
Depression
Sleep disorders

Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is an autosomal dominant disorder caused by a CAG repeat expansion within the coding region of the *ATXN1* gene localized at 6p22–p23. The disease is characterized by progressive cerebellar ataxia, dysarthria and dysphagia. Non-motor symptoms have been described in several neurodegenerative diseases but a systematic evaluation of this clinical feature is lacking in SCA1. In particular, there are no data about fatigue in the disease. Therefore, the objective of this study is to evaluate its frequency and severity in SCA1.

We have thus evaluated 12 consecutive adult patients regularly followed at UNICAMP hospital and 15 healthy age- and sex-matched controls. All patients had molecular confirmation of SCA1. This protocol was approved by our institution Research Ethics Committee and a written informed consent was obtained from all participants.

Each subject answered Brazilian Portuguese-validated questionnaires: Beck Depression Inventory (BDI), Epworth Sleepiness Scale (ESS) and Modified Fatigue Impact Scale (MFIS), which is divided into physical (MFIS-P), cognitive (MFIS-C) and psychosocial components (MFIS-S). ESS, MFIS and BDI scores were considered abnormal if ≥ 10 , 38 and 11, respectively. Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) was used to determine ataxia severity [1–4]. We used Mann–Whitney and Fisher exact tests to compare mean scores and proportions between groups and the Pearson

correlation coefficient to investigate possible correlations between the scales, time of disease, CAG repeat expansion and motor dysfunction. P values <0.05 were considered significant.

Mean age at onset and disease duration were 36.4 ± 10.5 and 12.1 ± 8.6 years, respectively. All the clinical, genetic and demographic data of patients and controls are shown in Table 1. Eight patients were taking antidepressant drugs (Sertraline 100 mg/d, Fluoxetine 20 mg/d, Amitriptyline 100 mg/d, Nortriptyline 75 mg/d, Buspirone 10 mg/d, Citalopram 20 mg/d) and two were taking Clonazepam 2 mg daily. Three subjects were using anticonvulsant drugs (Carbamazepine 200 mg/d and Pregabalin 300 mg/d) for neuropathic pain and/or cramps.

Mean MFIS score was higher in patients with SCA1 ($p < 0.001$). All MFIS subscores were also higher in the SCA1 group (MFIS-F – $p < 0.001$, MFIS-C – $p = 0.001$, and MFIS-P – $p < 0.001$). All patients but only 4 of the controls met criteria for clinically relevant fatigue (100% vs 26.6%, $p < 0.001$). This trend was also observed with the BDI, which presented significantly higher levels in patients compared to controls ($p < 0.001$). We then attempted to identify factors associated with fatigue in SCA1. MFIS was associated with both disease duration ($r = 0.713$, $p = 0.009$) and BDI scores ($r = 0.762$, $p = 0.004$), but not with (CAG) repeat length ($p = 0.714$). Regarding disease severity, patients with higher SARA scores had more severe fatigue ($r = 0.547$), but results fell short of reaching statistical significance possibly because of our small sample size ($p = 0.06$). Patients with SCA1 had higher ESS scores compared to controls ($p = 0.016$). Although mean ESS scores were smaller than 10 in the whole cohort, there were 3 patients with long disease duration that presented major excessive daytime sleepiness (ESS of 16, 16 and 18). This finding suggests that sleep disorders may be a major problem for some patients with SCA1, as reported by Dang & Cunnington [5]. Despite that, we did not find an association between fatigue and ESS scores ($p = 0.552$).

The results showed that fatigue is a major manifestation in SCA1. It is related to disease duration, depression and probably disease severity. Fatigue in SCA1 was more frequent and severe than that reported in related neurodegenerative disorders, such as Friedreich's ataxia [6]. Although both share cerebellar damage and severe motor handicap, there are major differences between them related to supratentorial damage, for example. Further studies are needed to investigate the neuroanatomical substrate for fatigue in SCA1. On clinical grounds, practicing physicians should be aware of fatigue, so that they actively ask patients and treat them properly.

References

- [1] A.N. Bertolazi, S.C. Iagundes, L.S. Hoff, V.D. Pedro, S.S. Merma Barreto, M.W. Johns, Portuguese-language version of Epworth sleepiness scale: validation for use in Brazil. *J Bras Pneumol* 35 (2009) 877–883.

Table 1
Clinical data of patients with spinocerebellar ataxia type 1 and controls.

	SCA1 (n = 12)	Controls (n = 15)	p Values
Age (mean \pm SD, years)	48.5 \pm 8.9	48.1 \pm 10.2	0.904
Gender (M:F)	9:3	9:6	0.683
Age at onset	36.4 \pm 10.5	–	–
Time of disease	12.1 \pm 8.6	–	–
CAG repeat length (mean \pm SD)	44.3 \pm 3.3	–	–
ESS score (mean \pm SD)	9.7 \pm 5.7	4.6 \pm 3.9	0.016
MFIS score (mean \pm SD)	41.8 \pm 19.4	6.8 \pm 8.9	<0.001
MFIS-P score (mean \pm SD)	4.9 \pm 2.7	0.4 \pm 0.9	<0.001
MFIS-C score (mean \pm SD)	16.2 \pm 9.6	3.4 \pm 4.3	<0.001
MFIS-F score (mean \pm SD)	20.9 \pm 9.3	2.9 \pm 4.1	<0.001
BDI score (mean \pm SD)	19.3 \pm 12	2.0 \pm 2.8	<0.001

SCA1 – patients with Spinocerebellar Ataxia Type 1; ESS – Epworth Sleepiness Scale.
MFIS – Modified Fatigue Impact Scale; BDI – Beck Depression Inventory.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.parkreldis.2015.04.015>
1353-8020/© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

- [2] K. Pavan, K. Schmidt, B. Marangoni, M.F. Mendes, C.P. Tilbery, S. Lianza, Multiple sclerosis: cross-cultural adaptation and validation of modified fatigue impact scale, *Arq Neuropsiquiatr* 65 (2007) 669–673.
- [3] C. Gorenstein, L. Andrade, Validation of a portuguese version of the beck depression inventory and state-trait anxiety inventory in Brazilian subjects, *Bras J Med Biol Res* 28 (1996) 453–457.
- [4] P. Braga-Neto, C. Godinho-Junior, L.D. Almeida, J.L. Pedrosa, O.G.P. Barsottini, Translation and validation into Brazilian version of the scale of the assessment and rating of ataxia (SARA), *Arq Neuropsiquiatr* 68 (2010) 228–230.
- [5] D. Dang, D. Cunningham, Excessive daytime somnolence in spinocerebellar ataxia type 1, *J Neurol Sci* 290 (2010) 146–147.
- [6] C.B. Da Silva, C.F. Chevis, A. D'Abreu, I. Lopes-Gendes, M.C. França Jr., Fatigue is frequent and multifactorial in Friedreich's ataxia, *Park Relat Disord* 19 (2013) 766–767.

Carlos R. Martins Jr., Alberto R.M. Martinez, Anelyssa D'Abreu
 Department of Neurology, University of Campinas (UNICAMP), Brazil

Isclia Lopes-Gendes
 Department of Medical Genetics, University of Campinas (UNICAMP),
 Brazil

Marcondes C. França Jr.*
 Department of Neurology, University of Campinas (UNICAMP), Brazil

* Corresponding author. Department of Neurology, University of
 Campinas – UNICAMP, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Cidade
 Universitaria “Zeferino Vaz”, Campinas, SP – 13083-970, Brazil.
 Tel.: +55 19 35219217; fax: +55 19 3521 7933.
 E-mail address: mcfrancajr@uol.com.br (M.C. França).

23 December 2014

Artigo 03: Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1. (Autorização para o uso no Anexo 05).



Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1

Carlos Roberto Martins Jr¹ · Alberto Rolim Muro Martínez¹ ·
Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende¹ · Lucas Melo Teixeira Branco¹ ·
José Luiz Pedrosa² · Orlando G. P. Barsottini² · Iscia Lopes-Cendes³ ·
Marcondes C. França Jr^{1,4}

Published online: 6 April 2017
© Springer Science+Business Media New York 2017

Abstract Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is an autosomal dominant disorder caused by a CAG repeat expansion, characterized by progressive cerebellar ataxia and pyramidal signs. Non-motor and extracerebellar symptoms may occur. MRI-based studies in SCA1 focused in the cerebellum and connections, but there are no data about cord damage in the disease and its clinical relevance. To evaluate *in vivo* spinal cord damage in SCA1, a group of 31 patients with SCA1 and 31 age- and gender-matched healthy controls underwent MRI on a 3T scanner. We used T1-weighted 3D images to estimate the cervical spinal cord area (CA) and eccentricity (CE) at three C2/C3 levels based on a semi-automatic image segmentation protocol. The scale for assessment and rating of ataxia (SARA) was used to quantify disease severity. The groups were significantly different regarding CA (47.26 ± 7.4 vs. 68.8 ± 5.7 mm², $p < 0.001$) and CE values (0.803 ± 0.044 vs. 0.774 ± 0.043 , $p < 0.05$). Furthermore, in the patient group, CA presented significant correlation with SARA scores ($R = -0.633$, $p < 0.001$) and CAGn expansion ($R = -0.658$, $p < 0.001$). CE was not associated with SARA scores ($p = 0.431$). In the multiple variable regression, CA was strongly associated with disease duration (coefficient

-0.360 , $p < 0.05$) and CAGn expansion (coefficient -1.124 , $p < 0.001$). SCA1 is characterized by cervical cord atrophy and anteroposterior flattening. Morphometric analyses of the spinal cord MRI might be a useful biomarker in the disease.

Keywords Spinal cord · MRI · Ataxia · Spinocerebellar ataxia type 1 · Polyglutamine disorders · Biomarker

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is an autosomal dominant disorder characterized by progressive cerebellar ataxia, dysarthria, dysphagia, oculomotor disturbance, sensory deficits, pyramidal and extrapyramidal signs, as well as non-motor symptoms [1, 2]. The disease is caused by an expansion of a highly polymorphic CAG repeat sequence within the coding region of the *ATXN1* gene localized at chromosome *6p22-p23*. The mutation leads to the expression of an abnormal chain of polyglutamines in the encoded protein ataxin-1. This ultimately results in the formation of nuclear inclusions and interferes with the normal function of the protein leading to neuronal toxicity [3]. Onset of SCA1 is usually in the fourth decade of life and affected families typically show genetic anticipation [4, 5].

In SCA1 patients, neurodegeneration involves severe neuronal loss in the cerebellum, dentate nuclei, brainstem nuclei, inferior olives, and spinocerebellar tracts [6]. Damage to these regions accounts for the main clinical features in the disease, such as ataxia and oculomotor disturbance. In pathological studies, the spinal cord was also shown to be grossly atrophic with evidence of degeneration of the anterior horns and dorsal columns [7], but little is known about the correlation of such atrophy with phenotypic and genotypic features, and there are only sporadic reports of spinal cord atrophy in SCA1 [8]. Prominent pyramidal signs and spinal cord atrophy in SCA1

✉ Marcondes C. França, Jr
mcfra@uol.com.br

¹ Department of Neurology and Neuroimaging Laboratory, School of Medical Sciences, University of Campinas—UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

² Department of Neurology, Ataxia Unit, Federal University of São Paulo—UNIFESP, São Paulo, Brazil

³ Department of Medical Genetics, School of Medical Sciences, University of Campinas—UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brazil

⁴ Department of Neurology, University of Campinas—UNICAMP, Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, Campinas, São Paulo 13083-887, Brazil

Table 1 Demographic and MRI data of patients and controls

	SCA1 (n = 31)	Controls (n = 31)	p
Age (mean ± SD, years)	44.4 ± 8.8	47.4 ± 8.5	0.230
Gender (M/F)	20:11	20:11	1.000
Duration of disease (mean ± SD, years)	7.7 ± 6.5	–	–
Cord area (mean ± SD, mm ²)	47.2 ± 7.4	68.8 ± 5.7	<0.001
Cord eccentricity (mean ± SD)	0.803 ± 0.044	0.774 ± 0.043	<0.05
CAG (mean ± SD)	44.8 ± 4.2	–	–
SARA (mean ± SD)	15.0 ± 6.6	–	–

may be explained by long tracts involvement. SCA1 patients may present with spastic paraplegia phenotype, mimicking hereditary spastic paraplegia (HSP) [9]. Interestingly, the main imaging findings in HSP are characterized by spinal cord atrophy. In this scenario, evaluating and quantifying spinal cord damage in SCA1 patients is mandatory. High-field MRI scanners and novel post processing techniques now enable reliable quantification of spinal cord morphometry [10]. Such analyses have proven useful to investigate similar neurodegenerative diseases such as Friedreich's ataxia, amyotrophic lateral sclerosis, and SCA3, but were not yet explored in SCA1 [11–13]. The main objective of this study is to evaluate the morphometry (cross-sectional area and eccentricity) of the spinal cord in SCA1 patients through spine MRI. Also, we investigate the potential usefulness of quantitative spinal cord MRI as a biomarker for SCA1.

Methods

Subject's Selection

We evaluated 31 consecutive adult patients regularly followed at UNICAMP and UNIFESP hospitals and 31 healthy age- and sex-matched controls. All patients had molecular confirmation of SCA1. This protocol was approved by our

institution Research Ethics Committee and a written informed consent was obtained from all participants. None of these controls had family history of ataxia and/or hereditary neuropathies.

Before further analyses, we checked all images for significant motion artifacts or incidental findings (disk disease), but none of the subjects presented them.

Clinical Evaluation

Patients underwent detailed neurological examination and the SARA scale was used to quantify disease severity [14]. Age of onset, disease duration, and length of expansion (CAG) were determined for each subject and used for further analyses.

MRI Analysis

Acquisition

Patients and controls underwent MRI examination on a 3T Intera Achieva-PHILIPS scanner using a standard head coil on the same day of clinical evaluation. The images were acquired using T1-weighted 3D images covering the whole brain and the cervical spinal cord with the following acquisition parameters: TE = 3.2 ms, TR = 7.1 ms, flip angle = 8°, voxel size = 1.0 × 1.0 × 1.0 mm, FOV = 240 × 240. Sagittal

Fig. 1 Box and whiskers plot showing spinal cord areas (a) and eccentricity (b) in patients with SCA1 (group 1) and controls (group 2)

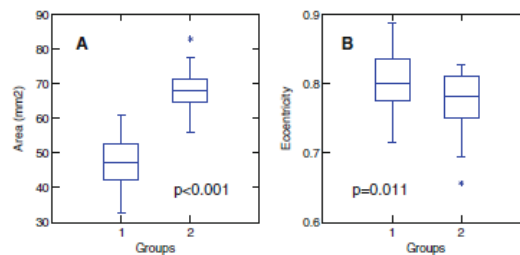
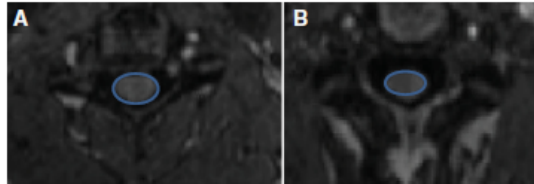


Fig. 2 *SpineSeg* layout showing the segmentation of the cervical spinal cord in a healthy control (a) and a patient with SCA1 (b)



T1- and T2-weighted sequences of the cervical spinal cord were also included for anatomic evaluation and to rule out any associated abnormalities.

Segmentation and Measurements

Spinal cord segmentation and measurements were performed semi-automatically using the SpineSeg software tool, developed at UNICAMP neuroimaging laboratory and previously validated [15]. SpineSeg resamples the MR images to correct for variations in imaging angle and neck position, segments cross-sections of the spinal cord semi-automatically, and fits an ellipse to the segmentation. The only interactive inputs in this software are a few nodes that define an approximation of the spine and neck curvature and a single point inside the spinal cord. The boundary of the spinal cord is segmented by automatic tree pruning, which consistently segments the object with minimal interaction, and an ellipse is fitted to the segmented object boundary [15].

The measurements of the cervical spinal cord were determined from sections obtained perpendicular to the lower limits (base) of the 2nd and 3rd cervical vertebrae. We used

the mean values of cross-sectional area (CA) and eccentricity (CE) of the cord obtained from the analysis of three sequential slices at this spinal level. Eccentricity of an ellipse is mathematically defined as the square root of $1 - (d/D)^2$, where D is the largest and d the smallest diameter of the ellipse. It is a measure of flattening of the ellipse (values closer to 1 indicate flatter ellipses). The investigator CRMJr, who is experienced with the method and blind to the clinical status of the subjects, performed all measurements.

Statistical Analysis

Clinical and genetic data of patients and controls are shown with descriptive statistics. All variables had a normal distribution according to the Kolmogorov-Smirnov test. Then, Student's t test was employed to compare spinal CA and CE between the two groups. We used Pearson coefficients to investigate the association between cord measurements and ataxia severity in the SCA1 group. To evaluate the effects of disease duration and CAG repeat length on CA and CE, we employed a stepwise linear regression model with multiple variables. Level of significance was set at $\alpha = 0.05$ for all

Fig. 3 Negative correlation between CA values and SARA scores in patients with SCA1

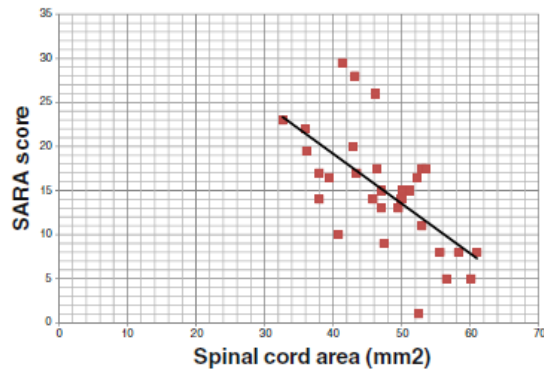


Table 2 Results of regression analyses on cord area in the SCA1 group

Dependent variable	r^2 (model)	Independent variable	Regression coefficient	p value
Cord area	0.532	(CAG)n	-1.124	<0.001
		Disease duration	-0.360	0.021

comparisons. Statistical analyses were performed with SYSTAT software version 9.0.

Results

Demographic data and spinal cord measurements of all subjects in the study are shown in Table 1. Mean length of the expanded CAG repeat and SARA score were 44.8 ± 4.26 and 15.01 ± 6.63 , respectively. The two groups—SCA1 and controls—were significantly different regarding CA (47.26 ± 7.4 vs. 68.8 ± 5.7 mm², $p < 0.001$) and CE (0.803 ± 0.044 vs. 0.774 ± 0.043 , $p < 0.05$), as we can see in Figs. 1 and 2. CA values were significantly correlated with SARA scores ($R = -0.633$, $p < 0.001$), Fig. 3. In the multiple variable regression, CA was strongly associated with disease duration (coefficient -0.360 , $p < 0.05$) and (CAG)n expansion (coefficient -1.124 , $p < 0.001$) (Table 2). In contrast, CE was not related to ataxia severity ($p = 0.431$), CAGn length ($p = 0.058$), and disease duration ($p = 0.501$).

Discussion

Cerebellum and connections have been the usual targets of neuroimaging studies in SCA1 [16, 17], but clinical and neurophysiological data suggest that damage is more widespread [18, 19]. In the present study, we not only confirmed cervical cord atrophy *in vivo* using morphometric analyses of 3T MRI scans but also found a significant correlation between ataxia severity and spinal cord morphometry: more severely impaired patients presented smaller CA, which is similar to other neurodegenerative diseases, such as multiple sclerosis, in which CA can predict long-term disability [20]. It is important to realize that the correlation coefficient found between CA and SARA ($r = -0.633$) was higher than that reported with other candidate neuroimaging markers, such as brainstem and cerebellar volumes [21].

Patients with SCA1 have spinal cord atrophy combined with anteroposterior flattening. Diffuse demyelination and gliosis of the posterior columns and of the spinocerebellar tracts are the pathological counterparts of these imaging findings in SCA1. Interestingly, Matilla-Dueñas et al., reported that loss of fibers at the spinal roots also takes place, but is predominant at the dorsal roots [22]. Overall, this pattern resembles what happens in Machado-Joseph disease and

Friedreich's ataxia, two inherited ataxias that share posterior column damage as the major feature [10, 12]. On the other hand, degenerative diseases with more prominent lateral column involvement (e.g., amyotrophic lateral sclerosis and hereditary spastic paraplegia) have atrophy, but no significant flattening [12, 23]. Neurophysiological reports are also in line with our results, as they have shown consistent abnormalities in somatosensory evoked potentials and sensory nerve conduction studies in SCA1 [18, 19].

We have shown that CA is driven by both disease duration and CAG expansion. Our cross-sectional results suggest that CA is progressive over time, and that patients with larger (CAG) expansions tend to progress at faster rates. These aspects point to the potential usefulness of spinal cord morphometry as a clinical biomarker in SCA1, but further prospective studies are still needed to confirm it.

Conclusion

SCA1 is characterized by cervical spinal cord atrophy and flattening. Prominent pyramidal signs observed in SCA1 patients may reflect long tracts involvement and spinal cord atrophy. Moreover, spinal cord damage correlates with ataxia severity, disease duration, and CAG expansion. This study suggests that morphometric analyses of spinal cord MRI scans can be useful biomarkers in SCA1.

Compliance with Ethical Standards

Conflicts of Interest The authors report no conflict of interests regarding this research.

Funding This work was supported by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)—grant 2013/01766-7.

References

1. Bürk K, Abele M, Fetter M, Dichgans J, Skalej M, Laccone F, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain*. 1996;119(Pt 5):1497–505.
2. Bürk K, Fetter M, Abele M, Laccone F, Bricc A, Dichgans J, et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I: oculomotor abnormalities in families with SCA1, SCA2, and SCA3. *J Neurol*. 1999;246:789–97.

