



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA FACULDADE
DE
MEDICINA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

PEDRO FILIPE DA SILVA MESQUITA

***MODELOS DE COMPENSAÇÃO FUNCIONAL PRECOCE NA FUNÇÃO
EXECUTIVA
NA DOENÇA DE HUNTINGTON***

ARTIGO CIENTÍFICO

ÁREA CIENTÍFICA DE NEUROLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

PROFESSOR DOUTOR MIGUEL CASTELO BRANCO

MSC ISABEL CATARINA DUARTE

11/2019

Modelos de compensação funcional precoce na função executiva na doença de Huntington

Early functional compensation models in executive function in huntington's disease

Pedro Filipe da Silva Mesquita ^a, Isabel Catarina Duarte ^{b, c}, Miguel Castelo Branco ^{b, c}

^a Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

^b Coimbra Institute for Biomedical Imaging and Translational Research (CIBIT), ICNAS, University of Coimbra, Portugal

^c CNC.IBILI, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal

Correspondência para: Miguel Castelo Branco

Morada: Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde, polo 3 da Universidade de Coimbra, Azinhaga de Santa Comba, 3000-548, Coimbra.

Endereço Correio Eletrónico: mcbranco@fmed.uc.pt

Índice

1. Resumo/Abstract	1
2. Introdução:	5
3. Materiais e Métodos	9
3.1 Participantes:	9
3.2 Tarefa comportamental e de ressonância magnética funcional.....	13
3.3 Medidas Comportamentais	14
3.4 Parâmetros de aquisição:	15
3.5 Pré processamento dos dados:.....	16
3.6 Definição das regiões de interesse (ROI).....	17
3.7 Análise dos dados funcionais.....	21
4. Resultados	22
4.1 Análise estatística dados comportamentais	22
4.1.1 Tempo de realização de Bloco (Tempo/Bloco).....	22
4.1.2 Erros totais por Bloco (Erros/Bloco)	23
4.1.3 Efeitos do aumento da carga executiva.....	24
4.2 Regressão quadrática - Performance/Neurodegeneração (anos de doença e estimativa de anos para a doença)	25
4.3 Resultado da análise dos dados funcionais segundo o modelo linear geral (<i>GLM</i>)	26
4.4 Dados funcionais ressonância - Regressões quadráticas Atividade/Neurodegeneração (anos de doença e estimativa de anos para a doença)	28
5. Discussão:	33
5.1 Discussão dos resultados	33
5.2 Comparação de resultados	35
5.3 Considerações Metodológicas e Sugestões Futuras.....	37
6. Conclusão	39
7. Referências Bibliográficas	40

1. Resumo

A Doença de Huntington surge como um modelo útil para o estudo de mecanismos compensatórios em doenças neurodegenerativas, dado tratar-se de uma doença monogénica, com penetrância completa e cujos portadores podem ser testados e acompanhados anos antes do diagnóstico clínico.

A existência de alterações estruturais, acompanhadas de alterações da atividade cerebral, na presença de uma performance comportamental intacta pressupõem a existência de potencial de compensação.

Dada a escassez de literatura com critérios operacionalizados de compensação, propusemos a realização de um estudo com o objetivo de verificar a existência de uma relação em U invertido (relação polinomial quadrática) de atividade e performance, e explorar a existência de alterações do controlo executivo em participantes pré-sintomáticos.

Deste modo, estudámos 16 controlos, 14 portadores sem sintomas e 9 portadores sintomáticos com o objetivo de investigar o efeito modulatório destas variáveis através de um estudo transversal de atividade em ressonância magnética funcional, usando uma abordagem baseada em regiões de interesse. Para tal, recorreremos a uma nova tarefa ecológica que *a priori*, com cargas executivas crescentes, tinha mostrado diferenças entre participantes controlos e pré-sintomáticos, captando um limite teórico para os mecanismos compensatórios neste grupo.

A análise desses dados comportamentais permitiu a seleção de medidas de performance e de atividade, com vista à posterior construção das regressões polinomiais quadráticas em questão.

Relativamente aos resultados comportamentais, a análise revelou diferenças significativas no tempo de execução da tarefa entre participantes sintomáticos e os restantes grupos, para todos os graus de dificuldade. No entanto, contrariamente ao esperado, apenas os erros na tarefa de menor dificuldade, permitiram distinguir controlos de pré-sintomáticos.

Indiciando compensação, obtivemos uma relação significativa quadrática, de concavidade orientada para baixo, de performance e atividade. Adicionalmente, e em linha com o modelo teórico adotado, a diminuição da performance antecedeu a diminuição da atividade cerebral, que revelou padrões quadráticos significativos corrigidos em 5 de 11 regiões definidas *a priori*. Entre essas regiões, incluem-se o lobo parietal superior direito, giro frontal médio, bilateralmente, e o giro frontal inferior direito. Porém, o córtex pré-frontal dorsolateral direito, área extensivamente definida como compensatória na literatura, não

mostrou diferenças significativas. O pico da atividade cerebral ocorreu em média a 3,6 anos do início dos sintomas clínicos, suportando uma afeção do controlo executivo ainda em estágio pré-clínico. Tal como descrito em outros estudos, replicámos o achado de um córtex direito mais resiliente, origem de 4 das 5 regiões compensatórias, consistente com um viés esquerdo nesta patologia.

Tendo em mente as limitações abordadas e as soluções apresentadas para melhorar o desenho experimental de estudos futuros, estes achados refletem um possível papel compensatório destas áreas, tornando-as num futuro alvo de intervenções terapêuticas.

Palavras Chave: Doença de Huntington; Ressonância Magnética Funcional; Compensação; Função Executiva; Tarefa Ecológica; Compensação Funcional.

1. Abstract:

Huntington's Disease prevails as a useful model for the study of compensatory mechanisms across neurodegenerative diseases, mainly due to its fully penetrant monogenic pattern and ability to test and monitor carriers, years before the clinical diagnosis.

Potential compensation can be identified as the presence of altered patterns of brain activity in association with increased levels of structural disease load while keeping intact performance levels.

Given the scarce literature with operationalized compensation criteria, we propose a novel study to prove the existence of an inverted U-shaped relation (a polynomial quadratic regression) of activity and performance. Additionally, we explore the presence of early executive dysfunction in pre-symptomatic participants.

In a cross-sectional study, 16 controls, 14 pre-symptomatic gene carriers and 9 Huntington disease patients with overt clinical symptoms were studied to assess the modulatory effects of these variables. This was done using a functional magnetic resonance ROI (region of interest) based approach. Subjects were asked to perform a new ecological task, with previously demonstrated differences in performance between control participants and pre-symptomatic gene carriers, with increasing executive demands, thus evidencing a theoretical limit for compensatory mechanisms, in the latter group.

Behavioural data analysis allowed for the selection of performance variables, which were computed to produce the previously mentioned polynomial regressions.