3. Schöls L, Bauer P, Schmidt T, Schulte T, Riess O. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol.* 2004;3:291–304.
4. Banfi S, Servadio A, Chung MY, Kwiatkowski Jr TJ, McCall AE, Duvick LA, et al. Identification and characterization of the gene causing type 1 spinocerebellar ataxia. *Nat Genet.* 1994;7:513–20.
5. Chong SS, McCall AE, Cota J, Subramony SH, O'HT, Hughes MR, et al. Genetic and somatic tissue-specific heterogeneity of the expanded SCA1 CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet.* 1995;10:344–50.
6. Robitaille Y, Lopes-Cendes I, Becher M, Rouleau G, Clark AW, et al. The neuropathology of the CAG repeat diseases: review and update of genetic and molecular features. *Brain Pathol.* 1997;7:901–26.
7. Iwabuchi K, Tsuchiya K, Uchihara T, Yagishita S. Autosomal dominant spinocerebellar degenerations. Clinical, pathological and genetic correlations. *Rev Neurol (Paris).* 1999;155:255–70.
8. Pedroso JL, Barsotini OG. Spinal cord atrophy in spinocerebellar ataxia type 1. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71(12):977.
9. Pedroso JL, de Souza PV, Pinto WB, Braga-Neto P, Albuquerque MV, Sariva-Pereira ML, et al. SCA1 patients may present as hereditary spastic paraplegia and must be included in spastic-ataxias group. *Parkinsonism Relat Disord.* 2015;21(10):1243–6.
10. Lukas C, Hahn HK, Bellenberg B, Helwig K, Globas C, Schmirgk SK, et al. Spinal cord atrophy in spinocerebellar ataxia type 3 and 6: impact on clinical disability. *J Neurol.* 2008;255(8):1244–9.
11. Chevis CF, da Silva CB, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, Cendes F, França Jr MC, et al. Spinal cord atrophy correlates with disability in Friedreich's ataxia. *Cerebellum.* 2013;12:43–7.
12. Branco LM, De Albuquerque M, De Andrade HM, Bergo FP, Nucci A, França Jr MC. Spinal cord atrophy correlates with disease duration and severity in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2014;15:93–7.
13. Fahl CN, Branco LM, Bergo FP, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, França Jr MC. Spinal cord damage in Machado-Joseph disease. *Cerebellum.* 2015;14(2):128–32.
14. Braga-Neto P, Godeiro-Junior C, Dutra LA, Pedroso JL, Barsotini OG. Translation and validation into Brazilian version of the Scale of the Assessment and Rating of Ataxia (SARA). *Arq Neuropsiquiatr.* 2010;68:228–30.
15. Bergo FPG, França MC Jr, Chevis CF, Cendes F. SpineSeg: a segmentation and measurement tool for evaluation of spinal cord atrophy. In: CISTT'2012 (7ª Conferência Ibérica de Sistemas y Tecnología de Información); Madrid, Spain. IEEE. 2012;400–403.
16. Klockgether T, Lüdtke R, Kramer B, Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain.* 1998;121:589–600.
17. Wüllner U, Reimold M, Abele M, Bürk K, Minnerop M, Dohmen BM, et al. Dopamine transporter positron emission tomography in spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. *Arch Neurol.* 2005;62:1280–5.
18. Yokota T, Sasaki H, Iwabuchi K, Shiojiri T, Yoshino A, Otogiri A, et al. Electrophysiological features of central motor conduction in spinocerebellar atrophy type 1, type 2, and Machado-Joseph disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1998;65(4):530–4.
19. Liang L, Chen T, Wu Y. The electrophysiology of spinocerebellar ataxias. *Neurophysiol Clin.* 2016;46(1):27–34.
20. Bonati U, Fisniku LK, Altmann DR, Yiannakas MC, Furby J, Thompson AJ, et al. Cervical cord and brain grey matter atrophy independently associate with long-term MS disability. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2011;82:471–2.
21. Jacobi H, Hauser TK, Giunti P, Globas C, Bauer P, Schmitz-Hübsch T, et al. Spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3 and 6: the clinical spectrum of ataxia and morphometric brainstem and cerebellar findings. *Cerebellum.* 2012;11(1):155–66.
22. Matilla-Dueñas A, Goold R, Giunti P. Clinical, genetic, molecular, and pathophysiological insights into spinocerebellar ataxia type 1. *Cerebellum.* 2008;7(2):106–14.
23. Rezende TJ, de Albuquerque M, Lamas GM, Martinez AR, Campos BM, Casseb RF, et al. Multimodal MRI-based study in patients with SPG4 mutations. *PLoS One.* 2015;10(2):e0117666.

Artigo 04: Structural signature in SCA1: clinical correlates, determinants and natural history. (Artigo submetido em "*Human Brain Mapping*" - Manuscript number: HBM-18-0347).

Structural signature in SCA1: clinical correlates, determinants and natural history

Authors: Carlos Roberto Martins Junior MD¹, Alberto Rolim Muro Martinez MD¹, Ingrid Faber Vasconcelos MD¹, Thiago Junqueira de Rezende PhD¹, Rafael Casseb PhD¹, Jose Luiz Pedroso MD. PhD², Orlando Graziani Povoas Barsottini MD. PhD², Íscia Lopes-Cendes MD. PhD³, Marcondes Cavalcante França Júnior MD. PhD.¹

1. Department of Neurology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil
2. Department of Neurology, Federal University of São Paulo (UNIFESP), São Paulo, Brazil
3. Department of Medical Genetics, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil

Correspondence to: Marcondes C. França Júnior,

Department of Neurology,

University of Campinas;

R. Tessália Vieira de Camargo, 126, 13083-887,

Campinas, Brazil.

E-mail: mcfrancajr@uol.com.br

Word Count: **Body** (3447 words); **Abstract** (233 words)

References: 50

Table Count: 02

Picture Count: 04

Supplemental Data: 26 tables

Running Title: SCA1 Structural Damage.

Keywords: SCA1, Spinocerebellar ataxia type 1; FreeSurfer; Atlas-based analysis; CERES.

Disclosures:

-Casseb reports grants from FAPESP

-Rezende reports grants from FAPESP;

-Dr Faber reports grants from CNPq (Brazilian National Council for Scientific and Technological Development) during the conduct of the study;

-Dr Martinez reports grants from FAPESP during the conduct of this study;

-Dr Lopes-Cendes reports grants from FAPESP and CNPq, during the conduct of the study.

-Dr França Jr reports grants from FAPESP and CNPq.

-Dr Barsottini reports grants from FAPESP and CNPq, during the conduct of the study. -Dr Pedroso reports grants from FAPESP and CNPq, during the conduct of the study.

-Dr. Martins Jr. reports grants from FAPESP during the conduct of this study.

Funding: This work was supported by the São Paulo Research Foundation (FAPESP).

Contribution of the authors:

1. Research project: A. Conception, B. Organization, C. Execution;
2. Statistical Analysis: A. Design, B. Execution, C. Review and Critique;
3. Manuscript: A. Writing of the first draft, B. Review and Critique;

Carlos Roberto Martins Jr: 1A,1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3A

Alberto Rolim Muro Martinez: 1B, 2A, 2B, 3B

Ingrid Faber Vasconcelos: 1A, 2C, 3B

Thiago Junqueira de Rezende: 1A, 2C, 3B

Rafael Casseb: 1A, 2C, 3B

Jose Luiz Pedroso: 1A, 2C, 3B

Orlando Graziani Povoas Barsottini: 1B, 2C, 3B

Íscia Lopes-Cendes: 1B, 2C, 3B

Marcondes C França Jr: 1A, 1B, 1C, 2A, 2B, 2C, 3B

Full Financial Disclosures of all Authors for the Past Year:

Carlos Roberto Martins Jr: none

Alberto Rolim Muro Martinez: none

Ingrid Faber Vasconcelos: none

Thiago Junqueira de Rezende: none

Rafael Casseb: none

Jose Luiz Pedroso: none

Orlando Graziani Povoas Barsottini: none

Íscia Lopes-Cendes: none

Marcondes C França Jr: received research support from PTC therapeutics, Cristália and Pfizer; took part in advisory boards for Genzyme, Pfizer, Baxter and CSL-Behring; Received travel Grant from Pfizer, Baxter and PTC therapeutics; gave lectures as a speaker for Pfizer, PTC therapeutics, CSL-Behring and Baxter.

Abbreviations:

ACE-R = Addenbrooke's cognitive examination revised; AD = axial diffusivity; BDI = Beck Depression Inventory; CNS = central nervous system; CST = corticospinal tract; DTI = diffusion tensor imaging; eTIV = estimated total intracranial volume; FA = fractional anisotropy; GM = gray matter; LH = left hemisphere; MD = mean diffusivity; RD = radial diffusivity; RH = right hemisphere; Roi = region of interest ; SC = spinal cord; SARA = scale for the assessment and rating of ataxia; VBM = Voxel-based morphometry; WM = white matter.

Abstract

Spinocerebellar ataxia type 1 is an autosomal dominant disorder caused by a CAG repeat expansion in *ATXN1*, characterized by progressive cerebellar and extracerebellar symptoms. MRI-based studies in SCA1 focused in the cerebellum and connections, but there are few data about supratentorial/spinal damage and its clinical relevance. We have thus designed this multimodal MRI study to uncover the structural signature of SCA1. To accomplish that, a group of 33 patients and 33 age- and gender-matched healthy controls underwent MRI on a 3T scanner. All patients underwent a comprehensive neurological and neuropsychological evaluation. We correlated the structural findings with the clinical features of the disease. In addition, we evaluated the disease progression looking at differences in SCA1 subgroups defined by disease duration. Ataxia and pyramidal signs were the main symptoms. Neuropsychological evaluation disclosed cognitive impairment in 53% with predominant frontotemporal dysfunction. Gray matter analysis unfolded cortical thinning of primary and associative motor areas with more restricted impairment of deep structures. Deep gray matter atrophy was associated with motor handicap and poor cognition skills. White matter integrity loss was diffuse in the brainstem, but restricted in supratentorial structures. Cerebellar cortical thinning was found in multiple areas and correlated not only with motor disability, but also with verbal fluency. Spinal cord atrophy correlated with motor handicap. Comparison of MRI findings in disease duration-defined subgroups identified a peculiar pattern of progressive degeneration and suggested a possible associated neurodevelopmental problem.

Introduction

Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1) is an autosomal dominant disorder, characterized by progressive cerebellar ataxia, pyramidal signs, extracerebellar features and non-motor symptoms, as well as mild cognitive decline (Bürk et al., 1996; Bürk et al., 2003). Onset of SCA1 is usually in the fourth decade of life and affected families show anticipation (Banfi et al., 1994; Chong et al., 1995). SCA1 is caused by a CAG expansion within the coding region of *ATXN1*. The CAG repeat region is localized in exon 8 and translated into a polyglutamine tract in the amino terminal half of the protein (Banfi et al., 1994; Tong et al., 2001; Orr et al., 1993). Healthy individuals have a CAG-repeat number of 39 or less, affected patients have more than 44 repeats and intermediate alleles (39-44) result in reduced penetrance. Abnormal ataxin-1 aggregates into small intranuclear inclusions and interferes with the normal function of the protein leading to neuronal toxicity (Duyckearts et al., 1999; Schoëls et al., 2004)

Like other neurodegenerative disorders, cognitive impairment, usually mild, is observed in 20–30% of the cases (Schoëls et al., 1997; Filla et al., 2000). Several studies disclose impaired executive function, attention, visuo-spatial perception, verbal fluency, immediate and delayed memory (Bürk et al., 2003; Klinker et al., 2010; Bürk et al., 2007). In some patients, restlessness and emotional lability, without full blown dementia, characterize the mental status (Kameya et al., 1995). Significant mental retardation, however, has been reported only in individuals with very large CAG expansions and onset before 15 years of age (Schoëls et al., 2004; Schmitz-Hübbsch et al., 2008).

Neuroimaging techniques are powerful tools in the assessment of many closely related neurodegenerative disorders (Hanganu et al., 2014; Min et al., 2014; França et al., 2009; Lopes et al., 2013). Such tools demonstrate *in vivo* structural abnormalities and provide a better understanding of the disease mechanisms and progression. Notwithstanding, no large studies have been conducted to investigate the extent of neurodegeneration and how it affects sequentially certain neuronal populations in SCA1. In particular, little is known about the extent of cortical and

subcortical damage in the disease, and how such damage correlates with the clinical phenotype.

Based on this, our aim is to provide clinical characterization concerning motor and cognitive features of the disease, correlating these findings with anatomical aspects. Moreover, we aim to delineate how the disease course influences the structural damage, giving insights into the natural history of the disease. To accomplish that, we employed multimodal MRI, looking at the brain and spinal cord in a large cohort of patients with SCA1 at different stages of the disease.

Materials and Methods

1. Study Design

Figure 1 is the flowchart that describes the sequential experimental steps performed in this study.

2. Subject's Selection

We evaluated 33 consecutive adult patients with molecular confirmation of SCA1 regularly followed at UNICAMP and UNIFESP hospitals and 33 healthy age- and sex-matched controls. This protocol was approved by our institution Research Ethics Committee and a written informed consent was obtained from all participants. None of the controls had family history of ataxia and/or hereditary neuropathies. Before further analyses, we checked all images for significant motion artifacts or incidental findings, but none of the subjects presented them.

3. Clinical and Cognitive Assessment (n=32)

Patients underwent detailed neurological examination and the Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) was used to quantify disease severity (Braga-Neto et al., 2010). Age of onset, disease duration, and CAG length were determined for each subject and used for further analyses. Cognitive functioning was evaluated through the Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R) in 28 patients. The ACE-R is a comprehensive neuropsychological tool that has been validated for the Brazilian population. The score ranges from 0 to a maximum of 100 points (lower scores indicate greater impairment) and encompasses 5 cognitive domains: attention/orientation, memory, fluency, language and visuospatial abilities (Mioshi et al., 2006; Carvalho et al., 2007). Depressive symptoms were explored through the Beck Depression Inventory (BDI) (Gorenstein et al., 1996) and a brief interview with the patient's main caregiver designed to detect behavioral issues such as anxiety, depression, delusional thoughts and others. BDI scores were considered abnormal if ≥ 11 . All scales and examinations were performed by a single investigator (CRMJr).

4. MRI Acquisition and Protocol

A 3T Achieva PHILIPS scanner with a standard 8-channel head coil was used to scan all patients and controls. To exclude incidental findings, routine T1 and T2 weighted sequences were performed for all subjects. We obtained T1 weighted volumetric images covering the whole brain and the cervical spinal cord with the following acquisition parameters: sagittal orientation, voxel matrix 240x240x180, voxel size $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, TR/TE 7/3.201ms, flip angle 8° . These T1-weighted images were used to measure cortical thickness and deep GM volumes.

We also acquired a Gradient Echo Diffusion tensor imaging (DTI) sequence as follows: axial orientation, $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ acquiring voxel size, interpolated to $1 \times 1 \times 2 \text{ mm}^3$; reconstructed matrix 256x256; 70 slices; TE/TR 61/8500 ms; flip angle 90° ; 32 gradient directions; no averages; max b-factor = 1000 s/mm^2 ; six minutes scan. The DTI images were further used for analyses of WM integrity.

5. Image Processing

Cerebral GM

Cortical Thickness (n=33)

Cortical thickness was computed using the FreeSurfer software v.5.3 (Hutton et al., 2009). Measurements were performed according to the protocol suggested by Fischl and Dale (Fischl et al., 2000; Rezende et al., 2015). The software creates triangle meshes that form two surfaces, the interface between GM and CSF and the interface between GM and WM. The shortest distance between the interfaces constitutes the measured cortical thickness. We took into account the cortical regions by the Desikan & Dericourt atlas for comparisons (Desikan et al., 2006).

Basal ganglia volumes (n=33)

T1 weighted images were processed with the T1 MultiAtlas approach using "MRICloud" (MRICloud.org), a public web-based service for multi-contrast imaging segmentation and volumetric quantification. Raw images were re-oriented (sagittal to axial), then had inhomogeneity correction and the whole brain was segmented after skull-stripping. We employed linear and non-linear algorithms for brain co-registrations (Miller et al., 2013) and a multi-atlas labeling fusion enabled the identification of brain regions followed by a last step of labelling adjusting with PICSL (Tang et al., 2014). Nineteen atlases (JHU adult atlas version 9B) were used to generate 283 structural definitions (Wu et al., 2016). All analyses were performed in native space. The computations were processed on the Gordon cluster of XSEDE (Townes et al., 2014).

Cerebral, Brainstem and Cerebellar WM

DTI MultiAtlas Approach (n =30)

White Matter microstructural damage was assessed using DTI MultiAtlas using maps of Fractional Anisotropy (FA), Axial diffusivity (AD), Mean Diffusivity (MD) and Radial Diffusivity (RD). The DTI MultiAtlas was processed using "MRICloud" where Raw DTI-weighted images were co-registered and corrected for eddy currents and subject motion using a 12-parameter affine transformation (Zhuang et al., 2006; Faria

et al., 2010). The DTI-parameters were calculated using a multivariate linear fitting and skull-stripped using the b=0 image, by intensity threshold, a tool of Roi Editor software. This preprocessing was performed using DTIStudio software (Jiang et al., 2006). After that, a non-linear registration using a multi-contrast LDDMM (Miller et al., 2005) was performed, followed by the parcellation, which employs a DLFA algorithm (Tang et al., 2014; Towns et al., 2014). The computations were processed on the Gordon cluster of XSEDE .

Cerebellar GM

Cortical Thickness (n=33)

Cortical thickness was computed using a patch-based multi-atlas segmentation tool called CERES (CEREbellum Segmentation) that is able to automatically parcellate the cerebellum lobules. The proposed method works with standard resolution magnetic resonance T1-weighted images and uses the Optimized PatchMatch algorithm to speed up the patch matching process (Romero et al., 2017).

Spinal Cord Morphometry (n=32)

Cross-sectional Area (CA) (n=32)

Spinal cord segmentation and measurements were performed semi-automatically using the SpineSeg software tool, developed at UNICAMP neuroimaging laboratory (Bergo et al., 2012). Further methodological details are available elsewhere (Martins et al., 2017).

5. Statistical Analysis

Clinical and demographic data of all subjects are reported with descriptive statistics (**table 1**). MRI analyses included both group comparisons and assessment of correlations, as detailed below. Statistical analyses were performed using the IBM SPSS statistics software version 20.

Group comparisons (Patients versus Controls)

All imaging parameters were assessed through a General Linear Model. Age and gender were used as covariates. For cortical thickness and brain volumetric studies, estimated intracranial volume (eTIV) was also added as a covariate. In order to correct for multiple comparisons, we employed the Bonferroni adjustment with level of significance set as 0.05.

Comparison between groups of patients

Three groups of patients were defined according to disease duration: group 1: <5 years (n=11, mean SARA score =10.4); group 2: 5-9 years (n=12, mean SARA score =14.3) and group 3: ≥10 years (n=9, mean SARA score =21.7). Each group was compared with a healthy age and gender matched control group. These comparisons generated statistical maps showing the pattern of structural abnormalities in each stage. Afterwards, we looked at these maps to investigate how the disease progressed. For each specific comparison, a general linear model was applied, followed by Bonferroni's correction.

Correlations and Multiple Regression analyses

Pearson correlation coefficient assessed possible correlations between imaging measures and clinical data whenever data distribution was normal; Spearman correlation was employed for data that were not normally distributed. Gender and age were used as covariates for correlations. Beck depression inventory and educational level were used as covariates for cognitive correlations. Bonferroni was employed to adjust for multiple comparisons (level of significance $p = 0.05$). To evaluate the determinants of the structural damage in SCA1, multiple variable regressions were used (dependent variables: volume/thickness/area and independent variables: age, CAG length and eTIV).

Results

1. Clinical Features

Demographic and clinical data of all subjects in the study are shown in **table 1**. Ataxia was the main symptom in all cases, with gait disturbances, axial and appendicular incoordination. All patients had pyramidal signs, with brisk reflexes, however spasticity was not found. Urinary incontinence or urgency were found in nine patients (28%) and five (15%) were wheelchair bound, what happened after a mean disease duration of 15.2 years. Severe amyotrophy of intrinsic hand muscles was present in four (12%), hand tremor was evident in sixteen (50%), cephalic tremor was found in one (3%) and eleven (34%) complained of frequent falls. Sensory impairment was present in seven (21%) and no one had visual loss. Parkinsonism and other movement disorders were not found.

From 28 patients evaluated, fifteen (53%) fulfilled criteria for cognitive impairment (ACE-R score < 78 if > 11 years of schooling or < 68 in patients with < 11 years of schooling) (Carvalho et al., 2007). Mean ACE-R was 77.0 (range 62-97). From ACE-R subscores, verbal fluency was the most affected domain (mean score of 51%) followed by memory (68%), language (85%), visuo-spatial abilities (86%) and attention/orientation (89%). The sum of verbal fluency visuo-spatial skills and attention was interpreted as an estimate of executive function. ACE-R has a subscore, the VLOM ratio, which is composed by the scores of verbal fluency + language/orientation + memory (recall of name and address only). A VLOM ratio < 2.2 points to frontotemporal dysfunction with 95% of specificity. A score > 3.2 , on the other hand, points to a dementia that resembles Alzheimer's disease (Mioshi et al., 2006). Twenty-six patients (92.8%) had a score of less than 2.2 while the remaining two had indexes in the unspecific range. This indicates that frontotemporal dysfunction could be the clinical phenotype of cognitive dysfunction in SCA1 and ACE-R significantly correlated with physical burden ($r = -0.49$, $p = 0.013$).

Regarding neuropsychiatric manifestations, nine (28%) displayed excessive anxiety and, in 4 (12%) patients, apathy was reported by the caregiver. BDI scores were abnormal in 70% of patients and correlated with motor disability ($r = 0.47$, $p = 0.008$).

2. Neuroimaging

Cerebral and Brainstem GM

Using ROI-based analysis, significant differences were seen in cortical thickness between patients and controls in several areas (**Figure 2A**). The SARA and ACE-R domains did not show significant correlations with cortical thickness. Analysis of deep gray matter volumes showed significant volumetric reduction in both amygdalae and red nuclei (**Figure 2B**). Volumes of both red nuclei (right $r=-0.79$, $p<0.001$; left $r=-0.72$, $p<0.001$) correlated negatively with SARA scores. Memory domain score of ACE-R correlated with left amygdala volume ($r=0.49$, $p<0.05$).

Cerebellar GM

In the SCA1 group, cerebellar cortical thickness was significantly reduced in several regions of both hemispheres ($p<0.001$, **Figure 2C**). Cortical thickness of the cerebellum (right hemisphere $r=-0.63$, $p<0.001$; left hemisphere $r=-0.61$, $p<0.001$), lobules X at right ($r=-0.75$, $p<0.001$) and left sides ($r=-0.79$, $p<0.001$) correlated negatively with SARA scale. Concerning ACE-R score, only the fluency domain correlated with VIIIIB right cortical thickness ($r=0.52$, $p=0.04$).

Cerebral, Brainstem and Cerebellar WM

We identified a pattern of diffusely reduced Fractional Anisotropy (FA) accompanied by increase in AD, MD and RD in infratentorial regions and the corticospinal tracts (**Figure 3**). Despite this, the diffusion metrics did not correlate with SARA and ACE-R scores.

3. Disease course

Clinical Results

Correlation analyses revealed that SARA scores had a significant association with age ($r=0.51$, $p<0.05$) and disease duration ($r=0.78$, $p<0.001$). ACE-R scores also correlated inversely with disease duration ($r=-0.41$, $p<0.05$), but not with age. Analyzing the ACE-R domains, only memory and visuospatial abilities were correlated with disease duration ($r=-0.57$, $p<0.05$; $r=-0.040$, $p<0.05$, respectively). Comparing the subgroups defined according to disease duration, significant differences regarding motor (SARA, $p<0.001$) and cognitive (ACE-R, $p<0.05$) functioning were seen.

Cerebral and Brainstem GM

Regarding cortical thickness, no significant differences were seen in the group 1. Group 2 presented significant reduction in the left precentral gyrus. Group 3 showed atrophy of multiple cortical regions, involving primary and associative areas. Analysis of deep gray matter showed volume loss of both red nuclei in groups 2 and 3, but not 1 (**Figure 4**).

Cerebral, Brainstem and Cerebellar WM

DTI atlas-based analyses revealed diffusely reduced FA in all groups. Changes in group 1 were essentially restricted to the cerebellar peduncles and lower brainstem. In the other groups, the alterations became more diffuse, involving other regions of the brainstem and cerebral white matter (**Figure 4**).

Cerebellar GM

Group 1 had significant reductions in cerebellar cortical thickness only at the lobule IX at the right side. The following groups showed thinning in multiple areas (**Figure 4**).

Spinal Cord Morphometry

There was a significant difference in terms of CA in all groups (**supplemental data - tables 24-26**). Correlation analyses also converged towards reduced CA in patients with longer disease duration ($r=-0.48$, $p= 0.006$). Analyzing all patients, CA inversely correlated with motor abilities ($r=-0.70$, $p<0.001$).

4. Factors associated with structural damage

Cortical thickness disclosed a significant association with age in both hemispheres of the brain. Red nuclei volumes were associated with CAG repeat length; at the left side there was also an association with age. DTI parameters correlated in general with age. Cerebellar cortical thickness and spinal cord area strongly correlated with age and CAG repeat length (**Table 2**).

Discussion

This study provides a detailed characterization of neurological, cognitive and neuroimage profiles in SCA1. We were able to show that SCA1 is characterized by widespread damage that goes far beyond the cerebellum and connections. Involvement of supratentorial structures is not only widespread, but also helps to explain some of the cognitive/behavioural manifestations found. Neuropsychological deficits were indeed frequent (53%) and involved mostly executive functions, memory and verbal fluency. Another important finding was the high frequency and severity of depressive symptoms in this cohort. The detailed correlation between phenotype (motor and particularly, non-motor) and structure in SCA1 is indeed the major contribution of this study. Previous studies missed that point because they relied on smaller cohorts, had no cognitive/behavioural assessment and did not use multimodal imaging analyses (Schulz et al., 2010; Reetz et al., 2013).

Regarding GM damage, we have found widespread cerebral cortical thinning extending to primary and associative areas in frontal, temporal, parietal and occipital lobes. These results are similar to previous neuroimaging reports (Schulz et al., 2010). However, there was also red nuclei and amygdalae atrophy in our patients, which were not previously noticed. Interestingly, the volumes of these structures

correlated significantly with motor disability and cognitive tasks, respectively. In line with our findings, pathological data reveal gross macroscopic atrophy in these cerebral lobes (Rüb et al., 2012). The histological correlates of such findings are neuronal loss and astrogliosis, which is especially prominent at primary motor cortices (loss of giant Betz pyramidal cells) (Rüb et al., 2012).

WM involvement was also prominent, especially at infratentorial regions. In contrast, we had a much more restricted pattern of supratentorial WM abnormalities that included essentially the inter-hemispheric connecting fibers (corpus callosum and fornices) as well as the corticospinal tracts (CST). Overall, these findings are in line with previous imaging and neuropathology reports (Schulz et al., 2010; Reetz et al., 2013; Rüb et al., 2012; Seidel et al., 2012; Mandelli et al., 2007; Della Nave et al., 2008). The infratentorial WM tracts and the CST convey motor and sensory information, which helps to explain some phenotypic features of SCA1, such as sensory loss, incoordination and brisk reflexes. Callosal and fornix involvement would explain cognitive/behavioural manifestations, but we failed to identify such correlations in our patients. This looks counterintuitive, but it may be due to the battery of neuropsychological tests we employed. Although comprehensive, it did not assess, for instance, speed of cognitive processing or bimanual motor tasks, which are often associated with callosal/fornix integrity. Further studies are needed to address this point.

The cerebellum was diffusely involved, including the cortical mantle and cerebellar peduncles. The upper regions of the cerebellar hemispheres were relatively spared in contrast to the vermis and lower portions. Such damage has obvious correlations with the ataxic syndrome, which are confirmed by our own correlation analyses. In addition, we found an association between verbal fluency performance and cortical thickness at right-sided lobule VIII B of the cerebellum. Kansal *et al.* found a strikingly similar result after exploring a large and heterogeneous cohort of subjects with cerebellar degeneration (Kansal et al., 2017). Taken together, these data reinforce the concept that the cerebellum should no longer be considered as a purely motor organ. In fact, patients with isolated acute or chronic focal cerebellar lesions show frontal-like and parietal-like symptoms; this clinical picture is referred to as the cerebellar cognitive affective syndrome (CCAS) (Schmahmann et al., 1998). These “cortical” symptoms may stem from the

interruption, as in a disconnection syndrome (Schmahmann et al., 2008) or from a dysfunctional contribution of the cerebellum (Schmahmann et al., 2004) in the neocerebellar–neocortical reverberant network. It is possible that CCAS underlies at least part of the cognitive and behavioural manifestations we found in SCA1. The lack of correlation between cognition and cerebral damage (either GM and WM) argue in favor of the last hypothesis.

Despite the cross-sectional design, our results shed some light into the disease course, from a clinical and a structural point of view. Regarding clinical aspects, our data suggest that not only motor but also cognitive deficits are progressive, since both had a significant correlation with time-dependent variables. In terms of MRI findings, we identified that the initial targets of lesion in SCA1 are the spinal cord, lobule IX of the cerebellum and brainstem WM tracts. Interestingly, lobule IX of the cerebellum was the only region found atrophic in presymptomatic SCA1 subjects in a recent European study (Jacobi et al., 2013). This region seems to be particularly vulnerable to the deleterious effects of expanded ataxin-1, but the biochemical reasons remain to be elucidated. Later in the disease course, damage spreads cranially to involve other regions in the cerebellum, the red nuclei and cerebral cortex (beginning at precentral gyri). Such a pattern resembles that reported by Braak *et al* in Parkinson's disease, where alpha-synuclein would spread in a caudal-rostral fashion leading to progressive neuronal loss (Braak et al., 2003). Although speculative, one might consider that ataxin-1 could disseminate trans-synaptically leading to cumulative neuronal loss (Freundt et al., 2012).

Regarding the determinants of CNS damage in SCA1, we have shown that this might be driven by both age and CAG expansion. Our cross-sectional results suggest that the structural changes are progressive with time throughout the CNS, and that patients with larger (CAG) expansions tend to be more affected, especially concerning the cerebellum and spinal cord involvement. In conclusion, we were able to unravel the phenotypic and structural hallmarks of SCA1. In short, it seems that GM, WM and SC are distinctly affected in the disease, not only in terms of extension but also in terms of temporal course. These aspects point to the potential usefulness of CNS image analysis as a clinical biomarker in SCA1, but further prospective studies with presymptomatic individuals or using longitudinal evaluation are still needed to better elucidate the natural history of the disease.

References

- Banfi S, Servadio A, Chung MY, Kwiatkowski Jr TJ, McCall AE, Duvick LA, et al (1994): Identification and characterization of the gene causing type 1 spinocerebellar ataxia. *Nat Genet* 7: 513–20.
- Bergo FPG, França MC Jr., Chevis CF, Cendes F (2012): SpineSeg: a segmentation and measurement tool for evaluation of spinal cord atrophy. In: CISTI'2012 (7^a Conferencia Ibérica de Sistemas y Tecnología de Información); Madrid, Spain. IEEE 400–403.
- Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E (2003): Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 24: 197–211.
- Braga-Neto P, Godeiro-Junior C, Dutra LA, Pedrosa JL, Barsottini OG (2010): Translation and validation into Brazilian version of the Scale of the Assessment and Rating of Ataxia (SARA). *Arq Neuropsiquiatr* 68:228–30.
- Bürk K (2007): Cognition in hereditary ataxia. *Cerebellum* 6: 280-286.
- Bürk K, Abele M, Fetter M, et al (1996): Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 119:1497–1505.
- Bürk K, Globas C, Bösch S, Klockgether T, Zühlke C, Daum I and Dichgans J (2003): Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol* 250: 207-211.
- Carvalho VA, Caramelli P (2007): Brazilian adaptation of the Addenbrooke's Cognitive Examination- Revised (ACE-R). *Dement Neuropsychol* 2: 212-16.
- Chong SS, McCall AE, Cota J, Subramony SH, Orr HT, Hughes MR, et al (1995): Genetic and somatic tissue-specific heterogeneity of the expanded SCA1 CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 10: 344–50.
- De Rezende TJR, D'Abreu A, Guimarães RP, Lopes TM, Lopes-Cendes I, Cendes F, et AL (2015): Cerebral cortex involvement in Machado Joseph disease. *Eur J Neurol* 22: 277–83.

Della Nave R, Ginestroni A, Tessa C, Salvatore E, De Grandis D, Plasmati R, Salvi F, De Michele G, Dotti MT, Piacentini S, Mascalchi M (2008): Brain white matter damage in SCA1 and SCA2. An in vivo study using voxel-based morphometry, histogram analysis of mean diffusivity and tract-based spatial statistics. *Neuroimage* 43: 10–9.

Desikan RS, Segonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al (2006): An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* 31: 968–80.

Duyckearts C, Du`rr A, Cancel G, Brice A (1999): Nuclear inclusions in spinocerebellar ataxia type 1. *Acta Neuropathol* 97: 201–207.

Faria AV, Zhang J, Oishi K, Li X, Jiang H, Akhter K, Hermoye L, Lee SK, Hoon A, Stashinko E, Miller MI, van Zijl PC, Mori S (2010): Atlas-based analysis of neurodevelopment from infancy to adulthood using diffusion tensor imaging and applications for automated abnormality detection. *Neuroimage* 15: 415–28.

Filla A, Mariotti C, Caruso G, et al (2000): Relative frequencies of CAG expansions in spinocerebellar ataxia and dentatorubropallidoluysian atrophy in 116 Italian families. *Eur Neurol* 44: 31–36.

Fischl B, Dale AM (2000): Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci* 97: 11050–5.

França MC, Jr., D'Abreu A, Yasuda CL, Bonadia LC, Santos da Silva M, Nucci A, Lopes-Cendes I, Cendes F (2009): A combined voxel-based morphometry and 1H MRS study in patients with Friedreich's ataxia. *J Neurol* 256:1114–1120.

Freundt EC, Maynard N, Clancy EK, Roy S, Bousset L, Sourigues Y, Covert M, Melki R, Kirkegaard K, Brahic M (2012): Neuron-to-neuron transmission of α -synuclein fibrils through axonal transport. *Ann Neurol* 72:517-24.

Gorenstein C, Andrade L (1996): Validation of a Portuguese version of the beck depression inventory and state-tract anxiety inventory in Brazilian subjects. *Braz J Med Biol Res* 29: 453-457.

Hanganu A, Bedetti C, Degroot C, Mejia-Constain B, Lafontaine AL, Soland V, et al (2014): Mild cognitive impairment is linked with faster rate of cortical thinning in patients with Parkinson's disease longitudinally. *Brain* 137: 1120–9.

Hutton C, Draganski B, Ashburner J, Weiskopf N (2009): A comparison between voxel-based cortical thickness and voxel-based morphometry in normal aging. *Neuroimage* 48: 371-80.

Jacobi H, Reetz K, du Montcel ST, et al (2013): Biological and clinical characteristics of individuals at risk for spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6 in the longitudinal RISCA study: analysis of baseline data. *Lancet Neurol* 12: 650–58.

Jiang H, van Zijl PC, Kim J, et al (2006): DtiStudio: resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle tracking. *Comput. Methods Prog. Biomed* 81: 106-16.

Kameya T, Abe K, Aoki M, et al (1995): Analysis of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1)-related CAG trinucleotide expansion in Japan. *Neurology* 45: 1587–1594.

Kansal K, Yang Z, Fishman A M, et al. (2017): Structural cerebellar correlates of cognitive and motor dysfunctions in cerebellar degeneration. *Brain* 140; 707–720.

Klinke I, Minnerop M, Schmitz-Hubsch T, Hendriks M, Klockgether T, Wullner U, Helmstaedter C (2010): Neuropsychological features of patients with spinocerebellar ataxia (SCA) types 1, 2, 3, and 6. *Cerebellum* 9:433–42.

Lopes TM, D'Abreu A, França MC Jr, et al (2013): Widespread neuronal damage and cognitive dysfunction in spinocerebellar ataxia type 3. *J Neurol* 260: 2370–2379.

Mandelli ML, De Simone T, Minati L, Bruzzone MG, Mariotti C, Fancellu R, Savoiaro M, Grisoli M (2007): Diffusion tensor imaging of spinocerebellar ataxias types 1 and 2. *AJNR Am J Neuroradiol* 28: 1996–2000.

Martins CR Jr, Martinez ARM, de Rezende TJR, Branco LMT, Pedroso JL, Barsottini OGP, Lopes-Cendes I, França MC Jr. (2017): Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1. *Cerebellum* 16: 792-796.

Miller MI, Beg MF, Ceritoglu C, Stark C, et al (2005): Increasing the power of functional maps of the medial temporal lobe by using large deformation diffeomorphic metric mapping. *Proc. Natl Acad Sci* 102: 9685–90.

Miller MI, Faria AV, Oishi K, Mori S (2013): High-throughput neuroimaging informatics. *Front Neuroinform* 17: 7-31.

Min R, Wu G, Cheng J, Wang Q, Shen D (2014): Multi-atlas based representations for Alzheimer's disease diagnosis. *Hum Brain Mapp* 35: 5052-70.

Mioshi E, Dawson K, Mitchell J, Arnold R, Hodges JR (2006): The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a brief cognitive test battery for dementia screening. *Int J Geriatr Psychiatry* 21: 1078-85.

Orr HT, Chung M, Banfi S, et al (1993): Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 4: 221–226.

Reetz K, Costa AS, Mirzazade S, et al (2013): Ataxia Study Group Investigators. Genotype specific patterns of atrophy progression are more sensitive than clinical decline in SCA1, SCA3 and SCA6. *Brain* 136: 905–17.

Romero JE, Coupé P et al (2017): CERES: A new cerebellum lobule segmentation method. *NeuroImage* 147: 916-924.

Rüb U, Bürk K, Timmann D, den Dunnen W, Seidel K, Farrag K, Brunt E, Heinsen H, Egensperger R, Bornemann A, Schwarzacher S, Korf HW, Schöls L, Bohl J, Deller T (2012): Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1): new pathoanatomical and clinico-pathological insights. *Neuropathol Appl Neurobiol* 38:665-80.

Schmahmann J D, Sherman J C (1998): The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 121: 561–579.

Schmahmann JD (2004): Disorders of the cerebellum: Ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 16: 367–378.

Schmahmann JD, Pandya DN (2008): Disconnection syndromes of basal ganglia, thalamus, and cerebrocerebellar systems. *Cortex* 44: 1037–1066.

Schmitz-Hübbsch T, Coudert M, Bauer P, et al (2008): Spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. Disease severity and non ataxia symptoms. *Neurology* 71: 982–989.

Schöls L, Amoridis G, Büttner T, et al (1997): Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Ann Neurol* 42: 924–932.

Schöls L, Bauer P, Schmidt T, et al (2004): Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 3: 291–304.

Schulz JB, Borkert J, Wolf S, et al (2010): Visualization, quantification and correlation of brain atrophy with clinical symptoms in spinocerebellar ataxia types 1, 3 and 6. *Neuroimage* 49: 158–68.

Seidel, K. et al (2012): Brain pathology of spinocerebellar ataxias. *Acta Neuropathol* 124: 1–21.

Tang X, Shoko Y, Hsu J, Huisman TAGM, Faria AV, Oishi K, et al (2014): Multi-contrast multi-atlas parcellation of diffusion tensor imaging of the human brain. *Plos One* 9: e96985.

Tong X, Gui H, Jin F, et al (2001): Ataxin-1 and Brother of ataxin-1 are components of the Notch signaling pathway. *EMBO Rep* 12: 428–435.

Towns J, Cockerill T, Dahan M (2014): XSEDE: accelerating scientific discovery. *Comput Sci Eng* 16: 62-72.

Wu D, Ma T, Ceritoglu C, Li Y, Chotiyononta J, Hou Z, et al (2016): Resource atlases for multi-atlas brain segmentations with multiple ontology levels based on T1-weighted MRI. *Neuroimage* 125: 120-30.

Zhuang J, Hrabe J, Kangarlu A, Xu D, Bansal R, Branch CA, et al (2006): Correction of eddy-current distortions in diffusion tensor images using the known directions and strengths of diffusion gradients. *J Magn Reson Imaging* 24: 1188–93.

Figures and Tables

Table 1. Demographic and clinical data of patients and controls.

	SCA1 (n = 33)	Controls (n = 33)	p
Age (mean ± SD, years)	44.63 ± 9.91	45.72 ± 9.80	0.65
Gender (M/F)	21:12	21:12	1.000
Duration of disease (mean ± SD, years)	7.62 ± 6.50	–	–
(CAG)n (mean ± SD)	44.84 ± 4.40	–	–
SARA (mean ± SD)	15.07 ± 6.43	–	–
BDI score (mean ± SD)	19.03 ± 11.08	–	–
Education (mean ± SD, years)	10.82 ± 3.78	–	–
Addenbrooke (mean ± SD)	77.07 ± 9.90	–	–
Attention/Orientation (mean ± SD)	16.07 ± 1.56	–	–
Memory (mean ± SD, years)	17.85 ± 5.44	–	–
Fluency (mean ± SD)	7.14 ± 2.79	–	–
Language (mean ± SD)	22.17 ± 3.61	–	–
Visual/Spatial (mean ± SD)	13.89 ± 2.42	–	–
VLOM (mean ± SD)	1.69 ± 0.37	–	–

Table 2. Results of regression analysis on CNS structures in the SCA1 group.