Concerning behavioural analysis, we report significant differences in task execution time, regardless of task demand, between symptomatic Huntington disease patients and the remaining groups. However, contrary to prior belief, differences between controls and pre-symptomatic carriers were found only for the lower demand task.

Consistent with neural compensation, we found significant performance and activity quadratic regressions, with a downward oriented concavity. Moreover and mirroring the adopted theoretical model, 5 out of 11 predefined brain regions revealed significant polynomial patterns and, coincidentally, the decline of performance preceded the downfall of brain activation. Among these regions are included the superior parietal lobule, middle frontal gyrus, bilaterally, and the inferior frontal gyrus. Nevertheless, the right dorsolateral prefrontal cortex, extensively portrayed as a compensatory area in the literature, failed to reach significance levels.

Importantly, our data also supports an early impairment of executive function in pre-clinical stages, as brain activation peaked, on average, 3,6 years before the onset of

symptomatic disease. As described elsewhere, a functionally more resilient right cortex, home to 4 out of 5 compensatory areas identified, reflects the leftward disease bias found in Huntington's disease.

In conclusion, taking into consideration the addressed limitations and suggested solutions to improve future study designs, our findings provide evidence for a possible compensatory role of these areas, which in turn, sets them as a potential therapeutic target for future applications.

Keywords: *Huntington's Disease; Functional Magnetic Resonance; Executive Function; Ecological Task; Functional Compensation*

2. Introdução:

A doença de Huntington é uma doença hereditária neurodegenerativa, com um padrão de transmissão autossômico dominante, caracterizada por uma progressiva disfunção cognitiva, psiquiátrica e motora⁽¹⁾.

Esta patologia é um modelo bastante útil para o estudo da progressão e mecanismos compensatórios em doenças neurodegenerativas⁽²⁾, visto tratar-se de uma doença monogénica, com penetrância completa (expansão acima de 40 repetições CAG, no gene *HTT*) e cuja mutação subjacente pode ser testada, com fiabilidade, precocemente⁽³⁾. Deste modo, é possível a identificação e acompanhamento longitudinal dos portadores, desde as fases subclínicas até à doença manifesta.

O desenvolvimento de sintomas motores que se apresentem como “sinais inequívocos de doença de Huntington”, segundo a componente motora da *UHDRS*⁽⁴⁾, mantém-se como o “gold standard” para uma definição operacional do ponto de vista clínico dos portadores da mutação em dois grupos: Doentes de Huntington manifestos (HD) e Doentes de Huntington pré-sintomáticos (HP).

O estado “pré-sintomático” não é, contudo, isento de alterações fisiopatológicas, dada a natureza evolutiva da doença. Esta fase prodrómica caracteriza-se pelo surgimento progressivo de alterações fisiopatológicas, motoras ligeiras, psiquiátricas e deterioração das funções cognitivas, com destaque para a perda de controlo executivo⁽⁵⁻⁷⁾.

Porém, nas fases mais iniciais e subclínicas da doença, verifica-se a existência de alterações neuropatológicas, com graus variados de perdas estruturais que podem ser também documentadas usando métodos neuro-imagiológicos, que, no entanto, não se traduzem necessariamente numa menor performance, sobretudo em tarefas comportamentais clássicas, por parte dos pré-sintomáticos, em relação a controlos saudáveis^(8, 9).

Uma justificação para esta dissociação vem sob a forma da existência de mecanismos compensatórios, já que se verificam alterações no que diz respeito à atividade cerebral, entre estes dois grupos^(10, 11). No entanto, o debate mantém-se sobre a definição do conceito de compensação e qual a melhor forma para a sua medição. O desafio consiste em provar que as diferenças reportadas relativas à atividade cerebral não são apenas um achado inespecífico, ou até mal-adaptativo, fruto da própria degeneração ou desdiferenciação neuronal⁽¹²⁾.

Como tal, modelos explicativos, desenvolvidos no contexto do envelhecimento saudável, foram transpostos para as doenças neuro degenerativas⁽¹³⁾, dos quais destacamos o conceito de compensação neuronal, derivado do modelo de reserva ativa.

Até à data, apesar de melhorias progressivas, estudos de conectividade e atividade, exploraram parcialmente componentes deste modelo^(5, 14-18). Tipicamente, estes estudos sugerem compensação, por exemplo no contexto de um aumento da atividade cerebral entre grupos com alta carga de doença e controlos/baixa carga. Adicionalmente, nem sempre são apresentadas correlações com a performance da tarefa comportamental. Isto torna qualquer padrão de atividade/comportamento atribuível de forma especulativa a compensação e a existência de correlação com medidas de carga de doença/dano estrutural é praticamente inexistente na maioria dos estudos. O espectro de doentes usado é frequentemente restrito e as tarefas pouco sensíveis e discriminatórias na deteção da falência dos mecanismos compensatórios, nos grupos afetados. Isto torna impossível a diferenciação entre patologia e compensação.

Dada a necessidade de uma reorganização, Scheller⁽¹⁹⁾, tendo por base os fundamentos no envelhecimento saudável, propostos por Cabeza⁽¹¹⁾, delineou um conjunto de critérios, com vista a modelar estudos futuros. Como tal, Kloppel⁽⁹⁾, com recurso a um modelo estatístico, reportou a existência de compensação (hiperatividade) no córtex parietal direito, em indivíduos com elevada carga de doença estrutural (diminuição do volume cerebral) e performance preservada relativamente a controlos.

Por fim, tendo por base este trabalho, Gregory⁽²⁰⁾ operacionalizou, pela primeira vez, um modelo uniforme, quantificável e rejeitável de compensação em doença de Huntington, que recorre a modelos estatísticos, de forma a representar com acuidade, a evolução da atividade cerebral, performance e volume cerebral com a progressiva neurodegeneração (Figura 1 A e B).

Partindo do pressuposto de que os recursos neuronais são naturalmente limitados (T0-T1), a diminuição linear do volume cerebral (V), obriga ao incremento da atividade cerebral (C), de forma a manter a performance (P) constante. Com o avançar da doença (T1-T2), a compensação atinge também ela o seu limiar, levando a uma queda na performance. Por fim (T2-T3), a degeneração neuronal é avassaladora, a compensação quebra e a performance diminui drasticamente.

Todas estas relações, podem ser operacionalizadas assumindo que a distribuição de (C) e (P) se assemelha a uma regressão polinomial quadrática e a de (V), a uma regressão linear:

$$C_i = B_0 \text{Neurodegeneração}_i^2 + B_1 \text{Neurodegeneração}_i + \beta_2 + e_{Ci},$$

$$V_i = A_0 \text{Neurodegeneração}_i + A_1 + e_{Ci},$$

onde e_{Ci} representa erro e a *Neurodegeneração* representa o curso progressivo da doença de Huntington, desde as fases pré-sintomáticas, passando pelo diagnóstico clínico e fases sintomáticas da doença.