Area	Dependent variable	r^2 (model)	Independent variable	Regression coefficient	p value	
Spinal Cord	Cervical cord area	0.53	(CAG)n	-0.99	<0.001	
			Age	-0.39	0.03	
Cerebellum GM	Cerebellum left cortical thickness	0.22	(CAG)n	-0.72	0.004	
			Age	-0.56	0.02	
	X right cortical thickness	0.24	(CAG)n	-0.65	0.009	
			Age	-0.62	0.01	
Left Cerebral GM	Inferior frontal gyrus. Opercular	0.23	(CAG)n	-0.007	0.54	
			Age	-0.01	0.04	
	Inferior parietal gyrus. Angular	0.29	(CAG)n	-0.002	0.84	
			Age	-0.01	0.02	
	Inferior parietal gyrus. Supramarginal	0.30	(CAG)n	-0.001	0.89	
			Age	-0.01	0.04	
	Precentral gyrus	0.23	(CAG)n	-0.01	0.24	
			Age	-0.01	0.01	
	Medial temporal gyrus	0.20	(CAG)n	-0.008	0.51	
			Age	-0.01	0.04	
	Right Cerebral GM	Subcentral gyrus and sulcus	0.36	(CAG)n	-1.05	0.30
				Age	-0.65	0.006
Inferior frontal gyrus. Triangular		0.30	(CAG)n	-0.12	0.57	
			Age	-0.55	0.02	
Medial temporal gyrus		0.28	(CAG)n	-0.09	0.67	
			Age	-0.60	0.01	

Deep GM	Left red nucleus	0.33	(CAG)n	-0.81	0.002
			Age	-0.74	0.002
	Right red nucleus	0.26	(CAG)n	-0.68	0.009
			Age	-0.34	0.15
White Matter DTI-FA (Whole Brain)	Left posterior limb – internal capsule	0.33	(CAG)n	0.55	0.002
			Age	-0.74	0.65
	Left superior corona radiata	0.46	(CAG)n	0.36	0.01
			Age	-0.49	0.002
	Left splenium corpus callosum	0.20	(CAG)n	-0.10	0.56
			Age	-0.45	0.01
	Right posterior limb – internal capsule	0.19	(CAG)n	0.40	0.03
			Age	-0.11	0.54
	Right superior corona radiata	0.32	(CAG)n	0.32	0.05
			Age	-0.40	0.01
	Right middle cerebellar peduncle	0.20	(CAG)n	0.36	0.04
			Age	-0.20	0.26
	Right splenium corpus callosum	0.21	(CAG)n	-0.04	0.81
			Age	-0.46	0.01

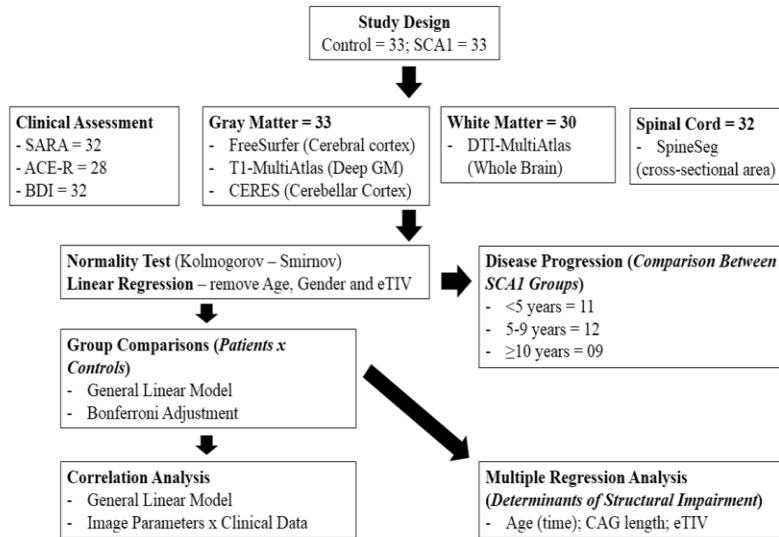


Figure 1. Study Design.

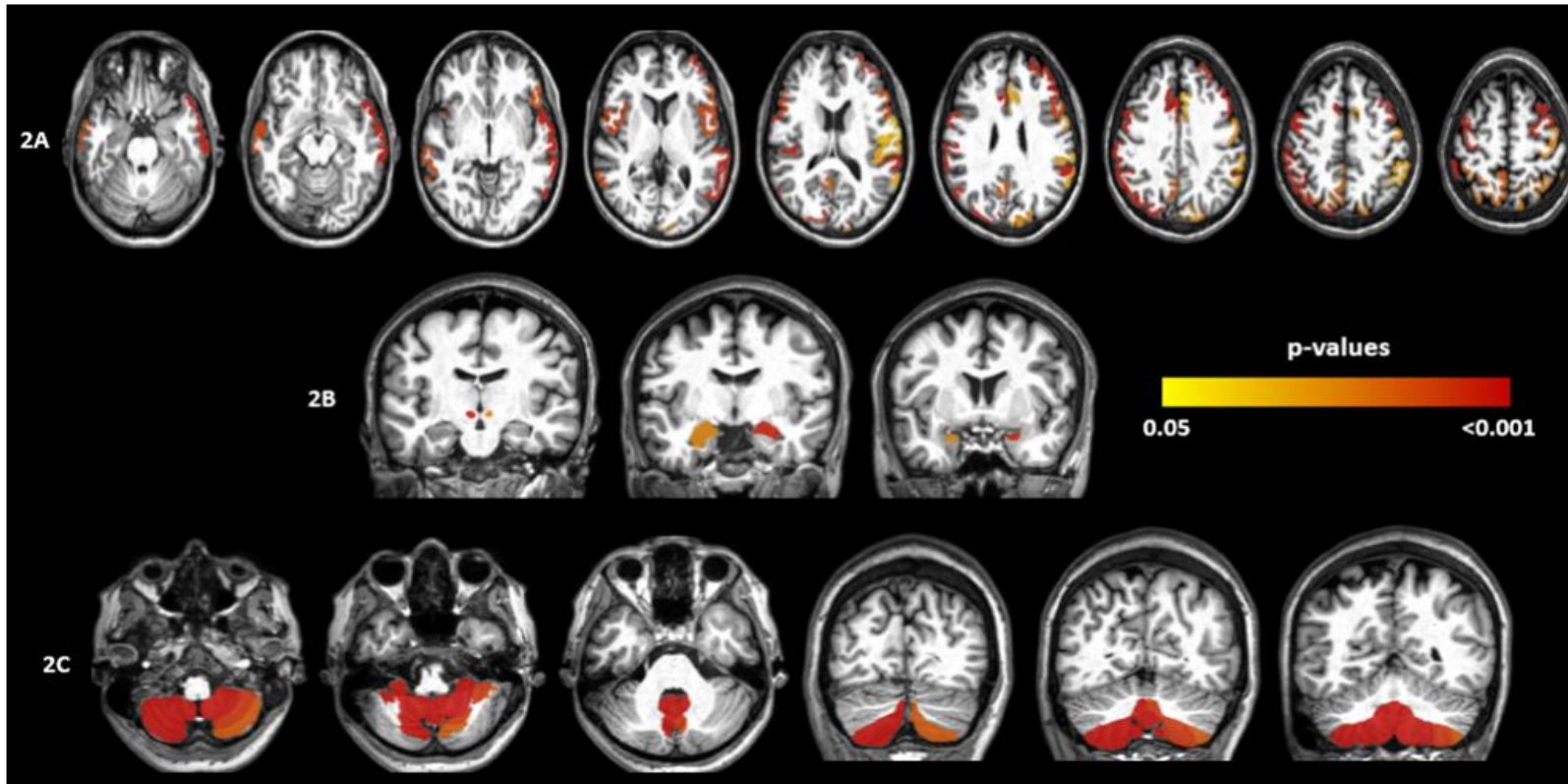


Figure 2. Cross-sectional results of ROI-based analyses using FreeSurfer (2A), T1 MultiAtlas (2B) and CERES (2C), comparing SCA1 patients to healthy controls [For more details of the involved areas, see the **supplemental data – Tables 1-4**].

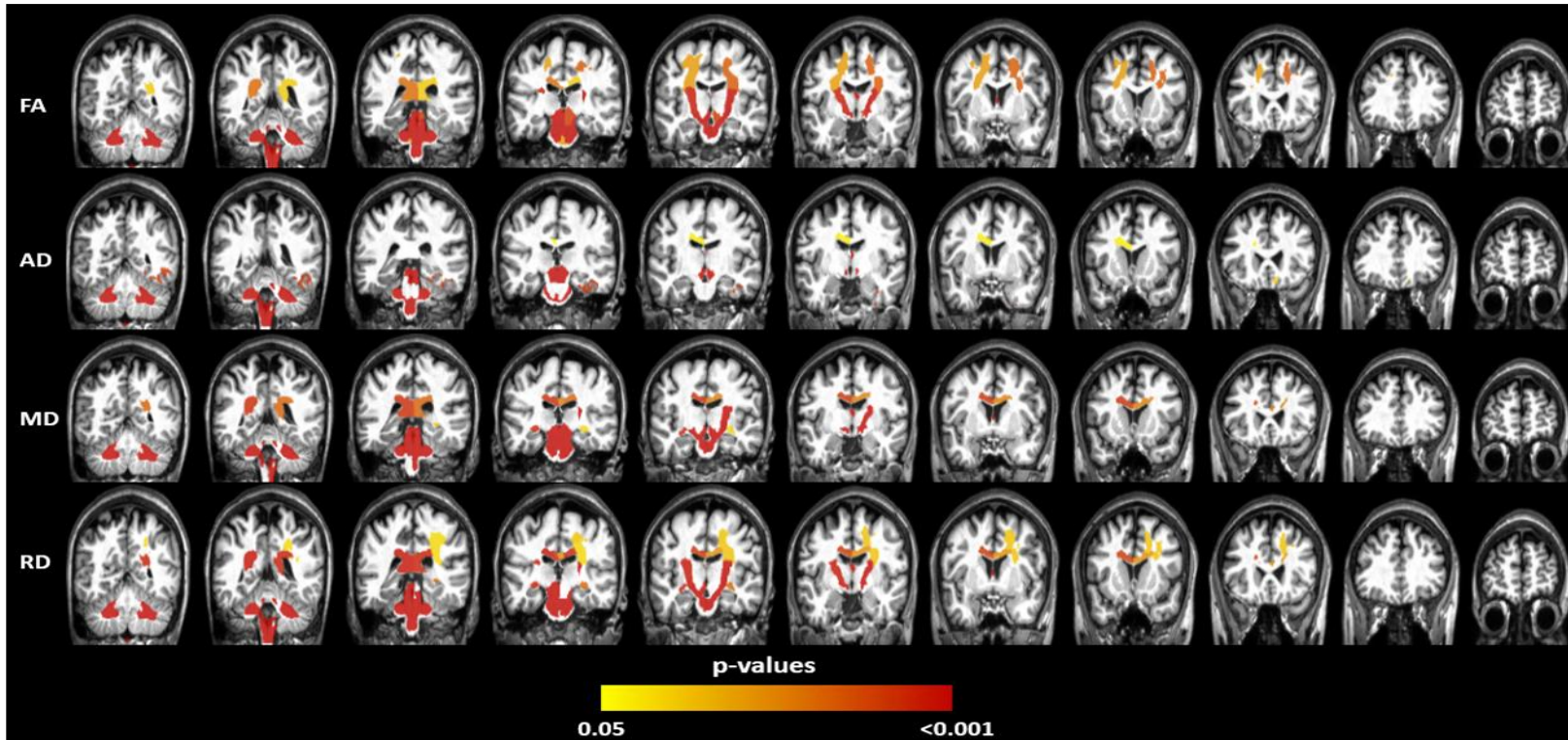


Figure 3. Cross-sectional results of DTI MultiAtlas approach showing areas of reduced fractional anisotropy (FA), increased axial diffusivity (AD), increased mean diffusivity (MD) and increased radial diffusivity (RD) in patients with SCA1 after comparison with controls [For more details of the involved areas, see the **supplemental data – Tables 5-8**].

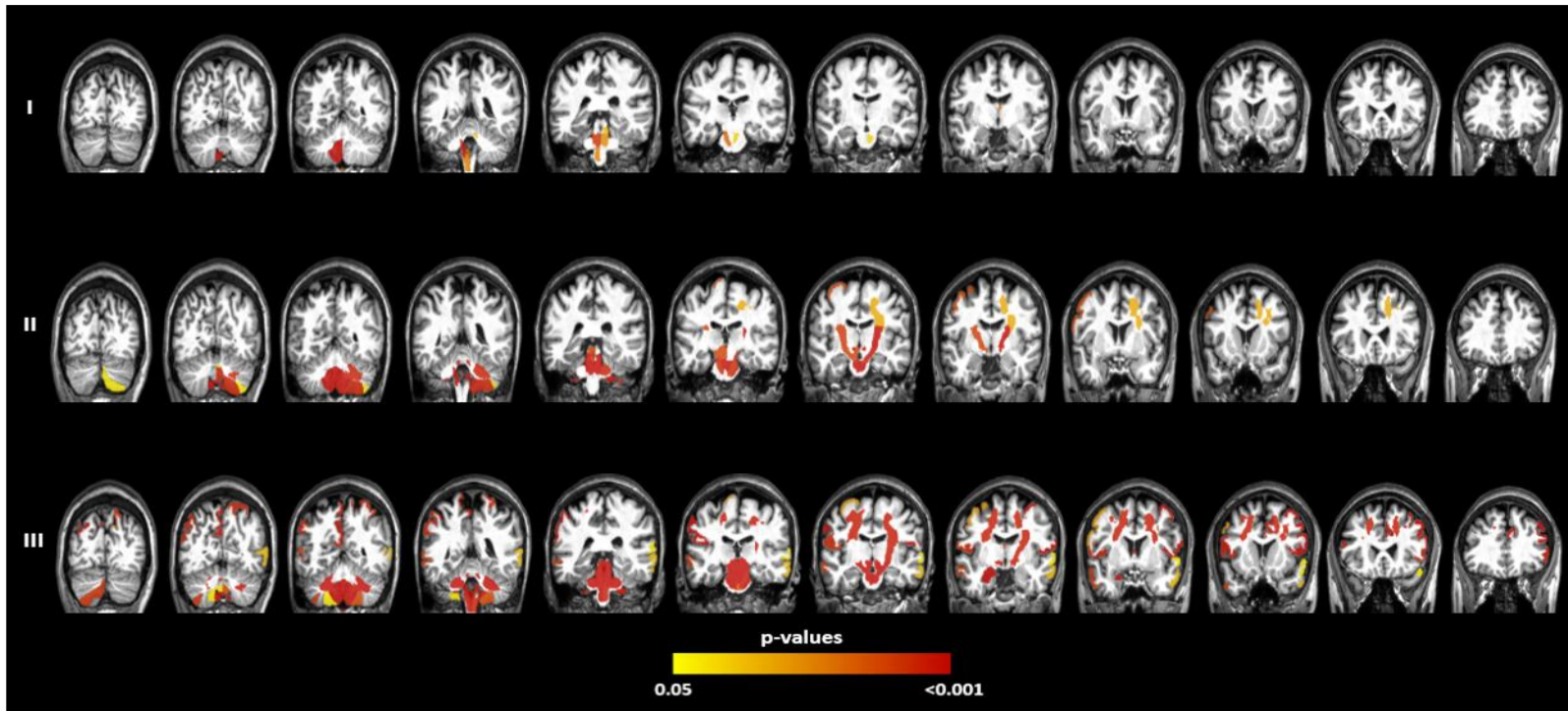


Figure 4. Analysis of disease course, showing structural differences between SCA1 patients and controls, based on disease duration. Group 1 (I), group 2 (II) and group 3 (III). Coronal segmentation, showing results of FreeSurfer, T1-MultiAtlas, CERES and FA-DTI. Notice the pattern of damage evolution, starting in infratentorial areas and spreading to supratentorial structures, according to the disease course [For more details of the involved areas, see the **supplemental data – Tables 9-23**].

Supplemental Data

Table 1. Cross-sectional results of left cortical thickness

Area	Mean-SCA1(<i>mm</i>)	Mean-Controls(<i>mm</i>)	<i>p</i> value
Superior occipital gyrus	1.825	2.005	<0.001
Supramarginal gyrus	2.349	2.512	0.002
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	2.369	2.554	0.002
Precentral gyrus	2.440	2.660	0.002
Angular gyrus	2.270	2.442	0.003
Opercular part of the inferior frontal gyrus	2.445	2.615	0.008
Middle temporal gyrus	2.683	2.853	0.011
Precuneus	2.246	2.393	0.016
Superior parietal gyrus	1.994	2.120	0.019

Table 2. Cross-sectional results of right cortical thickness.

Area	Mean-SCA1(mm)	Mean-Controls(mm)	p value
Lateral aspect of the superior temporal gyrus	2.786	2.999	0.001
Middle frontal gyrus	2.238	2.401	0.002
Temporal plane of the superior temporal gyrus	2.216	2.443	0.002
Middle temporal gyrus	2.751	2.981	0.003
Opercular part of the inferior frontal gyrus	2.492	2.657	0.010
Triangular part of the inferior frontal gyrus	2.304	2.481	0.012
Superior parietal gyrus	1.965	2.088	0.021
Precentral gyrus	2.441	2.638	0.025
Superior occipital gyrus	1.864	1.996	0.025
Supramarginal gyrus	2.376	2.523	0.031
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	2.441	2.605	0.034
Subcentral gyrus (central operculum) and sulcus	2.441	2.586	0.037

Table 3. Cross-sectional results of deep gray matter volumes.

Area	Mean- SCA1(mm^3)	Mean- Controls(mm^3)	<i>p</i> value
Right red nucleus	269.727	348.060	<0.001
Left amygdala	1718.242	1734.484	0.004
Left red nucleus	242.818	307.909	0.021
Right amygdala	1956.303	1985.939	0.024

Table 4. Cross-sectional results of cerebellum cortical thickness.

Area	Mean-SCA1(<i>mm</i>)	Mean- Controls(<i>mm</i>)	<i>p</i> value
IX right cortical thickness	2.461	3.390	<0.001
IX left cortical thickness	2.747	3.582	<0.001
X right cortical thickness	1.448	2.334	<0.001
X left cortical thickness	1.300	1.926	<0.001
Cerebellum right cortical thickness	4.443	4.640	<0.001
VIIIA right cortical thickness	4.524	4.763	<0.001
Cerebellum left cortical thickness	4.398	4.562	<0.001
VIIIB left cortical thickness	3.875	4.341	<0.001

VIIB right cortical thickness	4.507	4.828	0.001
VIIIB right cortical thickness	3.871	4.365	0.001
VIIIA left cortical thickness	4.434	4.625	0.007
VIIB left cortical thickness	4.601	4.781	0.015

Table 5. Cross-sectional results of white matter. Fractional Anisotropy (FA).

Area	Mean-SCA1	Mean-Controls	<i>p</i> value
Medial Lemniscus-right	0.466	0.546	<0.001
Inferior Cerebellar Peduncle-right	0.415	0.514	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-right	0.462	0.541	<0.001
Medial Lemniscus-left	0.476	0.556	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-left	0.470	0.543	<0.001
Corticospinal Tract-right	0.491	0.547	<0.001
Pontine Crossing Tract-left	0.436	0.488	<0.001
Cerebral Peduncle-left	0.614	0.672	<0.001
Pontine Crossing Tract-right	0.417	0.469	<0.001
Corticospinal Tract-left	0.508	0.566	<0.001
Cerebral Peduncle-right	0.612	0.659	<0.001
Medulla-right	0.418	0.451	<0.001
Fornix-right	0.501	0.563	<0.001

Posterior Limb Internal Capsule-left	0.639	0.671	<0.001
Midbrain-right	0.420	0.452	<0.001
Medulla-left	0.411	0.441	<0.001
Fornix-left	0.410	0.461	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-left	0.485	0.520	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-right	0.477	0.510	<0.001
Posterior Limb Internal Capsule-right	0.639	0.665	0.004
Midbrain-left	0.436	0.461	0.010
Superior Corona Radiata-left	0.495	0.517	0.016
Splenium Corpus Callosum-right	0.608	0.640	0.029
Reticular formation-right	0.343	0.364	0.0301
Reticular formation-left	0.351	0.379	0.0321
Superior Corona Radiata-right	0.489	0.512	0.0370
Splenium Corpus Callosum-left	0.592	0.624	0.0389

Table 6. Cross-sectional results of white matter. Axial diffusivity (AD).

Area	Mean-SCA1	Mean-Controls	<i>p</i> value
------	-----------	---------------	----------------

Middle Cerebellar Peduncle-left	0.001	0.001	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-right	0.001	0.001	<0.001
Inferior Cerebellar Peduncle-right	0.001	0.001	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-left	0.001	0.001	<0.001
Medulla-left	0.001	0.001	<0.001
Medulla-right	0.001	0.001	<0.001
Midbrain-right	0.001	0.001	<0.001
Midbrain-left	0.001	0.001	<0.001
Fornix-left	0.002	0.002	<0.001
Reticular formation-right	0.001	0.001	<0.001
Reticular formation-left	0.001	0.001	<0.001
Fusiform gyrus-left	0.001	0.001	0.009
Rectus gyrus-left	0.001	0.001	0.040
Body Corpus Callosum- right	0.001	0.001	0.046

Table 7. Cross-sectional results of white matter. Radial diffusivity (RD).

Area	Mean-SCA1	Mean-Controls	<i>p</i> value
Inferior Cerebellar Peduncle-right	0.0008	0.0006	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-left	0.0006	0.0004	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-right	0.0006	0.0004	<0.001
Corticospinal Tract-left	0.0005	0.0004	<0.001
Medulla-right	0.0008	0.0007	<0.001
Medial Lemniscus-right	0.0007	0.0005	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-left	0.0008	0.0006	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-right	0.0009	0.0007	<0.001
Medial Lemniscus-left	0.0006	0.0005	<0.001
Corticospinal Tract-right	0.0005	0.0004	<0.001
Cerebral Peduncle-left	0.0005	0.0004	<0.001
Medulla-left	0.0008	0.0007	<0.001
Pontine Crossing Tract-left	0.0006	0.0005	<0.001
Cerebral Peduncle-right	0.0005	0.0004	<0.001
Midbrain-right	0.0007	0.0006	<0.001
Reticular formation-right	0.0007	0.0006	<0.001

Pontine Crossing Tract-right	0.0007	0.0006	<0.001
Fornix-left	0.0013	0.0011	<0.001
Posterior Limb Internal Capsule-left	0.0003	0.0003	<0.001
Fornix-right	0.0009	0.0008	<0.001
Splenium Corpus Callosum-right	0.0005	0.0004	0.002
Posterior Limb Internal Capsule-right	0.0003	0.0003	0.003
Fornix Stria Terminalis-right	0.0006	0.0005	0.003
Splenium Corpus Callosum-left	0.0005	0.0004	0.004
Body Corpus Callosum-right	0.0005	0.0004	0.009
Fornix Stria Terminalis-left	0.0006	0.0005	0.019
Body Corpus Callosum-left	0.0005	0.0005	0.027
Superior Corona Radiata-left	0.0004	0.0004	0.037
Posterior Corona Radiata-left	0.0005	0.0004	0.042

Table 8. Cross-sectional results of white matter. Medium Diffusivity (MD).

Area	Mean-SCA1	Mean-Controls	<i>p</i> value
Middle Cerebellar Peduncle-left	0.0008	0.0007	<0.001
Inferior Cerebellar Peduncle-right	0.001	0.0008	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-right	0.0008	0.0007	<0.001
Corticospinal Tract-left	0.0008	0.0007	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-left	0.001	0.0009	<0.001
Medulla-left	0.001	0.001	<0.001
Cerebral Peduncle-left	0.0009	0.0008	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-right	0.001	0.001	<0.001
Reticular formation-left	0.0009	0.0008	<0.001
Midbrain-right	0.0009	0.0008	<0.001
Midbrain-left	0.0008	0.0007	<0.001
Medial Lemniscus-left	0.0009	0.0008	<0.001
Fornix-left	0.001	0.001	<0.001
Medial Lemniscus-right	0.0009	0.0001	<0.001
Corticospinal Tract-right	0.0007	0.0007	<0.001
Pontine Crossing Tract-left	0.0008	0.0008	<0.001
Cerebral Peduncle-right	0.0008	0.0007	<0.001
Posterior Limb Internal	0.0006	0.0006	0.001

Capsule-left			
Fornix-right	0.001	0.001	0.001
Pontine Crossing Tract-right	0.0009	0.0008	0.001
Fornix Stria Terminalis-right	0.0009	0.0008	0.005
Splenium Corpus Callosum-right	0.0008	0.0008	0.007
Body Corpus Callosum-right	0.0009	0.0008	0.008
Splenium Corpus Callosum-left	0.0009	0.0008	0.018
Body Corpus Callosum-left	0.0009	0.0008	0.023
Fornix Stria Terminalis-left	0.0008	0.0008	0.041

Table 9. Disease Course. **Group 1.** Left cortical thickness.

Area	Mean Difference(<i>mm</i>)	<i>p</i> value
Superior occipital gyrus	-.148	0.201
Middle-posterior part of the cingulate gyrus and sulcus,	-.146	0.396
Middle temporal gyrus	-.138	0.417
Superior parietal gyrus	-.107	0.775
Precuneus	-.100	1.474
Angular gyrus	-.098	1.622
Supramarginal gyrus	-.084	1.823
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-.098	2.514
Subcentral gyrus and sulcus	-.092	3.032
Precentral gyrus	-.081	3.386
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.053	3.474

Table 10. Disease course. **Group 2.** Left cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
Precentral gyrus	-.314	0.013
Middle-posterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.168	0.090
Supramarginal gyrus	-.174	0.093
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.245	0.119
Angular gyrus	-.229	0.136
Superior occipital gyrus	-.180	0.214
Subcentral gyrus and sulcus	-.164	0.219
Middle temporal gyrus	-.162	0.466
Superior parietal gyrus	-.150	0.563
Precuneus	-.173	0.867
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-.114	1.302

Table 11. Disease course. **Group 3.** Left cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
Supramarginal gyrus	-.335	<0.001
Superior occipital gyrus	-.405	<0.001
Precuneus	-.277	0.002
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-.348	0.003
Angular gyrus	-.305	0.005
Subcentral gyrus and sulcus	-.312	0.006
Middle temporal gyrus	-.343	0.009
Precentral gyrus	-.334	0.029
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.240	0.064
Middle-posterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.273	0.125
Superior parietal gyrus	-.213	0.219

Table 12. Disease course. **Group 1.** Right cortical thickness.

Area	Mean Difference(mm)	p value
Middle temporal gyrus	-.174	0.112
Lateral aspect of the superior temporal gyrus	-.171	0.502
Superior occipital gyrus	-.111	0.942
Temporal plane of the superior temporal gyrus	-.142	1.263
Middle frontal gyrus	-.074	1.433
Superior parietal gyrus	-.084	1.657
Precentral gyrus	-.090	1.839
Triangular part of the inferior frontal gyrus	-.110	1.928
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-.074	3.242
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.083	3.251
Supramarginal gyrus	-.048	5.536
Subcentral gyrus and sulcus	.007	1.888

Table 13. Disease course. **Group 2.** Right cortical thickness.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
Subcentral gyrus and sulcus	-0.154	0.093
Superior occipital gyrus	-0.201	0.119
Precentral gyrus	-0.253	0.227
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-0.215	0.331
Temporal plane of the superior temporal gyrus	-0.218	0.367
Lateral aspect of the superior temporal gyrus	-0.152	0.542
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-0.151	0.620
Supramarginal gyrus	-0.126	0.938
Middle frontal gyrus	-0.118	1.183
Superior parietal gyrus	-0.114	1.400
Triangular part of the inferior frontal gyrus	-0.108	1.579
Middle temporal gyrus	-0.115	2.939

Table 14. Disease course. **Group 3.** Right cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
Opercular part of the inferior frontal gyrus	-.347	<0.001
Middle frontal gyrus	-.353	<0.001
Subcentral gyrus and sulcus	-.401	0.001
Middle-anterior part of the cingulate gyrus and sulcus	-.307	0.001
Triangular part of the inferior frontal gyrus	-.348	0.005
Superior parietal gyrus	-.300	0.005
Superior occipital gyrus	-.245	0.033
Middle temporal gyrus	-.464	0.036
Lateral aspect of the superior temporal gyrus	-.395	0.046
Supramarginal gyrus	-.301	0.132
Precentral gyrus	-.308	0.268
Temporal plane of the superior temporal gyrus	-.275	0.330

Table 15. Disease course. **Group 1.** Deep gray matter.

Area	Mean Difference(mm^3)	<i>p</i> value
Right red nucleus	-34,789	0,137
Left red nucleus	-7,538	2,798

Table 16. Disease course. **Group 2.** Deep gray matter. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm^3)	<i>p</i> value
Left red nucleus	-51,893	<0.001
Right red nucleus	-61,590	<0.001

Table 17. Disease course. **Group 3.** Deep gray matter. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm^3)	<i>p</i> value
Left red nucleus	-103,323	<0.001
Right red nucleus	-113,838	<0.001

Table 18. Disease course. **Group 1.** Cerebellum cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
IX right cortical thickness	-0.758	<0.001

Table 19. Disease course. **Group 2.** Cerebellum cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
IX right cortical thickness	-0.821	<0.001
IX left cortical thickness	-0.976	<0.001
X right cortical thickness	-1.072	<0.001
X left cortical thickness	-0.791	<0.001
VIIIB left cortical thickness	-0.691	0.004
VIIIA left cortical thickness	-0.286	0.006
Cerebellum left cortical thickness	-0.210	0.016
VIIIB left cortical thickness	-0.287	0.046

Table 20. Disease course. **Group 3.** Cerebellum cortical thickness. Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference(mm)	<i>p</i> value
X right cortical thickness	-1.326	<0.001
Cerebellum right cortical thickness	-0.322	<0.001
IX right cortical thickness	-1.166	<0.001
X left cortical thickness	-1.036	<0.001
IX left cortical thickness	-1.092	<0.001
Cerebellum left cortical thickness	-0.245	<0.001
VIIIB right cortical thickness	-0.403	0.008

VIIIB left cortical thickness	-.659	0.013
VIIIB right cortical thickness	-.600	0.045

Table 21. Disease course. **Group 1.** Fractional Anisotropy (FA). Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Inferior Cerebellar Peduncle-right	-.097	0.002
Medial Lemniscus-right	-.052	0.008
Corticospinal Tract-right	-.048	0.019
Fornix-left	-.050	0.020
Medulla-right	-.030	0.025
Medial Lemniscus-left	-.046	0.026
Superior Cerebellar Peduncle-left	-.055	0.035
Pontine Crossing Tract-left	-.039	0.040
Superior Cerebellar Peduncle-right	-.055	0.082
Medulla-left	-.025	0.196
Pontine Crossing Tract-right	-.025	0.868
Fornix-right	-.028	0.910
Corticospinal Tract-left	-.032	1.334
Middle Cerebellar Peduncle-left	-.025	1.662
Cerebral Peduncle-right	-.023	2.098
Cerebral Peduncle-left	-.026	2.207
Reticular formation-right	-.016	2.364
Middle Cerebellar Peduncle-right	-.020	3.429
Midbrain-right	-.019	3.505
Posterior Limb Internal Capsule-left	-.014	5.762

Posterior Limb Internal Capsule-right	-.011	8.267
Midbrain-left	-.011	8.658
Splenium Corpus Callosum-left	-.008	14.257
Reticular formation-left	-.007	14.786
Splenium Corpus Callosum-right	-.006	16.647
Superior Corona Radiata-left	-.002	21.490
Superior Corona Radiata-right	-.000003	26.992

Table 22. Disease course. **Group 2.** Fractional Anisotropy (FA). Significant differences between patients and controls are in bold

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Superior Cerebellar Peduncle-left	-.069	<0.001
Medial Lemniscus-right	-.077	<0.001
Medial Lemniscus-left	-.088	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-right	-.065	<0.001
Inferior Cerebellar Peduncle-right	-.090	<0.001
Posterior Limb Internal Capsule-left	-.038	<0.001
Pontine Crossing Tract-left	-.051	0.001
Pontine Crossing Tract-right	-.057	0.002
Cerebral Peduncle-left	-.046	0.002
Middle Cerebellar Peduncle-left	-.042	0.005
Corticospinal Tract-right	-.047	0.006
Corticospinal Tract-left	-.053	0.007
Posterior Limb Internal Capsule-right	-.036	0.010
Cerebral Peduncle-right	-.043	0.011
Midbrain-right	-.030	0.012
Superior Corona Radiata-left	-.032	0.032
Middle Cerebellar Peduncle-right	-.035	0.075

Medulla-left	-0.025	0.139
Superior Corona Radiata-right	-0.029	0.154
Medulla-right	-0.025	0.216
Midbrain-left	-0.022	0.383
Fornix-right	-0.049	0.505
Fornix-left	-0.037	0.842
Reticular formation-right	-0.017	1.062
Reticular formation-left	-0.030	1.075
Splenium Corpus Callosum-right	-0.025	1.957
Splenium Corpus Callosum-left	-0.024	2.068

Table 23. Disease course. **Group 3.** Fractional Anisotropy (FA). Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Superior Cerebellar Peduncle-right	-0.105	<0.001
Pontine Crossing Tract-right	-0.075	<0.001
Medial Lemniscus-right	-0.095	<0.001
Pontine Crossing Tract-left	-0.075	<0.001
Midbrain-right	-0.050	<0.001
Inferior Cerebellar Peduncle-right	-0.094	<0.001
Middle Cerebellar Peduncle-right	-0.048	<0.001
Medial Lemniscus-left	-0.093	<0.001
Corticospinal Tract-right	-0.059	<0.001
Medulla-right	-0.031	<0.001
Midbrain-left	-0.040	<0.001
Cerebral Peduncle-right	-0.063	<0.001
Cerebral Peduncle-left	-0.078	<0.001
Superior Cerebellar Peduncle-left	-0.090	0.001

Middle Cerebellar Peduncle-left	-0.051	0.001
Fornix-right	-0.085	0.002
Corticospinal Tract-left	-0.079	0.003
Superior Corona Radiata-left	-0.044	0.004
Posterior Limb Internal Capsule-left	-0.045	0.004
Superior Corona Radiata-right	-0.047	0.004
Reticular formation-right	-0.035	0.004
Medulla-left	-0.031	0.005
Reticular formation-left	-0.043	0.020
Splenium Corpus Callosum-left	-0.050	0.065
Splenium Corpus Callosum-right	-0.049	0.089
Fornix-left	-0.047	0.110
Posterior Limb Internal Capsule-right	-0.035	0.123

Table 24. Disease course. **Group 1.** Cord Area (CA). Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Cord Area	-14,428	<0.001

Table 25. Disease course. **Group 2.** Cord Area (CA). Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Cord Area	-21,751	<0.001

Table 26. Disease course. **Group 3.** Cord Area (CA). Significant differences between patients and controls are in bold.

Area	Mean Difference	<i>p</i> value
Cord Area	-26,334	<0.001

DISCUSSÃO GERAL

Este projeto teve início com a realização de um pequeno estudo acerca dos aspectos motores e não motores na SCA1, envolvendo 12 pacientes acompanhados no ambulatório de neurogenética do Hospital de Clínicas da UNICAMP no ano de 2015 (Artigo 2). Tal pesquisa proporcionou resultados interessantes que nos despertaram interesse em identificar possíveis relações com os aspectos estruturais, bem como determinar o padrão de acometimento transversal e durante o curso da enfermidade. Para tanto, foi realizada revisão bibliográfica extensa, identificando escassez de publicações sobre o assunto, principalmente no que diz respeito a possíveis correlações de achados não motores e de imagem, o que rendeu a produção do Artigo 1. Dessa forma, travou-se produtiva parceria com os responsáveis pelos ambulatórios de neurologia geral e ataxia da Escola Paulista de Medicina (UNIFESP), o que aumentou sobremaneira o número de pacientes, proporcionando a realização de estudos abrangentes (Artigo 3 e 4) que, com certeza, ajudarão a entender melhor a doença.

Aspectos Motores na SCA1

A ataxia é, sem dúvida, o sintoma mais marcante nos pacientes com SCA1, sendo responsável pela procura médica e posterior incapacidade dos pacientes. A maioria dos estudos de imagem foca suas análises no cerebelo, o qual é, sem dúvida, uma das estruturas mais acometidas (45,46). Entretanto, nossos resultados revelaram que os achados motores não se relacionam somente com o dano cerebelar, mas também a suas conexões com o núcleo rubro e à atrofia medular. Observou-se que os pacientes com SCA1, assim como outros tipos de ataxia, como Friedreich e SCA3, apresentam atrofia e achatamento antero-posterior medular (47,48). Tais achados são concordantes com aspectos neuropatológicos e neurofisiológicos, os quais refletem dano neuronal em funículo posterior (49,50). Além disso, a área medular cervical relaciona-se inversamente com tempo de doença e CAGn, sendo um possível biomarcador da enfermidade.

Alterações na substância branca infratentorial, envolvendo o tracto corticoespinal e vias ascendentes sensitivas explicam, em grande parte, achados motores comuns na SCA1, como ataxia sensitiva e reflexos aumentados, os quais

foram identificados em todos os pacientes avaliados. Quanto às outras manifestações motoras, não identificamos movimentos anormais nos pacientes, como parkinsonismo e distonia, bem como alterações nos núcleos da base. Tais achados corroboram casuísticas brasileiras de ataxia espinocerebelar (51) e análises neuropatológicas prévias (52-57).

Aspectos Não Motores na SCA1

Sintomas não motores têm sido descritos em várias desordens neurológicas relacionadas, mas avaliações sistemáticas são escassas na SCA1. O artigo 2 avaliou de forma preliminar fadiga e sonolência excessiva diurna na SCA1, revelando que tais pacientes apresentam níveis de fadiga significativamente superiores à população geral e esta se correlaciona diretamente com o tempo de doença e depressão. Em relação aos aspectos motores, é provável que exista uma relação direta com a fadiga, pois nossos resultados revelaram significância limítrofe ($p=0.06$), muito provavelmente devido ao pequeno número de pacientes avaliado ($n=12$). Esses achados revelaram que a fadiga na SCA1 é mais frequente e severa que em outras desordens relacionadas, como a ataxia de Friedreich (58).

Indivíduos com SCA1 apresentaram níveis de sonolência excessiva diurna significativamente superiores aos controles. Apesar da média do ESS ser inferior ao limite de normalidade, 25% dos pacientes apresentaram escores superiores a 10, sugerindo que distúrbios relacionados ao sono sejam um problema relevante nesta doença, como reportado por Dang D *et al.*, 2010 (59). Em relação às manifestações neuropsiquiátricas, humor deprimido foi queixa importante em nossos pacientes. Estudos anteriores retratam que indivíduos com SCA1 apresentam maior frequência de depressão e de apatia em relação aos controles (60). Ademais, Klinke *et al.* revelou estado depressivo em 50% dos pacientes com SCA1, embora nenhum paciente com níveis de depressão severa ($BDI \geq 18$) tenha sido encontrado (9). Em nossos dados, por outro lado, os escores de BDI foram anormais em 70% dos pacientes e 48% apresentaram pontuação ≥ 18 . Apesar disso, não encontramos correlações significativas com as alterações estruturais, apenas com os aspectos motores, suscitando que os sintomas depressivos sejam secundários à gravidade motora.

Quanto aos aspectos cognitivos, estudos prévios evidenciam alterações executivas, como atenção, percepção visuo-espacial, fluência verbal e memória (61-63). Em nossas análises, os déficits cognitivos ocorreram em 53% dos pacientes, envolvendo principalmente os domínios memória e fluência verbal, e essas categorias foram as únicas que se correlacionaram significativamente com os danos estruturais (amígdala e cerebelo, respectivamente). A razão VLOM, por sua vez, menor que 2.2 em 92.8% dos pacientes condiz fortemente com disfunção frontotemporal na SCA1. Além disso, o comprometimento cognitivo correlacionou-se significativamente com tempo de doença e incapacidade motora. Sabe-se que, em grande parte das desordens neurodegenerativas, distúrbios cognitivos caminham temporalmente com a evolução da doença e com aspectos motores, no entanto, não podemos dizer se na SCA1 o comprometimento cognitivo precedeu os sintomas motores, já que não avaliamos indivíduos pré-sintomáticos. Outros estudos revelam que os portadores assintomáticos têm avaliação cognitiva normal, propondo que os distúrbios cognitivos não parecem preceder a ataxia (9).

É interessante notar que o distúrbio de fluência verbal apresentou associação significativa com a atrofia do lóbulo VIIIB do hemisfério cerebelar direito. Kansal *et al.*, em estudo recente, encontrou um resultado semelhante explorando uma coorte grande e heterogênea de indivíduos com degeneração cerebelar (64). Tomados em conjunto, esses dados reforçam o conceito de que o cerebelo não deve mais ser considerado um órgão puramente motor. De fato, pacientes com lesões cerebelares focais agudas ou crônicas isoladas apresentam sintomas tipo frontal-like e parietal-like. Tal quadro é referido como síndrome afetiva cognitiva cerebelar (CCAS) (65). Estes sintomas "corticais" podem decorrer da interrupção, através de síndrome desconectiva (66) ou de disfunção na circuitaria neocerebelar-neocortical (67). É possível que o CCAS explique, pelo menos em parte, as manifestações cognitivas e comportamentais que encontramos na SCA1. A falta de correlação entre cognição e lesão cerebral argumenta a favor dessa última hipótese. Assim, como as estruturas descritas que se relacionaram aos aspectos cognitivos, é importante salientar que outras áreas consagradamente associadas a funções executivas, como corpo caloso e fórnix, apresentaram atrofia significativa, apesar da ausência de correlação com a cognição. Isto poderia ser explicado pela ausência de domínios de avaliação de

funções específicas nos testes empregados, como velocidade de processamento cognitivo e atividades motoras bimanuais.

Curso da Doença

A divisão dos pacientes em grupos de acordo com o tempo de doença permitiu avaliar, de forma temporal, características clínicas e estruturais na SCA1. Do ponto de vista clínico, houve piora substancial dos aspectos motores e cognitivos e ambos se correlacionaram significativamente com variáveis temporais. Em termos estruturais, fomos capazes de identificar prováveis alvos iniciais de lesão, como medula espinhal cervical, substância branca do tronco encefálico e lóbulo IX cerebelar. É interessante notar que, em estudo europeu longitudinal, o lóbulo IX foi a única região que se mostrou atrofiada em indivíduos pré-sintomáticos na SCA1 (68). Tal região parece ser particularmente vulnerável às ações deletérias da ataxina 1, entretanto, os mecanismos bioquímicos envolvidos ainda precisam ser elucidados. Mais tarde, com a evolução da doença, o dano se espalha cranialmente, acometendo outras regiões do cerebelo, os núcleos rubros e o córtex cerebral (começando no giro pré central). Tal padrão nos remete ao apresentado por Braak *et al.* na doença de Parkinson, onde a alfa-sinucleína se espalharia de forma caudal-cranial, levando à perda neuronal progressiva (69). Embora especulativo, pode-se ainda considerar que a ataxina-1 poderia disseminar-se transinapticamente, levando a dano neuronal progressivo semelhante ao que se vê em doença priônica (70).

Prováveis Determinantes do Dano Neuronal

Quanto aos possíveis determinantes do dano estrutural na SCA1, evidenciam-se a idade e o CAGn como os principais fatores associados. Nossos resultados transversais sugerem que as alterações morfológicas no SNC são progressivas com o tempo e que os pacientes com maiores expansões (CAG) tendem a ser mais afetados, especialmente no que diz respeito ao envolvimento cerebelar e espinhal. Em suma, parece que substância cinzenta, substância branca e medula espinhal são afetadas de forma distinta, não apenas em termos de extensão, mas também temporalmente. Esses aspectos apontam para a potencial utilidade da análise de imagem do SNC como um biomarcador na SCA1, entretanto, ainda são necessários estudos prospectivos com indivíduos pré sintomáticos, bem como avaliações longitudinais para melhor elucidação da história natural da doença.

CONCLUSÃO

1. Pacientes com SCA1 apresentam sintomas não motores importantes, como fadiga, sonolência excessiva diurna, depressão e disfunção cognitiva;
2. A fadiga nos pacientes com SCA1 correlaciona-se diretamente com aspectos motores, depressão e tempo de doença;
3. A depressão nos pacientes com SCA1 não apresenta marca estrutural e tem relação direta com aspectos motores;
4. Os distúrbios cognitivos na SCA1 envolvem principalmente domínios de fluência e memória; e dependem do tempo e da gravidade da doença;
5. As alterações de fluência e memória na SCA1 apresentam correlação direta com a atrofia do córtex cerebelar e da amígdala, repectivamente;
6. A SCA1 caracteriza-se por atrofia medular cervical e esta se correlaciona com CAGn, gravidade e tempo de doença,
7. Os sintomas motores na SCA1 dependem principalmente do dano medular cervical, cerebelar e de vias conectivas da substância branca do tronco encefálico,
8. As alterações estruturais na SCA1 iniciam-se em medula cervical, córtex cerebelar (area IX) e substância branca encefálica;
9. A progressão do dano estrutural na SCA1 parece seguir um padrão estabelecido (caudal-cranial);
10. O dano estrutural na SCA1 está relacionado a CAGn e idade.