B_0 e A_0 são constantes negativas de modo a obter um padrão côncavo e decrescente, respetivamente. Estes parâmetros poderão ser calculados com regressão múltipla, usando o método dos mínimos quadrados e testados com um teste *t-student*.

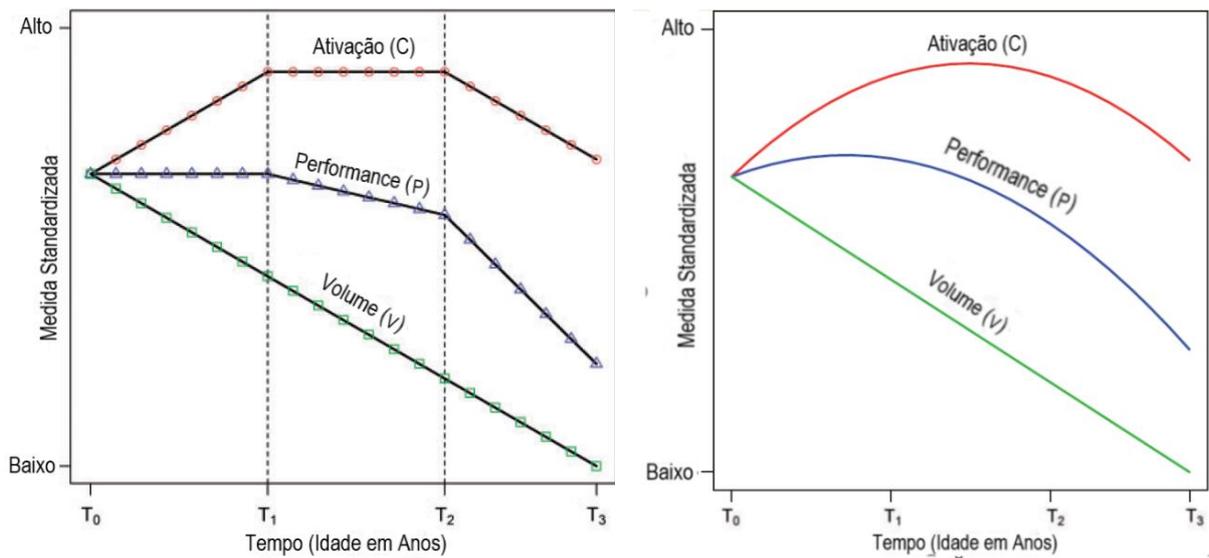


Figura 1 -A Adaptação do modelo de compensação desenvolvido por Gregory⁽³²⁾ demonstrando alterações em variáveis chave (ativação, performance e volume cerebral). As medidas estandardizadas de modo a iniciarem no mesmo ponto do tempo. Distinguem-se 3 fases: **Fase 1 (T_0 - T_1)** ilustra a ativação necessária para compensar a diminuição do volume cerebral e manter a performance. **Na fase 2 (T_1 - T_2)** os efeitos da doença começam a sobrepor-se à compensação que atinge um plateau, com diminuição da performance. **A Fase 3 (T_2 - T_3)** demonstra os efeitos neurodegenerativos da doença e o afundar da compensação e performance.

1- B Aproximação polinomial do modelo proposto. É importante denotar a queda mais precoce e acentuada da performance relativa à ativação, iniciando o processo de descompensação.

Até à data, este modelo foi testado apenas uma vez por Gregory⁽²¹⁾ num estudo longitudinal de conectividade e atividade, com tarefas de memória de trabalho e motoras, tendo encontrado evidência de compensação através do modelo de regressão quadrática, num aumento de conectividade entre o córtex pré-frontal esquerdo e direito. Outros modelos, em particular os modelos cúbicos, revelam resultados significativos, demonstrando a complexidade e variabilidade dos padrões compensatórios, o que obriga à constante adaptação e melhoria dos modelos.

Face a este panorama, e em particular em função executiva⁽²²⁻²⁵⁾, em que mais estudos são necessários para abordar a complexidade do conceito de compensação, propomos, à luz da nova evidência, a realização de um estudo transversal com um largo espectro de doentes,

focado em captar toda a extensão das relações em U invertidas, relativas à atividade e performance, tendo em conta a evolução da doença, com recurso a técnicas de ressonância magnética funcional (RMf).

Para tal, será utilizada uma nova tarefa ecológica executiva, a primeira criada especificamente para a doença de Huntington⁽²⁶⁾. A importância desta tarefa, para além da validade ecológica, reflete-se na capacidade de distinção da performance (erros) entre os grupos controlo e pré-sintomáticos no grau de dificuldade mais exigente da tarefa (que tem 3 graus de dificuldade). Isto mostra que a tarefa é sensível na captação do “teto” da compensação, tornando-a ideal para avaliar a hiperatividade cerebral. Adicionalmente, implica que a perda do controlo executivo é anterior ao início dos sintomas motores, distinguindo-se dos testes tradicionais, altamente estruturados, que se demonstram insensíveis às alterações precoces, já que avaliam uma componente cognitiva isolada em situações artificiais⁽²⁷⁾.

O interesse na realização deste projeto, assenta sobre a importância das funções executivas como influenciadoras do status funcional, sendo a sua disfunção um dos maiores contribuidores para os défices diários e progressiva perda de autonomia⁽²⁸⁾. A componente ecológica da tarefa torna a identificação de áreas compensatórias um alvo para futuras intervenções, nomeadamente, estimulação magnética transcraniana e estimulação transcraniana por corrente contínua, já estudadas no envelhecimento saudável e noutras doenças neurodegenerativas, com evidência no prolongamento do curso da doença^(29, 30); Para além disso, a localização do pico das curvas será alvo de discussão, dada a evidência contraditória⁽³¹⁾, sobre a afetação ou não da componente executiva em doentes pré-sintomáticos.

Assim prevemos a existência de duas relações em U invertido, relativas a compensação e a performance, em regiões de interesse determinadas *a priori* com base na literatura. Adicionalmente, prevemos um deslocamento do pico de inversão das curvas de atividade para a esquerda, que simultaneamente com diferenças comportamentais entre Controlos e HP, suportam a evidência da afetação precoce da função executiva, em relação ao início clínico da doença.

3. Materiais e Métodos

3.1 Participantes:

Foram recrutados um total de 46 voluntários para participarem no estudo. Destes, 39 prosseguiram o mesmo e integraram a análise estatística, após a exclusão de 7 participantes. Durante a fase de aquisição e pré-processamento, foram excluídos 2 participantes, devido a excesso de movimento (≥ 6 mm em pelo menos 1 eixo) que gerou imagens de má qualidade. A exclusão de 3 outros voluntários, ocorreu por incapacidade de completar as tarefas propostas, 1 participante desistiu e um outro foi excluído *a posteriori* pelo baixo desempenho na avaliação neuropsicológica (detalhes da avaliação cognitiva em Júlio⁽²⁶⁾).