REFERÊNCIAS

1. Bürk K, Abele M, Fetter M et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia type I clinical features and MRI in families with SCA1, SCA2 and SCA3. *Brain* 1996; 119:1497–1505
2. Bürk K, Globas C, Bösch S, Klockgether T, Zühlke C, Daum I and Dichgans J. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol* 2003; 250: 207-211.
3. Banfi S, Servadio A, Chung MY, Kwiatkowski Jr TJ, McCall AE, Duvick LA, et al. Identification and characterization of the gene causing type 1 spinocerebellar ataxia. *Nat Genet* 1994; 7: 513–20.
4. Chong SS, McCall AE, Cota J, Subramony SH, Orr HT, Hughes MR, et al. Genetic and somatic tissue-specific heterogeneity of the expanded SCA1 CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1995; 10: 344–50.
5. Orr HT, Chung M, Banfi S et al. Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. *Nat Genet* 1993; 4: 221–226.
6. Duyckearts C, Du"rr A, Cancel G, Brice A. Nuclear inclusions in spinocerebellar ataxia type 1. *Acta Neuropathol* 1999; 97:201–207.
7. Scho"ls L, Bauer P, Schmidt T et al.. Autosomal dominant cerebellar ataxias: clinical features, genetics, and pathogenesis. *Lancet Neurol* 2004; 3: 291–304.
8. Scho"ls L, Amoridis G, Bu"ttner T et al. Autosomal dominant cerebellar ataxia: phenotypic differences in genetically defined subtypes? *Ann Neurol* 1997; 42: 924–932.
9. Klinker I, Minnerop M, Schmitz-Hubsch T, Hendriks M, Klockgether T, Wullner U, Helmstaedter C. Neuropsychological features of patients with spinocerebellar ataxia (SCA) types 1, 2, 3, and 6. *Cerebellum*. 2010; 9:433–42.

Formatado: Fonte: 12 pt, Não Negrito, Inglês (Estados Unidos)

Formatado: Fonte: 12 pt, Inglês (Estados Unidos)

10. Bürk K. Cognition in hereditary ataxia. *Cerebellum* 2007;6: 280-286.
11. Kameya T, Abe K, Aoki M et al. Analysis of Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1)-related CAG trinucleotide expansion in Japan. *Neurology* 1995; 45: 1587–1594.
12. Schmitz-Hübbsch T, Coudert M, Bauer P et al. Spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. Disease severity and non ataxia symptoms. *Neurology* 2008; 71: 982–989.
13. Hanganu A, Bedetti C, Degroot C, Mejia-Constain B, Lafontaine AL, Soland V, et al. Mild cognitive impairment is linked with faster rate of cortical thinning in patients with Parkinson's disease longitudinally. *Brain* 2014; 137: 1120–9.
14. Min R, Wu G, Cheng J, Wang Q, Shen D. Multi-atlas based representations for Alzheimer's disease diagnosis. *Hum Brain Mapp* 2014; 35: 5052-70.
15. França MC, Jr., D'Abreu A, Yasuda CL, Bonadia LC, Santos da Silva M, Nucci A, Lopes-Cendes I, Cendes F. A combined voxel-based morphometry and 1H MRS study in patients with Friedreich's ataxia. *J Neurol* 2009; 256:1114–1120.
16. Lopes TM, D'Abreu A, França MC Jr, et al. Widespread neuronal damage and cognitive dysfunction in Spinocerebellar ataxia type 3. *J Neurol* 2013; 260: 2370–2379.
17. Braga-Neto P, Godeiro-Junior C, Almeida LD, Pedroso JL, Barsottini OGP, Translation and validation into Brazilian version of the scale of the assessment and rating of ataxia (SARA). *Arq Neuropsiquiatr.* 2010; 68: 228-230.
18. Mioshi E, Dawson K, Mitchell J, Arnold R, Hodges JR. The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a brief cognitive test battery for dementia screening. *Int J Geriatr Psychiatry* 2006; 21: 1078-85.
19. Carvalho VA, Caramelli P. Brazilian adaptation of the Addenbrooke's Cognitive Examination- Revised (ACE-R). *Dement Neuropsychol* 2007; 2: 212-16.
20. Pavan K, Schmidt K, Marangoni B, Mendes MF, Tilbery CP, Lianza S. Multiple sclerosis: cross-cultural adaptation and validation of modified fatigue impact scale. *Arq Neuropsiquiatr.* 2007; 65: 669-673.

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

Código de campo alterado

21. Bertolazi AN, Fagondes SC, Hoff LS, Pedro VD, Menna Barreto SS, Johns MW. Portuguese-language version of Epworth sleepiness scale: validation for use in Brazil, *J Bras Pneumol* 2009; 35: 877-883.
22. Gorenstein C, Andrade L. Validation of a portuguese version of the beck depression inventory and state-trait anxiety inventory in Brazilian subjects. *Braz J Med Biol Res.* 1996; 29: 453-457.
23. Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 11050-5.
24. Talairach J, Tournoux P. *Co-planar Stereotaxic Atlas of the Human Brain*, Thieme, NY. 1988.
25. Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans. Med. Imaging* 2001;20:70–80.
26. Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, 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.
27. Fischl B, van der Kouwe A, Destrieux C, et al. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cereb. Cortex* 2004;14:11–22.
28. Fischl B, Sereno MI, Tootell RB, Dale AM. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum. Brain Mapp.* 1999;8:272–284.
29. Fischl B, Salat DH, Busa E, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 2002;33:341–355.
30. Tustison NJ, Avants BB, Cook PA, et al. N4ITK: improved N3 bias correction. *IEEE Trans Med Imaging* 2010;29:1310 – 1320.
31. Tang X, Crocetti D, Kuttan K, et al. Segmentation of brain magnetic resonance images based on multi-atlaslikelihood fusion: testing using data with a broad range of anatomical and photometric profiles. *Front Neurosci.* 2015;3:9:61

32. Miller MI, Beg MF, Ceritoglu C, Stark C. Increasing the power of functional maps of the medial temporal lobe by using large deformation diffeomorphic metric mapping. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005;102:9685–9690.
33. Wang H, Pouch M, Takabe B, et al. "Multi-atlas segmentation with robust label transfer and label fusion." *Inf Process Med Imaging* 2013;23: 548-559.
34. Djamanakova A, Tang X, Li X, et al. Tools for multiple granularity analysis of brain MRI data for individualized image analysis. *Neuroimage* 2014;101:168-76.
35. Wu D, Ma T, Ceritoglu C et al. Resource atlases for multi-atlas brain segmentations with multiple ontology levels based on T1-weighted MRI. *Neuroimage*. 2016;125:120-30.
36. Towns J, Cockerill T, Dahan M, et al. XSEDE: accelerating scientific discovery. *Comput Sci Eng* 2014;16:13.
37. Romero JE, Coupé P, Giraud R, et al. CERES: A new cerebellum lobule segmentation method. *Neuroimage*. 2017;147:916-924.
38. Coupé P, Manjón JV, Fonov V, et al. Patch-based Segmentation using Expert Priors: application to Hippocampus and Ventricle Segmentation. *NeuroImage* 2011;54:940–954.
39. Zhuang J, Hrabec J, Kangarlou A, et al. Correction of eddy-current distortions in diffusion tensor images using the known directions and strengths of diffusion gradients. *J. Magn. Reson. Imaging* 2006;24:1188–1193.
40. Jiang H, van Zijl PC, Kim J, et al. DtiStudio: resource program for diffusion tensor computation and fiber bundle tracking. *Comput. Methods Prog. Biomed.* 2006;81:106–116.
41. Tang X, Shoko Y, Hsu John, et al. Multi-contrast multi-atlas parcellation of diffusion tensor imaging of the human brain. *Plos One*. 2014;9;5:e96985.
42. Bergo FPG, França MCJr, Chevis CF, Cendes F. SpineSeg: A Segmentation and Measurement Tool for Evaluation of Spinal Cord Atrophy. In: *CISTI'2012 (7^a Conferencia Ibérica de Sistemas y Tecnología de Información)*. Madrid, Spain: IEEE; 2012:400 – 3.

43. Bergo FPG, Falcão AX, Miranda PAV, et al. Automatic image segmentation by tree pruning. *J Math Imaging Vis* 2007; 29:141-62.
44. Branco LM, De Albuquerque M, De Andrade HM, Bergo FP, Nucci A, França Jr MC. Spinal cord atrophy correlates with disease duration and severity in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener*. 2014;15:93–7.
45. Klockgether T, Lüdtke R, Kramer B, Abele M, Bürk K, Schöls L, et al. The natural history of degenerative ataxia: a retrospective study in 466 patients. *Brain*. 1998;121: 589–600.
46. Wüllner U, Reimold M, Abele M, Bürk K, Minnerop M, Dohmen BM, et al. Dopamine transporter positron emission tomography in spinocerebellar ataxia type 1, 2, 3, and 6. *Arch Neurol*. 2005;62: 1280–5.
47. Fahl CN, Branco LM, Bergo FP, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, França Jr MC. Spinal cord damage in Machado-Joseph disease. *Cerebellum*. 2015;14(2):128–32.
48. Chevis CF, da Silva CB, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, Cendes F, França Jr MC, et al. Spinal cord atrophy correlates with disability in Friedreich's ataxia. *Cerebellum*. 2013;12:43–7.
49. Yokota T, Sasaki H, Iwabuchi K, Shiojiri T, Yoshino A, Otagiri A, et al. Electrophysiological features of central motor conduction in spinocerebellar atrophy type 1, type 2, and Machado-Joseph disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1998;65:530–4.
50. Liang L, Chen T, Wu Y. The electrophysiology of spinocerebellar ataxias. *Neurophysiol Clin*. 2016;46:27–34.
51. de Castilhos RM, Furtado GV, Gheno TC, Schaeffer P, Russo A, Barsottini O, Pedroso JL, Salarini DZ, et al. Spinocerebellar ataxias in Brazil frequencies and modulating effects of related genes. *Cerebellum*. 2014; 13: 17-28.
52. Schulz JB, Borkert J, Wolf S, et al. Visualization, quantification and correlation of brain atrophy with clinical symptoms in spinocerebellar ataxia types 1, 3 and 6. *Neuroimage* 2010; 49: 158–68.

Código de campo alterado

53. Reetz K, Costa AS, Mirzazade S, et al; Ataxia Study Group Investigators. Genotype specific patterns of atrophy progression are more sensitive than clinical decline in SCA1, SCA3 and SCA6. *Brain*. 2013; 136: 905–17.

54. Rüb U, Bürk K, Timmann D, den Dunnen W, Seidel K, Farrag K, Brunt E, Heinsen H, Egensperger R, Bornemann A, Schwarzacher S, Korf HW, Schöls L, Bohl J, Deller T. Spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1): new pathoanatomical and clinicopathological insights. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2012; 38:665-80.

Formatado: Fonte: (Padrão) Arial, Inglês (Estados Unidos)

55. Seidel K. *et al*. Brain pathology of spinocerebellar ataxias. *Acta Neuropathol* 2012; 124: 1–21.

56. Mandelli M L, De Simone T, Minati L, Bruzzone MG, Mariotti C, Fancellu R, Savoiaro M, Grisoli M. Diffusion tensor imaging of spinocerebellar ataxias types 1 and 2. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2007; 28: 1996–2000.

57. Della Nave R, Ginestroni A, Tessa C, Salvatore E, De Grandis D, Plasmati R, Salvi F, De Michele G, Dotti MT, Piacentini S, Mascalchi M. Brain white matter damage in SCA1 and SCA2. An in vivo study using voxel-based morphometry, histogram analysis of mean diffusivity and tract-based spatial statistics. *Neuroimage*. 2008; 43: 10–9.

58. da Silva CB, Chevis CF, D'Abreu A, Lopes-Cendes I, França Jr. MC, Fatigue is frequent and multifactorial in Friedreich's ataxia. *Park Relat Disord*. 2013; 19: 766e767.

Formatado: Inglês (Estados Unidos)

59. Dang D, Cunnington D. Excessive daytime somnolence in spinocerebellar ataxia type 1. *J Neurol Sci*. 2010; 290: 146e147.

60. Fancellu R, Paridi D, Tomasello C, Panzeri M, Castaldo A, Genitrini S, Soliveri P and Girotti F. Longitudinal study of cognitive and psychiatric functions in spinocerebellar ataxia types 1 and 2. *J Neurol* 2013; 260: 3134-3143.

61. Bürk K, Bösch S, Globas C, Zühlke C, Daum I, Klockgether T and Dichgans J. Executive dysfunction in spinocerebellar ataxia type 1. *Eur Neurol* 2001; 46: 43-8.

62. Bürk K, Globas C, Bösch S, Klockgether T, Zühlke C, Daum I and Dichgans J. Cognitive deficits in spinocerebellar ataxia type 1, 2, and 3. *J Neurol* 2003; 250: 207-211.

63. Ma J, Wu C, Lei J, Zhang X. Cognitive impairments in patients with spinocerebellar ataxia types 1, 2 and 3 are positively correlated to the clinical severity of ataxia symptoms. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 5765–71.
64. Kansal K, Yang Z, Fishman A M, et al. Structural cerebellar correlates of cognitive and motor dysfunctions in cerebellar degeneration. *Brain* 2017; 140; 707–720.
65. Schmahmann J D, Sherman J C. The cerebellar cognitive affective syndrome. *Brain* 1998; 121: 561–579.
66. Schmahmann JD, Pandya DN. Disconnection syndromes of basal ganglia, thalamus, and cerebrocerebellar systems. *Cortex* 2008; 44: 1037–1066.
67. Schmahmann JD. Disorders of the cerebellum: Ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences* 2004; 16: 367–378.
68. Jacobi H, Reetz K, du Montcel ST, et al. Biological and clinical characteristics of individuals at risk for spinocerebellar ataxia types 1, 2, 3, and 6 in the longitudinal RISCA study: analysis of baseline data. *Lancet Neurol* 2013; 12: 650–58.
69. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003; 24: 197–211.
70. Freundt EC, Maynard N, Clancy EK, Roy S, Bousset L, Sourigues Y, Covert M, Melki R, Kirkegaard K, Brahic M. Neuron-to-neuron transmission of α -synuclein fibrils through axonal transport. *Ann Neurol*. 2012; 72:517-24.

ANEXOS

Formatado: Português (Brasil)

Formatado: Português (Brasil)

ANEXO 1: Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DANO ESTRUTURAL NA MEDULA ESPINHAL E NO ENCÉFALO NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR DO TIPO 1: CARACTERIZAÇÃO E CORRELATOS CLÍNICOS

Pesquisador: Carlos Roberto Martins Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 49976215.4.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.325.621

Apresentação do Projeto:

O pesquisador esclarece que a ataxia espinocerebelar do tipo 1 (SCA1) é uma doença neurodegenerativa cuja expressão clínica predominante é a ataxia cerebelar progressiva associada a sintomas como hiperreflexia profunda e alterações sacádicas. É causada por expansão instável de uma sequência CAG no gene ATXN1 no cromossomo 6, o que resulta no fenômeno de antecipação característico da SCA1. No Brasil, tem expressiva prevalência, chegando a ocupar a segunda posição em algumas séries, como no Serviço de Neurogenética do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, atrás somente da SCA3, colocando-a em posição de destaque, porém com poucos estudos acerca de seus aspectos clínicos e morfológicos. Em particular, pouco se sabe a respeito do impacto das manifestações não-motoras na doença, como disfunções cognitivas, fadiga, sonolência excessiva diurna e depressão. Outro ponto relevante que merece investigação é a caracterização do substrato anatômico da SCA1. O comprometimento do cerebelo e suas conexões é naturalmente bem estabelecido, mas há poucos estudos focados no dano medular e cortical cerebral, por exemplo. À medida que o fenótipo da doença se amplia, com o reconhecimento de outras manifestações, passa a ser importante este tipo de pesquisa. O presente estudo tem por objetivo avaliar os pacientes com SCA1 acompanhados no ambulatório de Neurogenética do HC/UNICAMP para melhor caracterização de aspectos clínicos e imaginológicos.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.325.621

Para tanto, serão recrutados pacientes com diagnóstico clínico e genético de SCA1, que serão submetidos à avaliação neurológica detalhada, levando em conta graduação de sintomas motores e não-motores, bem como estudo pormenorizado com técnicas avançadas de neuroimagem estrutural. Os procedimentos com os participantes constituem em exame neurológico detalhado, aplicação de escala para mensuração de sintomas motores, como a Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) no momento de aquisição das imagens. Além disso, avaliação de sintomas não-motores com escalas validadas para fadiga, como a Modified Fatigue ImpactScale (MFIS), com subdivisão física (MFIS-P), cognitiva (MFIS-C) e psicossocial (MFIS-S), sonolência excessiva diurna com Epworth Sleepiness Scale (ESS), sintomas depressivos com Beck Depression Inventory (BDI) e cognitivos com Montreal Cognitive Assessment (MoCA) e Addembrookes Cognitive Examination–Revised (ACE-R), todas validadas para a população brasileira, a fim de delinear o padrão clínico desses doentes. Além dos dados clínicos, haverá caracterização de alterações estruturais encefálicas sendo utilizadas diversas técnicas de análise de imagem para caracterizar o padrão de dano encefálico e da medula espinhal observado nos pacientes com SCA1. Encéfalo: A investigação do dano macroestrutural será realizada através da técnica de Free Surfer. Paralelamente, será utilizada a técnica chamada de tract-basedspatialstatistics (TBSS) para caracterizar as alterações microestruturais à substância branca. Medula cervical: Análise morfométrica da medula cervical. Para estas análises, será utilizado o software SpineSeg desenvolvido no laboratório de Neuroimagem – UNICAMP e previamente validado para a quantificação de medidas da medula cervical. As medições da medula cervical serão determinadas a partir de cortes obtidos perpendiculares aos limites inferiores (base) da 2ª e 3ª vértebras cervicais. O software SpineSeg realiza: 1) Refatiamento das imagens de forma perpendicular à medula 2) Segmentação da medula por método de tree-pruning semi-automático, com um único clique por corte; e 3) Ajuste automático de elipses às seções segmentadas da medula, gerando diversas medidas associadas (excentricidade, semieixos, perímetro e área). As medidas da área de secção transversa e a excentricidade da medula serão utilizadas para comparação entre pacientes com SCA1 e controles pareados.

Objetivo da Pesquisa:

Caracterizar o fenótipo e as alterações estruturais do sistema nervoso central (em pacientes com) ataxia espinocerebelar do tipo 1 (em comparação com um grupo controle). Como objetivos secundários foram descritos: Caracterizar a frequência e o impacto das manifestações não-motoras, incluindo alterações cognitivas, fadiga, depressão e sonolência excessiva diurna em pacientes com SCA1; caracterizar as alterações estruturais da medula cervical através de

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-867
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.325.621

neuroimagem na SCA1; correlacionar as alterações estruturais da medula cervical com parâmetros clínicos na SCA1; caracterizar as alterações estruturais do córtex cerebral através de neuroimagem na SCA1; e correlacionar as alterações estruturais do córtex cerebral com parâmetros clínicos na SCA1.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme discutido pelo pesquisador no TCLE, não há maiores riscos referentes ao procedimento do exame neurológico e aplicação das escalas propostas, apenas o desconforto relativo ao tempo dispendido. Quanto à ressonância magnética, o exame clínico seguirá os padrões normais da consulta neurológica, não trazendo nenhum desconforto. Apenas tempo será disponibilizado para resposta às escalas clínicas. Quanto à realização da ressonância magnética, os principais incômodos serão barulho intermitente durante a aquisição das imagens e o pequeno espaço no qual o paciente é colocado, o que pode ser desconfortável para indivíduos claustrofóbicos. Não haverá benefícios diretos aos participantes, entretanto os resultados eventualmente obtidos poderão permitir um melhor conhecimento acerca da doença e isto, no médio prazo, pode ocasionar um cuidado clínico mais efetivo, sobretudo voltado para as manifestações não-motoras, resultando em benefício coletivo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto monocêntrico, prospectivo, de caráter observacional, visando tese de doutorado de aluno de pós-graduação, sob orientação de docente desta instituição. Conta com patrocínio FAPESP. O desenho metodológico é adequado, assim como os principais aspectos éticos referentes à autonomia, voluntariedade e balanço entre beneficência e não maleficência.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Além do resumo das informações gerado pela PB com todos os itens preenchidos, foi encaminhado projeto detalhado na forma de brochura do pesquisador, folha de rosto assinada pelo pesquisador e pelo coordenador de assistência do HC/Unicamp e dois modelos do TCLE, um para os pacientes e outro para o grupo controle.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

No parecer anterior (n. 1.304.153), as seguintes pendências haviam sido listadas:

O estudo prevê a realização de procedimentos clínicos e de neuroimagem em 15 pacientes com SCA1 e em 15 indivíduos controle. Informa que os pacientes são "regularmente acompanhados no

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.325.621

ambulatório de Neurogenética do HC-UNICAMP", mas não há qualquer informação referente aos 15 indivíduos que farão parte do grupo controle que, efetivamente, também se constituem em sujeitos de pesquisa.

1. Descrever onde serão recrutados os indivíduos controle. Informar se haverá ressarcimento de despesas para que esses sujeitos compareçam ao HC/Unicamp exclusivamente para a realização dos procedimentos do estudo, uma vez que aparentemente não serão pacientes do serviço.