Os 39 participantes foram distribuídos pelos três grupos de acordo com os seguintes critérios⁽²⁶⁾:

1 – Controlos (CTRL) – Participantes saudáveis, sem história progressiva de demência, depressão, abuso de substâncias, doenças neurológicas ou psiquiátricas e sem uso atual de medicação psicotrópica (n= 16).

2 – Doentes de Huntington Pré-sintomáticos (HP) – participantes sem sintomas clínicos de doença de Huntington, com um score motor *UHDRS - Unified Huntington's Disease Rating Scale* - total ≤ 5 ⁽³²⁾ e um teste genético positivo para doença de Huntington que confirma uma extensão CAG ≥ 36 (n=14).

3 – Doentes de Huntington com sintomatologia em fase inicial (HD) – doentes de Huntington com sintomatologia ligeira – estádios I e II⁽³³⁾ com uma pontuação de 10 – 13 na Escala de Capacidade Funcional Total *UHDRS* e um teste genético positivo para doença de Huntington que confirma uma extensão CAG ≥ 36 (n=9).

Os grupos HP e HD partilham os seguintes critérios de exclusão: Demência, depressão severa, história de abuso de substâncias e outras doenças neurológicas.

A avaliação clínica dos grupos HP e HD, foi efetuada por um neurologista experiente, recorrendo às escalas de Capacidade Funcional Total e Motoras da *UHDRS*⁽⁴⁾. Adicionalmente foram recolhidas informações sobre as repetições CAG de ambos os grupos, definida a duração da doença para cada sujeito do grupo HD (número de anos desde o diagnóstico clínico) e, por fim, estimado o número de anos até ao início das manifestações clínicas no grupo HP, através da fórmula de Langbehn⁽³⁴⁾.

$$S(\text{Age}, \text{CAG}) = \left(1 + \exp \left\{ \frac{\pi}{\sqrt{3}} \frac{[-21.54 - \exp(9.56 - 0.146\text{CAG}) + \text{Age}]}{\sqrt{35.55 + \exp(17.72 - 0.327\text{CAG})}} \right\} \right)^{-1}$$

De modo a controlar possíveis variáveis confusionais foram usados os seguintes testes:

- 1) *MoCA (Montreal Cognitive Assessment)*⁽³⁵⁾ ⁽³⁶⁾ como teste de rastreio para Demência e *MCI (Mild Cognitive Impairment)* foi usado como critério de exclusão se pontuação <18, ponto médio de corte entre Demência e MCI.
- 2) *Beck depression Inventory II* ⁽³⁷⁾, ⁽³⁸⁾ – foi usado como critério de exclusão se obtenção de um nível de depressão ≥ 30 (depressão severa).
- 3) *Edinburgh Handedness Inventory*⁽³⁹⁾, foi usado para avaliar a lateralidade dos participantes.

Participantes dos 3 grupos reportaram o uso de medicação. No grupo CTRL, 5 participantes reportaram o uso corrente de corticoides, anti-histamínicos, estatinas, anti-inflamatórios, anti-hipertensores, tiroxina, suplementação de cálcio, ginkgo biloba e complexo glucosamina/condroitina/colagénio. No grupo HP, 4 indivíduos estavam sobre terapia antidepressiva e ansiolítica e dois outros sobre contraceptivos, tiroxina, anti-hipertensores, antipiréticos e antibioterapia. Por fim, no grupo HD, 7 participantes reportaram o uso de medicação do foro ansiolítico, antidepressivo, anti parkinsónicos e um outro estava sobre antibioterapia e antipiréticos.

Todos os participantes pertencentes ao grupo CTRL, eram pessoas não em risco, englobando familiares do grupo HD que testaram negativo para a mutação, familiares não em risco ou não familiares.

Os voluntários pertencentes aos grupos HP e HD foram recrutados da Unidade de Doenças do Movimento do Serviço de Neurologia dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

O presente estudo foi aprovado pela comissão de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e do Hospital Universitário de Coimbra, tendo todos os participantes dado o seu consentimento informado por escrito, de acordo com a Declaração de Helsínquia e regulações e *guidelines* aplicáveis.

Foi feita uma tentativa de equilibrar os grupos Controlos e HP equitativamente em relação à idade, ao género e escolaridade. As características demográficas dos três grupos, podem ser consultadas nas Tabela 1.

Tabela 1 – Análise estatística dos dados demográficos

	Controlos (N=14)	Pré-sintomáticos (N=11)	Doentes de Huntington (N=9)	ONE-WAY ANOVA /K-W/ Teste exato de Fisher	M-W CTRL vs HP	M-W CTRL vs HD	M-W HP vs HD
Idade[#]	M = 41,13 Dp = 8,83	M = 36,79 SD = 9,30	M = 43,22 SD = 7,93	F(2, 36) = 1.661 p = 0.204	-	-	-
MoCA	M = 25,88 Dp = 2,09	M = 26,86 SD = 2,69	M = 24,22 SD = 3,35	F(2, 36) = 2.751 p = 0.077	-	-	-
Escolaridade (anos)[#]	Mdn= 11,00	Mdn= 14,50	Mdn= 8,00	X ² (2) = 9,054 p = 0,011	U = -6,567 p = 0,337 (ajust)	U = 7,913 p = 0,279 (ajust)	U = 14,480 p = 0,008 (ajust)
BDI-II	Mdn= 3,00 RankM= 17,00	Mdn= 6,50 RankM= 20,75	Mdn= 12,00 RankM= 24,17	X ² (2) = 2,394 p = 0,302	-	-	-
Handedness	Mdn= 100	Mdn= 100	Mdn= 100	X ² (2) =2,897 p=0,235	-	-	-
Género[#]	12/4	11/3	5/4	p= 0,538 (Teste exato de Fisher)	-	-	-
CAG	-	Mdn = 42,00	Mdn = 42,00	-	-	-	U = 67 p = 0,829
UHDRS –TFC	-	Mdn = 13,00 RankM = 14,50	Mdn = 12,00 RankM = 8,11	-	-	-	U = 28 p = 0,028

UHDRS – Motor	-	Mdn = 0,50 RankM = 7,50	Mdn = 24,00 RankM = 19,00	-	-	-	U = 126 p <<0,001
Anos até ao início dos sintomas	-	Mdn =15,5 Máx = 43 Min = 7	-	-	-	-	-
Anos de doença sintomática	-	-	Mdn = 5,00	-	-	-	-

Legenda: CTRL - Controlos; HP - Doentes de Huntington pré-sintomáticos; HD - Doentes de Huntington com sintomatologia em fase inicial; M - Média; Mdn – Mediana; Dp – Desvio Padrão; Rank M – Rank médio; Máx: máximo; Min: mínimo; K-W - teste de Kruskal–Wallis; M-W - teste de Mann–Whitney; CAG - expansão das repetições CAG confirmadas por um teste genético; Anos até ao início dos sintomas – anos estimados pela fórmula de Langbehn’s, apenas aplicável ao grupo HP. Anos de doença sintomática – anos desde o início da doença clínica – apenas aplicável ao grupo HD. UHDRS – TFC, Total Functional Capacity scale of the Unified Huntington’s Disease Rating Scale; UHDRS – Motor, Motor scale of the Unified Huntington’s Disease Rating Scale; MoCA - Montreal Cognitive Assessment; BDI-II - Beck Depression Inventory II; # - tentativa de matching entre Controlos e HP;

Resultados a amarelo representam resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

3.2 Tarefa comportamental e de ressonância magnética funcional

Os participantes foram submetidos à aquisição de imagens de RMf enquanto realizavam uma tarefa ecológica, num ambiente do dia-a-dia - *EcoKitchen* - discutida e validada em Júlio⁽²⁶⁾. Trata-se de uma tarefa de realidade virtual cujo objetivo é avaliar de um modo objetivo as capacidades cognitivas e funcionais dos sujeitos, num ambiente do dia-a-dia – a cozinha. Caracteriza-se ainda por não se focar numa componente executiva em particular, avaliando a capacidade de planeamento, *multi-tasking*, alternância, flexibilidade cognitiva, atenção dividida, entre outras.

A tarefa foi composta por 3 blocos, com uma carga crescente de componente executiva. Foram adotadas diversas estratégias de modo a minimizar a componente de memorização, coordenação motora e o impacto da interação com o computador e por fim para aumentar a validade ecológica (detalhes em Júlio⁽²⁶⁾).

A performance da tarefa é medida pelo tempo de execução e erros, pelo que o objetivo era realizar os sucessivos blocos o mais correto e rápido possível, seguindo uma ordem estabelecida no ecrã (para minimização da componente de memória). Foi introduzido um treino global antes da sessão de ressonância magnética para os voluntários se ambientarem à utilização do *joystick*. Na sessão de ressonância magnética a ordem das tarefas era apresentada aleatoriamente. Cada participante realizou três vezes o conjunto de três tarefas. Uma representação visual da tarefa pode ser consultada na Figura 2.

Bloco 1 – Tarefa A - Preparação de café com leite. Os sujeitos deveriam seguir as instruções, sempre dispostas no ecrã, respeitando a sua ordem sempre que mandatário (por exemplo, poderia ir buscar a caneca e o leite por uma ordem qualquer, mas nunca poderia verter o leite na caneca sem ter pegado na caneca antes). Adicionalmente implicava monitorizar e desligar o fogão apenas e quando o cronómetro chegasse ao fim. Era requerido planeamento e controlo comportamental para completar o nível com sucesso.

Bloco 2 – Tarefa A + Chaleira – vigilância de uma chaleira a ferver no fogão, que teria de ser desligada o mais rápido possível após surgir fumo e um sinal vermelho no ecrã, de modo a evitar o derrame de água. Durante o bloco a chaleira estava programada para ferver três vezes, em momentos aleatórios, de modo obrigar os participantes a dividir a sua atenção, para além de evocar as capacidades executivas da tarefa A.

Bloco 3 – Tarefa A + Chaleira + Tarefa B – preparação de torradas com manteiga. Nesta tarefa foi requerido que os participantes alternassem entre tarefas de modo a completar ambas simultaneamente. Deste modo, promoveu-se adicionalmente a alternância entre tarefas.



Figura 2. Adaptação do desenho da tarefa⁽²⁶⁾. A tarefa EcoKitchen foi composta por 3 blocos, de dificuldade crescente. Na sessão de ressonância magnética a ordem das tarefas era apresentada aleatoriamente. Cada participante realizou três vezes o conjunto de três tarefas. **Bloco 1** – Tarefa A -preparação de café com leite; **Bloco 2** – realização da Tarefa A e desligar uma chaleira que ferve três vezes durante o bloco. **Bloco 3** – realização simultânea das duas tarefas anteriormente propostas e da preparação de torradas com manteiga – Tarefa B.

3.3 Medidas Comportamentais

Foram medidas as seguintes variáveis comportamentais de forma a avaliar a performance de cada participante, tendo em conta tempos de realização e erros:

1. Tempo de realização do Bloco (1, 2 e 3) – tempo, em segundos, que cada participante demorou a realizar cada tarefa, desde a interação com o primeiro até ao uso do último objeto.
2. Erros totais por bloco (1, 2, 3) – soma dos erros de escolha de item (itens não necessários para a realização da tarefa) com os erros de ordem de item (itens pertencentes ao bloco, mas selecionados pela ordem incorreta).
3. Efeito do aumento da carga executiva – análise da existência de um aumento da carga executiva entre os blocos (1 < 2 < 3) recorrendo à razão $\frac{ERROS/BLOCO}{TEMPO/BLOCO} \times 60$, representante do número de erros por minuto, em cada bloco.

No presente estudo, cada participante realizou três repetições da tarefa completa, que foram consideradas de forma individual, com vista a aumentar o número de observações. Cada medida foi analisada individualmente para cada um dos três blocos, em busca de diferenças entre grupos que, a verificarem-se, foram exploradas com testes *post-hoc*. Foram

excluídos da comparação de grupos da análise comportamental, os dados de uma aquisição de um doente, dada a perda do ficheiro.

Esta análise constituiu a base para a escolha das variáveis usadas para a construção das regressões quadráticas de performance e para a escolha dos blocos nas regressões de atividade cerebral. O conceito de neurodegeneração aqui exposto refere-se aos anos até o início da doença, no grupo HP, calculados pela fórmula de Langbehn⁽³⁴⁾ e pelos anos de doença sintomática no grupo HD. Trata-se de uma variável contínua, cuja função é proporcionar uma dimensão de carga crescente de doença.

Deste modo, para a construção das regressões de performance, procura-se, idealmente, uma variável que não distinga o grupo Controlo do grupo Pré-sintomático, de modo a poder posteriormente falar em compensação, à custa de aumento de atividade cerebral, no grupo HP, mas que simultaneamente os distinga do grupo HD, demonstrando a “descompensação” em termos comportamentais deste último grupo.

A análise das variáveis anteriores juntamente com os efeitos do aumento da carga cognitiva decide o bloco a ser usado nas regressões de atividade cerebral, visto que, teoricamente, o maior grau de dificuldade sem quebra de performance nos HP, traduzirá as maiores diferenças em termos de atividade cerebral, entre os grupos portadores da mutação. Adicionalmente, a existência de variáveis que distingam o grupo Controlo do grupo HP, de preferência em blocos de elevada carga cognitiva, é também de extraordinária importância, dado permitir aferir a sensibilidade da tarefa em captar o “teto” da compensação e ponto de transição para a falha na compensação, estabelecendo o grau de dificuldade anterior como o melhor candidato para as regressões de atividade cerebral.