Resposta: Em carta resposta, a pesquisadora esclarece que Os indivíduos pertencentes ao grupo controle serão recrutados no ambulatório de Neurogenética do HC-UNICAMP e serão selecionados voluntariamente. Tais indivíduos serão acompanhantes, cônjuges ou familiares dos pacientes estudados e estarão presentes na consulta dos mesmos. Não haverá ressarcimento com despesas de transporte do voluntário, visto que os procedimentos serão realizados no dia em que já venha ao HC-UNICAMP na qualidade de acompanhante. Caso opte por vir com um acompanhante ao hospital, os pesquisadores se responsabilizarão por viabilizar o transporte do mesmo. Caso o voluntário e/ou seu acompanhante necessitem alimentar-se durante o período que vão permanecer no hospital para participação no estudo, uma refeição será fornecida pelos pesquisadores (tais informações foram adicionadas ao TCLE).

Análise: Pendência atendida.

2. Elaborar TCLE com detalhamento das informações relativo ao grupo controle ou adaptar o modelo de TCLE único que contemple ambos os braços do estudo.

Resposta: Foi elaborado modelo de TCLE voltado para o grupo controle, com todos os elementos preconizados pela resolução 466/2012.

Análise:

3. No TCLE, substituir a expressão "vantagem/vantagens" por "benefício/benefícios" (resolução 466/2012 item IV.3 letra "b").

Resposta: Substituição realizada.

Análise: Pendência atendida.

4. O TCLE menciona no item sobre benefícios e no item sobre sigilo que "Os resultados dos testes moleculares obtidos..." entretanto o projeto não prevê a realização de testes moleculares. Solicita-se esclarecer e, caso sejam realizados novos testes moleculares, adequar o projeto de forma a

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.325.621

contemplar as resoluções 340/2004 (genética humana) e 441/2011 (armazenamento de material biológico).

Resposta: Em carta resposta, o pesquisador esclarece que a pesquisa não prevê a realização de testes moleculares envolvendo genética. Todos os pacientes envolvidos na pesquisa tem o diagnóstico molecular já firmado por testes genéticos realizados previamente, durante o acompanhamento clínico no ambulatório de Neurogenética do HC-UNICAMP. Apenas realizaremos testes clínicos e de neuroimagem. As expressões que envolvem testes moleculares no TCLE foram removidas e substituídas por "testes de imagem" ou "testes clínicos".

Análise: Pendência atendida.

5. No TCLE, no item sobre responsabilidade do pesquisador, substituir a palavra "cópia" por "via" (resolução 466/2012 item IV.3 letra "f").

Resposta: Substituição efetuada.

Análise: Pendência atendida.

6. No TCLE, esclarecer se haverá ressarcimento e(ou) cobertura de despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes (resolução 466/2012 item IV.3 letra "g").

Resposta: As informações foram incorporadas nos dois modelos de TCLE.

Análise: Pendência atendida.

APROVADO APÓS RESPOSTAS ÀS PENDÊNCIAS.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O sujeito de pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado.

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado.

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

COMITÊ DE ÉTICA EM
PESQUISA DA UNICAMP -
CAMPUS CAMPINAS



Continuação do Parecer: 1.325.621

Ausência	TCLE_Modificado.pdf	09/11/2015 20:22:39	Carlos Roberto Martins Junior	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_Final.pdf	09/11/2015 20:19:13	Carlos Roberto Martins Junior	Aceito
Folha de Rosto	Projeto assinado1.pdf	28/05/2015 23:54:04		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 17 de Novembro de 2015

Assinado por:

Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador)

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo CEP: 13.083-887
UF: SP Município: CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 Fax: (19)3521-7187 E-mail: cep@fcm.unicamp.br

ANEXO 2: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CONTROLES SAUDÁVEIS

DANO ESTRUTURAL MEDULAR E CORTICAL NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR DO TIPO 1: CARACTERIZAÇÃO E CORRELATOS CLÍNICOS

Pesquisador responsável: Carlos Roberto Martins Jr.

CAAE: 49976215.4.0000.5404

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa que envolve pacientes com Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1). Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e a outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Se você não quiser participar ou retirar sua autorização, a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

Justificativa e Objetivos:

Os portadores de Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1) têm dificuldades motoras, especialmente para andar, mas também podem apresentar sintomas cognitivos como dificuldade de aprendizado, memória, cálculo, dentre outros. O objetivo da pesquisa é investigar a ocorrência e as características das alterações cognitivas em pacientes com Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1). Bem como correlacionar tais alterações com dados clínicos e exames de Neuroimagem.

Rubrica Pesquisador:

Rubrica Paciente:

Como se trata de um estudo clínico, para melhor análise desses dados necessitamos de controles, não acometidos com a doença, para avaliação cognitiva e exame de imagem (Ressonância Magnética sem contraste de medula cervical e crânio). Desta maneira, pelo fato de que NÃO SOU Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1), fui selecionado para participação como GRUPO CONTROLE, no qual os resultados dos meus exames serão utilizados como padrão de normalidade.

Procedimentos:

Participando do estudo você está sendo convidado a:

1. Ser submetido a uma entrevista onde serão feitas perguntas sobre suas condições de saúde, seus antecedentes médicos pessoais e familiares.
2. Ser submetido a exame de Ressonância Magnética sem contraste do Encéfalo e Medula Espinhal. A duração do exame é de aproximadamente 45 a 90 minutos, e deverá ser realizada em dia que eu já venha ao hospital por outros motivos, como para consulta médica.
3. Ser submetido a testes cognitivos, onde o senhor (a) será solicitado a realizar tarefas tais como: repetir determinadas palavras e frases, nomear objetos, realizar cálculos e desenhos. Os testes cognitivos terão duração total de aproximadamente 30 minutos.
4. Ser submetido a exame neurológico clínico completo com duração média de 20 minutos.

Riscos e Desconforto:

Ressonância Magnética: não deve ser realizada em pessoas que apresentem implantes metálicos no corpo (próteses, marcapasso). Este exame não representa risco para a sua saúde, mas pode ser desconfortável para pessoas com dificuldade de permanecer em locais fechados ou que apresentem incomodo quando expostas a ruídos. Como o exame será realizado sem injeção de contraste, não há risco de reações alérgicas.

Rubrica Pesquisador:**Rubrica Paciente:**

Avaliação Cognitiva e exame clínico neurológico: não possuem riscos.

Benefícios:

A participação nessa pesquisa não lhe dará nenhum benefício direto.

Ressarcimento:

Não haverá ressarcimento com despesas de transporte do voluntário, visto que os procedimentos serão realizados no dia em que já venha ao HC-UNICAMP na qualidade de acompanhante ou paciente. Caso opte por vir com um acompanhante ao hospital, os pesquisadores se responsabilizarão por viabilizar o transporte do mesmo. Caso o voluntário e/ou seu acompanhante necessitem alimentar-se durante o período que vão permanecer no hospital para participação no estudo, uma refeição será fornecida pelos pesquisadores.

Contato:

Caso queira pedir informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento, o Dr. Carlos Roberto Martins Junior estará disponível para responder minhas questões e preocupações pelos telefones (19) 3521-7754/ 3521-9217, por email: carlosrobertomjr@gmail.com, ou pessoalmente no Hospital de Clínicas da UNICAMP no setor de Ambulatório de Neurologia (2º andar do HC/UNICAMP). O Hospital está localizado na Rua Vital Brasil, 251, Cidade Universitária, Campinas-SP; CEP 13083-888.

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você pode entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP das 08:30 h às 11:30 h e das 13:00 h as 17:00 h na Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936; fax (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br

Rubrica Pesquisador:

Rubrica Paciente:

Recusa ou descontinuação da participação:

SUA PARTICIPAÇÃO É VOLUNTÁRIA E A RECUSA DE PARTICIPAÇÃO OU RETIRADA DO SEU CONSENTIMENTO INTERROMPENDO A SUA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO PODEM SER FEITOS A QUALQUER MOMENTO, SEM COMPROMETER OS CUIDADOS MÉDICOS ATUAIS OU FUTURAMENTE RECEBIDO NO HC- UNICAMP.

Sigilo e privacidade:

Todas as informações médicas decorrentes desse projeto de pesquisa farão parte do seu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC- UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica. Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante: _____

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do participante)

Responsabilidade do Pesquisador:**Rubrica Pesquisador:****Rubrica Paciente:**

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____.

(Assinatura do pesquisador)

Carlos Roberto Martins Junior

Email.: carlosrobertomjr@gmail.com Tel.: (19) 35219217 / 3521-7754

Hospital das Clínicas da Unicamp - Departamento de Neurologia - Rua: Zeferino Vaz, 251 Cidade

Universitária "Zeferino Vaz" - Campinas - SP – Brasil. CEP: 13083-888

Outros Membros da Equipe:

1) Marcondes C. França Jr.

Email: mcfrancajr@uol.com.br Tel: (19) 3521-7754; 3521-9217

Faculdade de Ciências Médicas - Departamento de Neurologia - Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126

Cidade Universitária "Zeferino Vaz" - Campinas - SP – Brasil. CEP: 13083-887

Qualquer intercorrência médica, ligar para um dos membros da equipe.

Rubrica Pesquisador:

Rubrica Paciente:

FORMULÁRIO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto pesquisa: DANO ESTRUTURAL MEDULAR E CORTICAL NA ATAXIA ESPINOCEREBELAR DO TIPO 1: CARACTERIZAÇÃO E CORRELATOS CLÍNICOS

Investigador principal: Carlos Roberto Martins Junior

OBJETIVO DA PESQUISA:

Eu entendo que fui convidado (a) a participar em um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com diagnóstico de Ataxia Espinocerebelar tipo 1 (SCA1). O objetivo geral do estudo é determinar os aspectos clínicos e de imagem nesses pacientes. Esses estudos poderão levar ao melhor entendimento das características clínicas e imaginológicas nos pacientes com SCA1, o que pode repercutir em uma melhor abordagem da doença com conseqüente melhora na qualidade de vida. As informações médicas a meu respeito, bem como a respeito de minha família que forem obtidas para esse estudo, poderão ser compartilhadas com outros pesquisadores que trabalham com ataxia espinocerebelar tipo 1, podendo assim ser utilizadas eventualmente para outros fins de pesquisa sobre essa doença. O sigilo será mantido em todos os estudos colaborativos através da utilização de um número de código para a identificação dos indivíduos participantes.

PROCEDIMENTO:

Eu entendo que se concordar em participar desse estudo, os pesquisadores participantes farão perguntas a respeito dos meus antecedentes médicos e familiares. Eu serei submetido a um exame físico neurológico para confirmar meu estado clínico. Responderei a alguns questionamentos de escalas de avaliação clínica para sintomas motores e não-motores na SCA1. Serei submetido a exame de ressonância nuclear magnética do crânio para posterior avaliação das imagens. Por um dispositivo poderei me comunicar com as pessoas responsáveis pelo exame. Durante todo o tempo, o pessoal médico e paramédico poderá me ver e ouvir e o exame poderá ser parado a qualquer momento se for preciso (por exemplo, se durante o exame eu me sentir mal ou desconfortável). O exame pode durar entre 45 a 90 minutos. Serei reavaliado clinicamente nas consultas do ambulatório em cada retorno pré-agendado. Os

procedimentos mencionados acima serão realizados dentro de dois anos após o meu consentimento em participar do estudo. Hospitalização não será necessária.

RISCO E DESCONFORTO:

O exame clínico seguirá os padrões normais da consulta neurológica, não trazendo nenhum desconforto. Apenas tempo será disponibilizado para resposta às escalas clínicas. Quanto à realização da ressonância magnética os principais incômodos serão barulho intermitente durante a aquisição das imagens e o pequeno espaço no qual o paciente é colocado, o que pode ser desconfortável para indivíduos claustrofóbicos.

BENEFÍCIOS:

Os resultados dos testes de neuroimagem obtidos serão disponíveis através do meu acompanhamento no Ambulatório de Neurogenética que funciona toda sexta-feira das 13:00 as 18:30hs no 2o andar do Hospital de Clínicas (HC) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), tel. (019) 3521-7754. Esse Ambulatório oferece um atendimento multidisciplinar com a participação de geneticista clínico, neurologista, psicólogo(a), assistente social e fisioterapeuta. É importante salientar que qualquer membro da minha família que desejar obter orientações quanto à doença poderá ser atendido no Ambulatório de Neurogenética do HC-UNICAMP.

SIGILO:

Eu entendo que toda informação médica, assim como os resultados dos testes de imagem decorrentes desse projeto de pesquisa, farão parte do meu prontuário médico e serão submetidos aos regulamentos do HC-UNICAMP referentes ao sigilo da informação médica. Se os resultados ou informações fornecidas forem utilizados para fins de publicação científica, nenhum nome será utilizado.

FORNECIMENTO DE INFORMAÇÃO ADICIONAL:

Eu entendo que posso requisitar informações adicionais relativas ao estudo a qualquer momento. O Dr Carlos Roberto Martins Junior ou Dr Marcondes C. França Jr, tel 19-3521-7754, estarão disponíveis para responder minhas questões e preocupações. Em caso de recurso, dúvidas ou reclamações devo entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas-UNICAMP, Fone/Fax: (19) 3521-8936; (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br; endereço: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP); Faculdade de Ciências Médicas (FCM); Comitê de Ética em Pesquisa (CEP); Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; Distrito de Barão Geraldo; Campinas – SP; CEP: 13083-887.

RESSARCIMENTO:

Não haverá ressarcimento e(ou) cobertura de despesas tidas pelos participantes da pesquisa e dela decorrentes.

RECUSA OU DESCONTINUAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO:

Eu entendo que a minha participação é voluntária e que eu posso me recusar a participar ou retirar meu consentimento e interromper a minha participação no estudo a qualquer momento sem comprometer os cuidados médicos que recebo atualmente ou receberei no futuro no HC-UNICAMP. Eu reconheço também que o Dr Carlos Roberto Martins Junior ou Dr Marcondes Cavalcante França Jr podem interromper a minha participação nesse estudo a qualquer momento que julgarem apropriado. Eu confirmo que o(a)

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

Nome do participante ou responsável

Assinatura do participante ou responsável data

Nome da testemunha

Assinatura da testemunha data

RESPONSABILIDADE DO PESQUISADOR:

Eu expliquei a

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

Nome do pesquisador ou associado

ANEXO 3: Escalas Clínicas Utilizadas

3.1 - Scale for the assessment and rating of 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 direção oposta da marcha) e (2) andar pé-ante-pé sem apoio.

0 Normal, sem dificuldade 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 com uma bengala ou apoio leve de um braço

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

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

8 Incapaz de andar mesmo com apoio

Pontuação:

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 olhos permanecerem 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 s

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

2 Capaz de permanecer em pé com os pés juntos por > 10 s, mas somente com desvios

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

4 Capaz de permanecer em pé por > 10 s na posição natural somente com apoio intermitente

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

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

Pontuação:

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 em sentar > 10s

1 Discretas dificuldades, desvios leves

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

3 Capaz de sentar > 10 s somente com apoio intermitente

4 Incapaz de sentar > 10 s sem um apoio constante

Pontuação:

4) Distúrbios da fala

A fala é avaliada durante uma conversação 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

Pontuação:**5) Teste de perseguição do dedo****Cada lado avaliado isoladamente**

O paciente permanece confortavelmente sentado. Se necessário, é permitido o apoio dos pés e do tronco. O examinador senta em frente do paciente e realizar 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 < 5 cm
- 2 Dismetria, não atingir ou ultrapassar o alvo < 15 cm
- 3 Dismetria, não atingir ou ultrapassar o alvo > 15 cm
- 4 Incapaz de realizar os 5 movimentos

Pontuação: direito: esquerdo:**Média dos dois lados (D + E / 2):****6) Teste index-nariz****Cada lado 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

esta 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 < 2 cm
- 2 Tremor com uma amplitude < 5 cm
- 3 Tremor com uma amplitude > 5 cm
- 4 Incapaz de realizar os 5 movimentos

Pontuação: direito: esquerdo:**Média dos dois lados (D + E / 2):****7) Movimentos alternados e rápidos das mãos****Cada lado avaliado isoladamente**

O 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 alternância pronação e supinação em suas coxas o mais rápido e preciso possível. O movimento é demonstrado ao paciente há aproximadamente 10 ciclos em 7 segundos. O tempo exato para execução do movimento deverá ser obtido.

- 0 Normal, sem irregularidades (realiza < 10s)
- 1 Discretamente irregular (realiza < 10s)
- 2 Claramente irregular, difícil de distinguir movimentos individuais ou interrupções relevantes, mas realiza < 10 s
- 3 Muito irregular, difícil de distinguir movimentos individuais ou interrupções relevantes, realiza > 10s
- 4 Incapaz de completar 10 ciclos

Pontuação: direito: esquerdo:**Média dos dois lados (D + E / 2):****8) Manobra calcanhar-joelho****Cada lado 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 s. 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

Pontuação: direito: esquerdo:

Média dos dois lados (D + E /2):






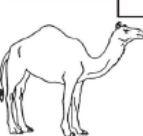
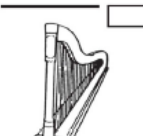
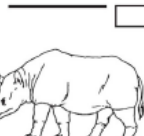

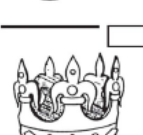

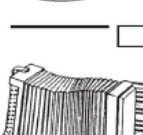
TOTAL:

3.2 – Escala de Addenbrooke revisada (ACE-R)


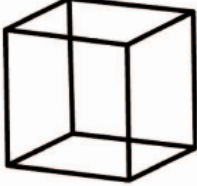
EXAME COGNITIVO DE ADDENBROOKE - VERSÃO REVISADA						
Título original: Addenbrooke's Cognitive Examination - Revised (ACE-R)						
Referências bibliográficas - Versão original: Mioshi E, Dewson K, Mitchell J, Arnold R, Hodges JR. The Addenbrooke's Cognitive Examination Revised (ACE-R): a brief cognitive test battery for dementia screening. Int J Geriatr Psychiatry 2006; 21:1 078-85. Versão adaptada: Amaral Carvalho V & Caramelli P. Brazilian adaptation of the Addenbrooke's Cognitive Examination-Revised. Dementia & Neuropsychologia 2007; 2: 212-216.						
Nome:	Data da avaliação:.....h.....h.....		Nome do examinador:.....			
Data de nascimento:	Nome do examinador:.....		Escolaridade:.....			
Nome do Hospital:	Nome do examinador:.....		Profissão:.....			
Nome do Hospital:		Nome do examinador:.....		Dominância manual:.....		
ORIENTAÇÃO						
➤ Perguntar: Qual é	Dia da semana	O dia do mês	O mês	O ano	A hora aproximada	[Escore 0-5] <input type="text"/>
➤ Perguntar: Qual é	Local específico	Local genérico	Bairro ou rua próxima	Cidade	Estado	[Escore 0-5] <input type="text"/>
REGISTRO						
➤ Diga: "Eu vou dizer três palavras e você irá repeti-las a seguir: carro, vaso, tijolo" (Dar um ponto para cada palavra repetida acertadamente na 1ª vez, embora possa repeti-las até três vezes para o aprendizado, se houver erros). Use palavras não relacionadas. Registre o número de tentativas:.....						[Escore 0-3] <input type="text"/>
ATENÇÃO & CONCENTRAÇÃO						
➤ Subtração de setes seriadamente (100-7, 93-7, 86-7, 79-7, 72-7, 65). Considere um ponto para cada resultado correto. Se houver erro, corrija-o e prossiga. Considere correto se o examinando espontaneamente se corrigir. Pare após 5 subtrações (93, 86, 79, 72, 65):						[Escore 0-5] <input type="text"/>
MEMÓRIA - Recordação						
➤ Pergunte quais as palavras que o indivíduo acabara de repetir. Dar um ponto para cada						[Escore 0-3] <input type="text"/>
MEMÓRIA - Memória anterógrada						
➤ Diga: " Eu vou lhe dar um nome e um endereço e eu gostaria que você repetisse depois de mim. Nós vamos fazer isso três vezes, assim você terá a possibilidade de aprendê-los. Eu vou lhe perguntar mais tarde." Pontuar apenas a terceira tentativa:						[Escore 0-7] <input type="text"/>
	1ª Tentativa	2ª Tentativa	3ª Tentativa			
Renato Moreira			
Rua Bela Vista 73			
Santarém			
Pará			
MEMÓRIA - Memória Retrógrada						
➤ Nome do atual presidente da República.....						[Escore 0-4] <input type="text"/>
➤ Nome do presidente que construiu Brasília.....						
➤ Nome do presidente dos EUA.....						
➤ Nome do presidente dos EUA que foi assassinado nos anos 60.....						

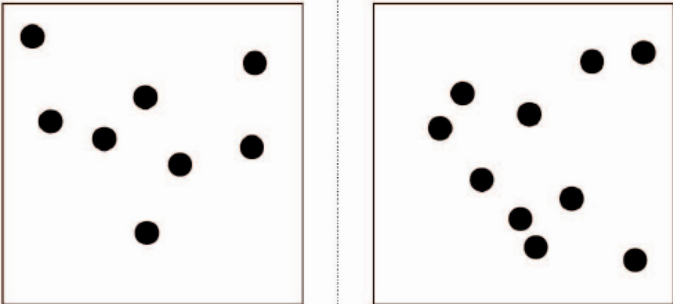
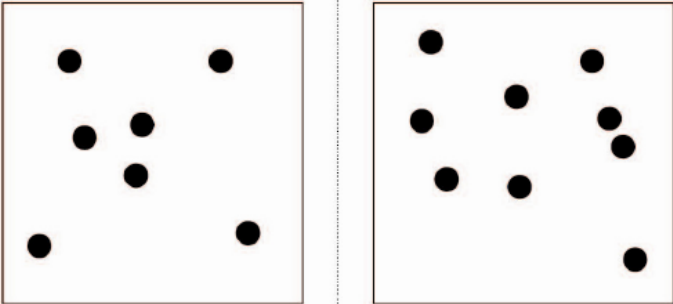
EXAME COGNITIVO DE ADDENBROOKE - VERSÃO REVISADA

FLUÊNCIA VERBAL – Letra "P" e Animais					F L U E N C I A																		
<p>➤ Letras</p> <p>Diga: "Eu vou lhe dizer uma letra do alfabeto e eu gostaria que você dissesse o maior número de palavras que puder começando com a letra, mas não diga nomes de pessoas ou lugares. Você está pronto(a)? Você tem um minuto e a letra é "P".</p>				[Escore 0-7] <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/>																			
0-15 seg	16-30 seg	31-45 seg	46-60 seg	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: small;"> <tr><td style="text-align: right;">>17</td><td style="text-align: left;">7</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">14-17</td><td style="text-align: left;">6</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">11-13</td><td style="text-align: left;">5</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">8-10</td><td style="text-align: left;">4</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">6-7</td><td style="text-align: left;">3</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">4-5</td><td style="text-align: left;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">2-3</td><td style="text-align: left;">1</td></tr> <tr><td style="text-align: right;"><2</td><td style="text-align: left;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">total</td><td style="text-align: left;">acertos</td></tr> </table>		>17	7	14-17	6	11-13	5	8-10	4	6-7	3	4-5	2	2-3	1	<2	0	total	acertos
>17	7																						
14-17	6																						
11-13	5																						
8-10	4																						
6-7	3																						
4-5	2																						
2-3	1																						
<2	0																						
total	acertos																						
<p>➤ Animais</p> <p>Diga: "Agora você poderia dizer o maior número de animais que conseguir, começando com qualquer letra?"</p>				[Escore 0-7] <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/>																			
0-15 seg	16-30 seg	31-45 seg	46-60 seg	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse; font-size: small;"> <tr><td style="text-align: right;">>21</td><td style="text-align: left;">7</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">17-21</td><td style="text-align: left;">6</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">14-16</td><td style="text-align: left;">5</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">11-13</td><td style="text-align: left;">4</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">9-10</td><td style="text-align: left;">3</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">7-8</td><td style="text-align: left;">2</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">5-6</td><td style="text-align: left;">1</td></tr> <tr><td style="text-align: right;"><5</td><td style="text-align: left;">0</td></tr> <tr><td style="text-align: right;">total</td><td style="text-align: left;">acertos</td></tr> </table>	>21	7	17-21	6	14-16	5	11-13	4	9-10	3	7-8	2	5-6	1	<5	0	total	acertos	
>21	7																						
17-21	6																						
14-16	5																						
11-13	4																						
9-10	3																						
7-8	2																						
5-6	1																						
<5	0																						
total	acertos																						
LINGUAGEM - Compreensão																							
<p>➤ Mostrar a instrução escrita e pedir ao indivíduo para fazer o que está sendo mandado (não auxilie se ele pedir ajuda ou se só ler a frase sem realizar o comando):</p>				[Escore 0-1] <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/>																			
Feche os olhos																							
<p>➤ Comando : " Pegue este papel com a mão direita, dobre-o ao meio e coloque -o no chão." Dar um ponto para cada acerto. Se o indivíduo pedir ajuda no meio da tarefa não dê dicas.</p>				[Escore 0-3] <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/>																			
LINGUAGEM - Escrita																							
<p>➤ Peça ao indivíduo para escrever uma frase: Se não compreender o significado, ajude com: <i>alguma frase que tenha começo, meio e fim; alguma coisa que aconteceu hoje; alguma coisa que queira dizer.</i> Para a correção não são considerados erros gramaticais ou ortográficos. Dar um ponto.</p>				[Escore 0-1] <input style="width: 30px; height: 20px;" type="text"/>																			
L I N G U A G E M																							





L I N G U A G E M - Repetição			
<p>➤ Peça ao indivíduo para repetir: "hipopótamo"; "excentricidade"; "ininteligível"; "estatístico". Diga uma palavra por vez e peça ao indivíduo para repetir imediatamente depois de você. Pontue 2, se todas forem corretas; 1, se 3 forem corretas; 0, se 2 ou menos forem corretas.</p>	[Escore 0-2] <input type="text"/>		
<p>➤ Peça ao indivíduo que repita: "Acima, além e abaixo"</p>	[Escore 0-1] <input type="text"/>		
<p>➤ Peça ao indivíduo que repita: " Nem aqui, nem ali, nem lá"</p>	[Escore 0-1] <input type="text"/>		
L I N G U A G E M - Nomeação			
<p>➤ Peça ao indivíduo para nomear as figuras a seguir:</p>	[Escore 0-2] caneta + relógio <input type="text"/>	L I N G U A G E M	
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
	<input type="text"/>		
<p>[Escore 0-10] <input type="text"/></p>			
L I N G U A G E M - Compreensão			
<p>➤ Utilizando as figuras acima, peça ao indivíduo para:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Apontar para aquela que está associada com a monarquia _____ • Apontar para aquela que é encontrada no Pantanal _____ • Apontar para aquela que é encontrada na Antártica _____ • Apontar para aquela que tem uma relação náutica _____ 	[Escore 0-4] <input type="text"/>		

EXAME COGNITIVO DE ADDENBROOKE - VERSÃO REVISADA

LINGUAGEM - Leitura		L I N G U A G E M
<p>➤ Peça ao indivíduo para ler as seguintes palavras: [Pontuar com 1, se todas estiverem corretas]</p> <p style="text-align: center;">táxi testa saxofone fixar ballet</p>	[Escore 0-1] <input type="text"/>	
HABILIDADES VISUAIS-ESPACIAIS		V I S U A L - E S P A C I A L
<p>➤ Pentágonos sobrepostos: Peça ao indivíduo para copiar o desenho e para fazer o melhor possível.</p>	[Escore 0-1] <input type="text"/>	
		
<p>➤ Cubo: Peça ao indivíduo para copiar este desenho (para pontuar, veja guia de instruções)</p>	[Escore 0-2] <input type="text"/>	
		
<p>➤ Relógio: Peça ao indivíduo para desenhar o mostrador de um relógio com os números dentro e os ponteiros marcando 5:10 h. (para pontuar veja o manual de instruções: círculo = 1; números = 2; ponteiros = 2, se todos corretos)</p>	[Escore 0-5] <input type="text"/>	

HABILIDADES PERCEPTIVAS	
<p>> Peça ao indivíduo para contar os pontos sem apontá-los.</p>	[Score 0-4] <input type="text"/>
<input type="text"/> <input type="text"/>	V I S U A L - E S P A C I A L
	
<input type="text"/> <input type="text"/>	
	

EXAME COGNITIVO DE ADDENBROOKE - VERSÃO REVISADA

HABILIDADES PERCEPTIVAS					V I S U A L - E S P A C I A L	
> Peça ao indivíduo para identificar as letras:			[Score 0-4]	<input style="width: 30px;" type="text"/>		
						
<input style="width: 30px;" type="text"/>	<input style="width: 30px;" type="text"/>	<input style="width: 30px;" type="text"/>	<input style="width: 30px;" type="text"/>			
RECORDAÇÃO & RECONHECIMENTO					M E M Ó R I A	
> Peça "Agora você vai me dizer o que você se lembra daquele nome e endereço que nós repetimos no começo".						
Renato Moreira Rua Bela Vista 73 Santarém Pará			[Score 0-7]		<input style="width: 30px;" type="text"/>
> Este teste deve ser realizado caso o indivíduo não consiga se recordar de um ou mais itens. Se todos os itens forem recordados, salte este teste e pontue 5. Se apenas parte for recordada, assinale os itens lembrados na coluna sombreada do lado direito. A seguir, teste os itens que não foram recordados dizendo "Bom, eu vou lhe dar algumas dicas: O nome / endereço era X, Y ou Z?" e assim por diante. Cada item reconhecido vale um ponto que é adicionado aos pontos obtidos pela recordação.				[Score 0-5]		<input style="width: 30px;" type="text"/>
Ricardo Moreira	Renato Moreira	Renato Nogueira	Recordação			
Bela Vida	Boa Vista	Bela Vista	Recordação			
37	73	76	Recordação			
Santana	Santarém	Belém	Recordação			
Pará	Ceará	Paraíba	Recordação			
Escores Gerais						
				MEEM	/30	
				ACE-R	/100	
Subtotais						
				Atenção e Orientação	/18	
				Memória	/26	
				Fluência	/14	
				Linguagem	/26	
				Visual-espacial	/16	
ESCORES						

3.3 – Escala Modificada do Impacto da Fadiga (MFIS)

Fadiga é uma sensação de cansaço físico e falta de energia que muitas pessoas sentem de tempos em tempos, porém indivíduos com algumas doenças, como a Esclerose Múltipla, experimentam sensações mais intensas de fadiga, com mais frequência e com maior impacto que as demais. Há seguir há uma lista com diversos itens que descrevem os efeitos da fadiga. Por favor, leia cada um deles cuidadosamente, e então circule um número que melhor indicar como a fadiga afetou você durante as quatro últimas semanas (se precisar de ajuda para marcar suas respostas, fale para o entrevistador o número da melhor resposta). Por favor, responda todas as questões. Se você não tem certeza sobre qual resposta selecionar, escolha a resposta que está mais próxima da sua realidade. Se necessário, peça ao entrevistador para explicar algumas palavras ou frases que você não entendeu.

Por causa da minha fadiga nas quatro últimas semanas:

0 = nunca 1 = raramente 2 = poucas vezes 3 = muitas vezes 4 = sempre

1. Eu estou menos alerta.	
2. Tenho dificuldade em manter minha atenção por muito tempo.	
3. Tenho dificuldade para pensar com clareza.	
4. Estou desajeitado e incoordenado.	
5. Tenho tido esquecimentos.	
6. Tenho que me adequar nas minhas atividades físicas.	
7. Estou menos motivado para fazer qualquer atividade que solicite esforço físico.	
8. Estou menos motivado para participar de atividades sociais.	
9. Tenho sentido limitações para realizar tarefas longe de casa.	
10. Tenho problemas em manter atividades físicas por longos períodos.	
11. Eu tenho dificuldade em tomar decisões.	
12. Estou menos motivado para realizar qualquer atividade que envolva raciocínio.	
13. Meus músculos estão fracos.	
14. Tenho desconforto físico.	
15. Eu tenho dificuldade em terminar tarefas que envolvam pensamento.	
16. Eu tenho dificuldades para organizar meus pensamentos quando realizo atividades em casa ou trabalho.	
17. Eu sou menos capaz de completar tarefas que envolvam esforço físico.	
18. Meus pensamentos estão mais lentos.	
19. Tenho problemas de concentração.	
20. Tenho limitado minhas atividades físicas.	
21. Eu preciso descansar mais frequentemente ou por períodos mais longos.	

Física _____ Cognitiva _____ Psicossocial _____

3.4 – Escala de Sonolência de Epworth (ESS)

Escala de sonolência de EPWORTH (ESS-BR)

Nome: _____

Data: _____ Idade (anos) _____

Qual a probabilidade de você cochilar ou dormir, e não apenas se sentir cansado, nas seguintes situações? Considere o modo de vida que você tem levado recentemente. Mesmo que você não tenha feito algumas destas coisas recentemente, tente imaginar como elas o afetariam. Escolha o número mais apropriado para responder cada questão.

0 = nunca cochilaria
 1 = pequena probabilidade de cochilar
 2 = probabilidade média de cochilar
 3 = grande probabilidade de cochilar

Situação	Probabilidade de cochilar			
	0	1	2	3
Sentado e lendo	0	1	2	3
Assistindo TV	0	1	2	3
Sentado, quieto, em um lugar público (por exemplo, em um teatro, reunião ou palestra)	0	1	2	3
Andando de carro por uma hora sem parar, como passageiro	0	1	2	3
Sentado quieto após o almoço sem bebida de álcool	0	1	2	3
Em um carro parado no trânsito por alguns minutos	0	1	2	3

Obrigado por sua cooperação

3.5 – Inventário de Depressão de Beck (BDI)

Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira que você tem se sentido na última semana, incluindo hoje. Se várias afirmações em um grupo parecerem se aplicar igualmente bem, faça um círculo em cada uma. Tome cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha.

1.

0 Não me sinto triste.

1 Eu me sinto triste.

2 Estou sempre triste e não consigo sair disto.

3 Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.

2.

0 Não estou especialmente desanimado quanto ao futuro.

1 Eu me sinto desanimado quanto ao futuro.

2 Acho que nada tenho a esperar.

3 Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.

3.

0 Não me sinto um fracasso.

1 Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.

2 Quando olho para trás, na minha vida, tudo que posso ver é um monte de fracassos.

3 Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.

4.

0 Tenho tanto prazer em tudo como antes.

1 Não sinto mais prazer nas coisas como antes.

2 Não encontro um prazer real em mais nada.

3 Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.

5.

0 Não me sinto especialmente culpado.

1 Eu me sinto culpado grande parte do tempo.

2 Eu me sinto culpado na maior parte do tempo.

3 Eu me sinto sempre culpado.

6.

0 Não acho que esteja sendo punido.

1 Acho que posso ser punido.

2 Creio que serei punido.

3 Acho que estou sendo punido.

7.

0 Não me sinto decepcionado comigo mesmo.

1 Estou decepcionado comigo mesmo.

2 Estou enjoado de mim.

3 Eu me odeio.

8.

0 Não me sinto, de qualquer modo, pior do que os outros.

1 Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros.

2 Eu me culpo sempre por minhas falhas.

3 Eu me culpo por tudo de mau que acontece.

9.

0 Não tenho quaisquer idéias de me matar.

1 Tenho idéias de me matar, mas não as executaria.

2 Gostaria de me matar.

3 Eu me mataria se tivesse oportunidade.

10.

0 Não choro mais do que o habitual.

1 Choro mais agora do que costumava.

2 Agora, choro o tempo todo.

3 Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que queira.

11.

- 0 Não sou mais irritado agora do que já fui.
- 1 Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava.
- 2 Atualmente me sinto irritado o tempo todo.
- 3 Não me irrita mais com as coisas que costumava me irritar.

12.

- 0 Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
- 1 Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar.
- 2 Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
- 3 Perdi todo o meu interesse pelas outras pessoas.

13.

- 0 Tomo decisões tão bem quanto antes.
- 1 Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
- 2 Tenho mais dificuldade em tomar decisões do que antes.
- 3 Não consigo mais tomar decisões.

14.

- 0 Não acho que minha aparência esteja pior do que costumava ser.
- 1 Estou preocupado por estar parecendo velho ou sem atrativos.
- 2 Acho que há mudanças permanentes na minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
- 3 Acredito que pareço feio.

15.

- 0 Posso trabalhar tão bem quanto antes.

- 1 Preciso de um esforço extra para fazer alguma coisa.
- 2 Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa.
- 3 Não consigo mais fazer trabalho algum.

16.

- 0 Consigo dormir tão bem como o habitual.
- 1 Não durmo tão bem quanto costumava.
- 2 Acordo uma a duas horas mais cedo que habitualmente e tenho dificuldade em voltar a dormir.
- 3 Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.

17.

- 0 Não fico mais cansado do que o habitual.
- 1 Fico cansado com mais facilidade do que costumava.
- 2 Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
- 3 Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.

18.

0 Meu apetite não está pior do que o habitual.

1 Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser.

2 Meu apetite está muito pior agora.

3 Não tenho mais nenhum apetite.

19.

0 Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum recentemente.

1 Perdi mais de dois quilos e meio.

2 Perdi mais de cinco quilos.

3 Perdi mais de sete quilos.

Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: () sim () não.

20.

0 Não estou mais preocupado com a minha saúde do que o habitual.

1 Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição do estômago ou prisão de ventre.

2 Estou muito preocupado com meus problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa.

3 Estou tão preocupado com meus problemas físicos que não consigo pensar em qualquer coisa.

21.

0 Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo.

1 Estou menos interessado por sexo do que costumava estar.

2 Estou menos interessado em sexo atualmente.

3 Perdi completamente o interesse por sexo.

TOTAL: _____

ANEXO 4: Autorização para uso do Artigo 2



RightsLink®

[Home](#)
[Create Account](#)
[Help](#)


Title: Fatigue is frequent and severe in spinocerebellar ataxia type 1

Author: Carlos R. Martins, Alberto R.M. Martinez, Anelyssa D'Abreu, Iscia Lopes-Cendes, Marcondes C. França

Publication: Parkinsonism & Related Disorders

Publisher: Elsevier

Date: July 2015

Copyright © 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

[LOGIN](#)

If you're a copyright.com user, you can login to RightsLink using your copyright.com credentials. Already a RightsLink user or want to [learn more?](#)

Please note that, as the author of this Elsevier article, you retain the right to include it in a thesis or dissertation, provided it is not published commercially. Permission is not required, but please ensure that you reference the journal as the original source. For more information on this and on your other retained rights, please visit: <https://www.elsevier.com/about/our-business/policies/copyright#Author-rights>

[BACK](#)
[CLOSE WINDOW](#)

Copyright © 2018 Copyright Clearance Center, Inc. All Rights Reserved. [Privacy statement](#). [Terms and Conditions](#).
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com

ANEXO 5: Autorização para uso do Artigo 3

25022018

RightsLink Printable License

SPRINGER NATURE LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Feb 25, 2018

This Agreement between Mr. carlos jr ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	4296171293774
License date	Feb 25, 2018
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	The Cerebellum
Licensed Content Title	Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1
Licensed Content Author	Carlos Roberto Martins, Alberto Rolim Muro Martinez, Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende et al
Licensed Content Date	Jan 1, 2017
Licensed Content Volume	16
Licensed Content Issue	4
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	print and electronic
Portion	full article/chapter
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	<501
Author of this Springer Nature content	yes
Title	Spinal Cord Damage in Spinocerebellar Ataxia Type 1
Instructor name	Marcondes Cavalcante F. Jr.
Institution name	UNICAMP
Expected presentation date	Mar 2018
Requestor Location	Mr. carlos jr jasmin, 612
	campinas, sp 13087460 Brazil Attn: Mr. carlos jr
Billing Type	Invoice
Billing Address	Mr. carlos jr jasmin, 612
	campinas, Brazil 13087460 Attn: Mr. carlos jr
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

Springer Nature Terms and Conditions for RightsLink Permissions
Springer Customer Service Centre GmbH (the Licensor) hereby grants you a non-exclusive, world-wide licence to reproduce the material and for the purpose and

requirements specified in the attached copy of your order form, and for no other use, subject to the conditions below:

1. The Licensor warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of this material. However, you should ensure that the material you are requesting is original to the Licensor and does not carry the copyright of another entity (as credited in the published version).

If the credit line on any part of the material you have requested indicates that it was reprinted or adapted with permission from another source, then you should also seek permission from that source to reuse the material.
2. Where **print only** permission has been granted for a fee, separate permission must be obtained for any additional electronic re-use.
3. Permission granted **free of charge** for material in print is also usually granted for any electronic version of that work, provided that the material is incidental to your work as a whole and that the electronic version is essentially equivalent to, or substitutes for, the print version.
4. A licence for 'post on a website' is valid for 12 months from the licence date. This licence does not cover use of full text articles on websites.
5. Where '**reuse in a dissertation/thesis**' has been selected the following terms apply:
Print rights for up to 100 copies, electronic rights for use only on a personal website or institutional repository as defined by the Sherpa guideline (www.sherpa.ac.uk/romeo/).
6. Permission granted for books and journals is granted for the lifetime of the first edition and does not apply to second and subsequent editions (except where the first edition permission was granted free of charge or for signatories to the STM Permissions Guidelines <http://www.stm-assoc.org/copyright-legal-affairs/permissions/permissions-guidelines/>), and does not apply for editions in other languages unless additional translation rights have been granted separately in the licence.
7. Rights for additional components such as custom editions and derivatives require additional permission and may be subject to an additional fee. Please apply to Journalpermissions@springernature.com/bookpermissions@springernature.com for these rights.
8. The Licensor's permission must be acknowledged next to the licensed material in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figures/tables/illustrations or abstract, and must be hyperlinked to the journal/book's homepage. Our required acknowledgement format is in the Appendix below.
9. Use of the material for incidental promotional use, minor editing privileges (this does not include cropping, adapting, omitting material or any other changes that affect the meaning, intention or moral rights of the author) and copies for the disabled are permitted under this licence.
10. Minor adaptations of single figures (changes of format, colour and style) do not require the Licensor's approval. However, the adaptation should be credited as shown in Appendix below.

Appendix — Acknowledgements:

For Journal Content:

Reprinted by permission from **[the Licensor]: [Journal Publisher** (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] **[JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION** (Article name, Author(s) Name), **[COPYRIGHT]** (year of publication)

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from **[the Licensor]: [Journal Publisher** (e.g. Nature/Springer/Palgrave)] **[JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION** (Article name, Author(s) Name), **[COPYRIGHT]** (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj.[JOURNAL ACRONYM].)

25/02/2018

RightsLink Printable License

For Adaptations/Translations:

Adapted/Translated by permission from [the Licensor]: [Journal Publisher (c.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)]

Note: For any republication from the British Journal of Cancer, the following credit line style applies:

Reprinted/adapted/translated by permission from [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: : [Journal Publisher (c.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication)]

For Advance Online Publication papers:

Reprinted by permission from The [the Licensor]: on behalf of Cancer Research UK: [Journal Publisher (c.g. Nature/Springer/Palgrave)] [JOURNAL NAME] [REFERENCE CITATION (Article name, Author(s) Name), [COPYRIGHT] (year of publication), advance online publication, day month year (doi: 10.1038/sj. [JOURNAL ACRONYM])]

For Book content:

Reprinted/adapted by permission from [the Licensor]: [Book Publisher (c.g. Palgrave Macmillan, Springer etc) [Book Title] by [Book author(s)] [COPYRIGHT] (year of publication)]

Other Conditions:

Version 1.0

Questions? customer@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.