Por fim, a localização e a existência esperada de concordância entre a abcissa do ponto máximo da função quadrática das várias regressões de atividade em várias regiões do cérebro é também um alvo importante de validação da análise.

A análise estatística foi realizada com recurso ao *SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.)* e *Microsoft Excel (2016)*.

3.4 Parâmetros de aquisição:

Os dados de ressonância foram adquiridos com recurso a um aparelho de ressonância *Magnetom Trio Tim (Siemens, Erlangen, Germany)* de 3 Tesla e a uma antena de crânio de 12 canais.

O protocolo de aquisição incluiu uma sequência *MPRAGE (magnetization prepared rapid gradient-echo)*, e três sequências gradiente-eco, *EPI (echo planar imaging)*. Cada uma

delas, foi precedida por uma sequência de mapa *GRE (gradiente echo field)*, com o objetivo de mapear distorções geométricas nos dados funcionais.

Relativamente ao volume anatómico *MPRAGE*, ponderado em T1, foi usado um *TR (repetition time)* de 2530ms, *TE (echo time)* de 3.42ms, resolução de 1mm³, pulso de 7°, com 256 x 256 de dimensão da matriz e de *FOV (field of view)*.

Por sua vez, para a aquisição dos dados funcionais, cada sequência *EPI* foi adquirida com 35 cortes, paralelos à linha que une a comissura anterior (CA) à comissura posterior (PC), com 3mm de espessura e voxels de 3mm². Foi usado um *TR* de 2000ms, *TE* de 30ms, pulso de 90° e uma dimensão de matriz e de *FOV* de 230 x 230.

Por fim, os mapas de campo de magnitude e de fase foram adquiridos com a mesma orientação e *FOV* que as sequências *EPI*, com um *TR* de 400ms, *TE* de 2.46ms, dimensão de matriz de 230 x 230, resolução de fase de 100%, direção de codificação de fase de anterior para posterior e largura de banda na direção de fase de 31.25 Hz. O número de volumes adquiridos dependeu da performance de cada participante.

A tarefa foi apresentada através de um ecrã de *LCD (NordicNeuroLab, Bergen, Norway)*, com 698.40mm x 392.85 mm de dimensão, colocado a 156cm da cabeça dos participantes, a uma frequência de 60 Hz. O cenário foi construído com recurso ao programa “*Vizard (WorldViz) Virtual Reality – version 4.0.*” A interação com o ambiente, vivenciada na perspetiva de primeira pessoa, foi feita através de um *joystick* compatível com ressonância magnética (*Hybridmojo, San Mateo CA, USA*) que permitia controlar o cursor e seleccionar objetivos (detalhes disponíveis em Júlio⁽²⁶⁾).

3.5 Pré processamento dos dados:

O pré-processamento e subsequente análise dos dados anatómicos e funcionais foi efetuado com recurso ao programa *BrainVoyager 20.2 e 21.2.0, 64 bit, (Brain Innovation, Maastricht, The Netherlands)*, respetivamente.

Os dados foram sujeitos a uma correção do desfasamento tempo de aquisição de cada “*slice*”, “*cubic spline transformation*”, seguida de uma correção de movimento, “*trilinear/sinc interpolation*”, com 6 graus de liberdade e por fim de distorções geométricas. Posteriormente, procedeu-se ao ajuste médio da intensidade e à filtração temporal, “*Linear trend function*”.

Os dados anatómicos foram co registados com os dados funcionais, usando como referência o primeiro volume da primeira aquisição funcional. De seguida foram normalizados de acordo com o atlas Talairach. Por fim, foi executada uma suavização espacial, usando um *kernel* gaussiano com uma largura a meia altura (*FWHM*) de 6mm.

Cada participante realizou 3 aquisições da tarefa. Foi usado como critério de exclusão de aquisições, a existência de movimento superior a 6mm, em pelo menos um eixo. Deste modo, o excesso de movimento levou à exclusão de 2 aquisições no grupo CTRL, 1 no grupo HP e 5 no grupo HD, cujos movimentos coreiformes impediram a continuação da tarefa. Adicionalmente, 1 sujeito do grupo HP realizou a tarefa apenas uma vez, tendo interrompido a ressonância por claustrofobia.

3.6 Definição das regiões de interesse (ROI)

De modo a restringir análise e aumentar o poder estatístico, optou-se por efetuar uma análise baseada em regiões de interesse, definidas *a priori* com base em metanálise sobre regiões relevantes para tarefas executivas. Dada a novidade da tarefa e inexistência de áreas funcionais previamente identificadas, recorreremos a regiões de interesse extraídas da plataforma – *neurosynth.org*⁽⁴⁰⁾. A vantagem da utilização deste método reside na obtenção de meta-análises automáticas, com base em termos de pesquisa pré-definidos, gerando mapas funcionais que permitem a visualização e identificação da atividade cerebral reportada nos resultados desses estudos.

Dado o interesse em identificar compensação em áreas executivas, foi usado o termo de pesquisa “executive” do qual resultaram quatro termos de pesquisa: “*executive*”, “*executive control*”, “*executive function*”, “*executive functions*”. Por impossibilidade de extração dos pontos máximos de ativação do mapa “*executive*” no programa BrainVoyager, usou-se o segundo mapa com o maior número de estudos – “*executive control*” – congregando um total de 230 estudos e 8253 ativações. Foram extraídos os mapas associativos (recomendados) e corrigidos para *FDR (false discovery rate)* $p < 0,01$. O mapa de ativações pode ser visualizado na Figura 3, sobre um modelo anatômico estandardizado no espaço *MNI (Montreal Neurological Institute)*, por ser o formato original dos dados funcionais. Foram apenas consideradas ativações, dado ser esse o interesse do estudo (Figura 3).

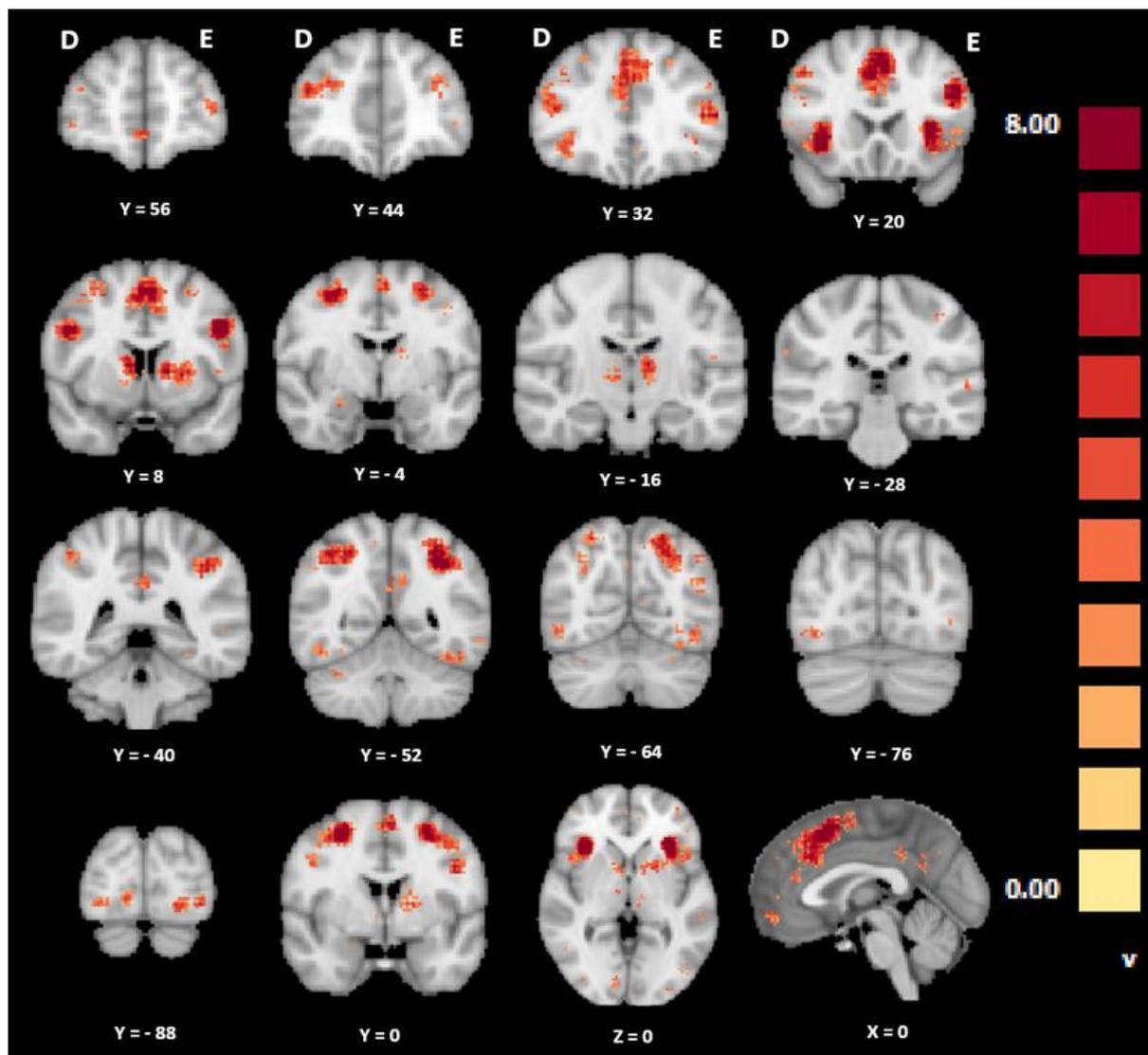


Figura 3 – Mapa Funcional derivado do termo de pesquisa “executive control” na plataforma neurosynth. Mapas estandardizados no espaço MNI e corrigidos para um FDR $p < 0,01$. D – Direito; E – Esquerdo. Barra lateral representa a intensidade da ativação, definida pelo resultado do teste t .

De modo a isolar os principais “clusters” de voxels ativos foi usado um limite mínimo de ativação $t \leq 6$ e um limite mínimo de 300 voxels contíguos. Assim, obtiveram-se 11 clusters que podem ser visualizados pela cor azul, na Figura 4 e cujos picos de ativação foram posteriormente extraídos e convertidos do espaço *MNI* para o espaço *Talairach*, espaço estandardizado dos dados funcionais da tarefa. A transformação, foi realizada com recurso à ferramenta - *MNI to Talairch Converter with Brodmann Areas*, versão 1.09⁽⁴¹⁾. Os picos de ativação serviram posteriormente como referência para a colocação de esferas com 5mm de raio que serviram como regiões de interesse na nossa análise – Tabela 2.

Tabela 2 – Coordenadas do centro das esferas usadas como regiões de interesse

ROI – Região de Interesse	X	Y	Z
1 - Lóbulo Parietal Superior Direito, BA 7	26	-53	47
2 - Lóbulo Parietal Inferior Esquerdo, BA 40	-33	-51	41
3 - Insula Direita, BA 13	32	23	1
4 - Insula Esquerda, BA 13	-31	20	3
5 - Giro Frontal Médio Direito, BA 6	28	3	50
6 - Giro Frontal Médio Esquerdo, BA 6	0	17	47
7 - Giro Frontal Médio Direito, BA 46	42	36	18
8 - Giro Frontal Médio Direito, BA 9	48	13	33
9 - Giro Frontal Inferior Direito, BA 9	47	11	29
10 - Lobo Frontal Esquerdo, Sub-Giral, BA 6	-25	3	52
11 - Giro Occipital Médio Esquerdo, BA 37	-40	-64	-1

Legenda: X, Y e Z representam a distância em mm da comissura anterior, no plano sagital, coronal e transversal, respetivamente. BA – Brodmann Area

A localização anatómica correspondente às coordenadas dos pontos máximos de ativação foram dadas pelo software – Talairach Client⁽⁴²⁾, através da função de procura do ponto de matéria cinzenta mais próximo. A localização das esferas encontra-se visualmente representada nas figuras 8 e 9 (ver secção de resultados).

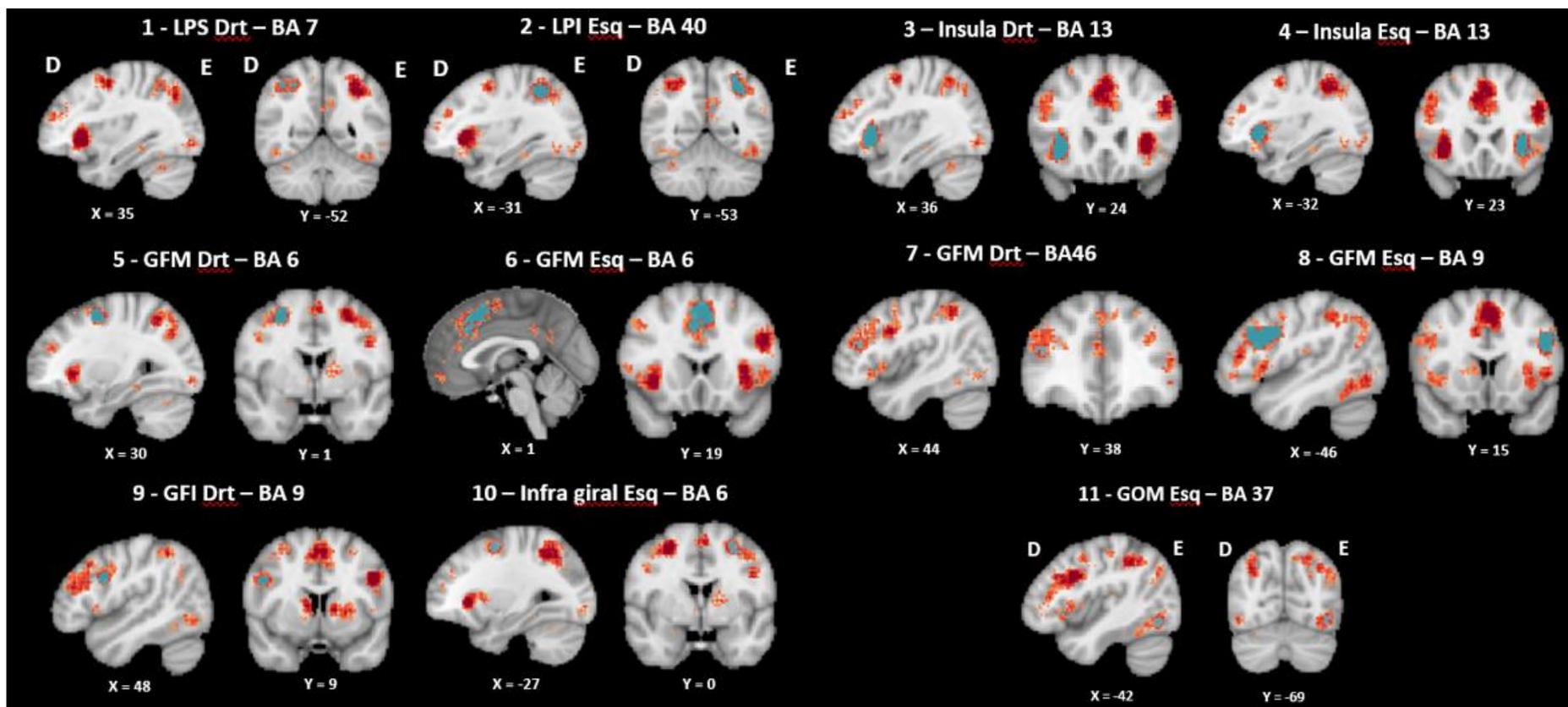


Figura 4 – Clusters resultantes do mapa “executive control”. FDR<0,01, espaço MNI, após correção do mapa com $t \geq 6$ e mínimo de 300 voxels contíguos. Clusters representados a azul nas figuras. A localização é dada pelas coordenadas do ponto máximo de ativação do cluster. LPI – Lóbulo Parietal Inferior; LPS – Lóbulo Parietal Superior; GFM – Giro Frontal Médio; GFI – Giro Frontal Inferior; GOM – Giro Occipital Médio; Esq e E - Esquerdo; Drt e D - Direito; BA – Área de Brodmann.

3.7 Análise dos dados funcionais

A análise estatística de grupo (39 participantes, 3 aquisições cada) foi efetuada usando uma abordagem *GLM* – modelo linear geral (Friston – 1994), e um modelo de efeitos aleatórios (*RFX – random effect analysis*).

A duração de cada bloco dependia do tempo de realização da tarefa de cada participante, o que permitiu obter o modelo do preditor, através da convolução do tempo de tarefa (função tipo “*boxcar*”) com a função de resposta hemodinâmica dois-gama (HRF).

Daqui resultou a obtenção de mapas estatísticos, corrigidos para comparações múltiplas utilizando um *FDR* (*false discovery rate*) com um valor fixo de p de 0,01. Para efeitos de visualização apresentam-se os mapas estatísticos e as regiões de interesse na figura 8, em que o modelo de superfície corresponde a um cérebro saudável estandardizado, no entanto os volumes anatómicos representam uma média dos 39 sujeitos.

Os valores de beta, resultantes da análise *RFX-GLM*, foram extraídos para cada *ROI* para posteriormente integrarem uma regressão quadrática entre atividade cerebral e anos de doença/ estimativa de anos para a doença. A correção para comparações múltiplas relativas às curvas quadráticas será efetuada através do procedimento de Benjamini- Hochberg para um $FDR < 0,05$, já que a correção de Bonferroni poderá ser demasiado conservadora. Estudos anteriores⁽⁹⁾, com poder estatístico superior a este estudo, optaram por não efetuar nenhuma correção já que meta-análises no campo⁽⁴³⁾ referem que os efeitos compensatórios e o poder estatístico tendem a ser pequenos, tendo assim conseguido reportar efeitos compensatórios que nunca sobreviveriam ao ajustamento do nível de p .

A análise estatística foi realizada com recurso ao SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) e Microsoft Excel (2016).

4. Resultados

4.1 Análise estatística dados comportamentais

De modo a determinar a presença de diferenças entre grupos (“CTRL” (observações =45), “HP” (observações =40), “HD” (observações= 21)) nas variáveis - tempo de realização de bloco e erros totais por bloco, foi aplicado o teste de *Kruskal-Wallis*, dada a presença de *outliers* e de distribuição não normal - *Shapiro-Wilk's test* ($p < 0.05$).

Após a análise visual do *boxplot* (fig 5 e 6), verificou-se que todas as distribuições da variável Tempo/Bloco eram diferentes para todos os grupos, nos três blocos. No que diz respeito à medida Erros/Bloco, pode dizer-se que todas as distribuições não apresentaram diferenças significativas, com exceção do Bloco 1.

O resultado da análise estatística destas variáveis encontra-se resumido na tabela 3.

4.1.1 Tempo de realização de Bloco (Tempo/Bloco)

O teste de *Kruskal-Wallis* revelou um efeito de grupo significativo para todos os blocos (Bloco 1 – $X^2(2) = 22,144$, $p < 0,001$; Bloco 2 – $X^2(2) = 18,068$, $p < 0,001$; Bloco 3 – $X^2(2) = 19,740$, $p < 0,001$).

Consequentemente, para cada bloco, foram levadas a cargo comparações *Pairwise*, usando o procedimento de *Dunn* (1964), com uma correção de Bonferroni para comparações múltiplas. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 3, reportando valores de p corrigidos. A análise post hoc revelou diferenças estatisticamente significativas:

No Bloco 1, entre CTRL (*mean rank* = 41,80) e HD (*mean rank* = 80,00) ($p < 0,001$) e entre HP (*mean rank* = 52,75) e HD ($p = 0,003$).

No Bloco 2, entre Controlos (*mean rank* = 46,36) e HD (*mean rank* = 79,67) ($p < 0,001$) e entre HP (*mean rank* = 49,31) e HD ($p = 0,001$).

Por fim, no Bloco 3, entre Controlo (*mean rank* = 46,87) e HD (*mean rank* = 80,95) ($p < 0,001$) e entre HP (*mean rank* = 48,05) e HD ($p < 0,001$).

Resumindo, a variável - Tempo/Bloco mostrou-se sensível, nos três graus de dificuldade, na distinção do grupo HD dos restantes, mostrando-se, no entanto, incapaz de demonstrar diferenças significativas entre Controlos e HP.

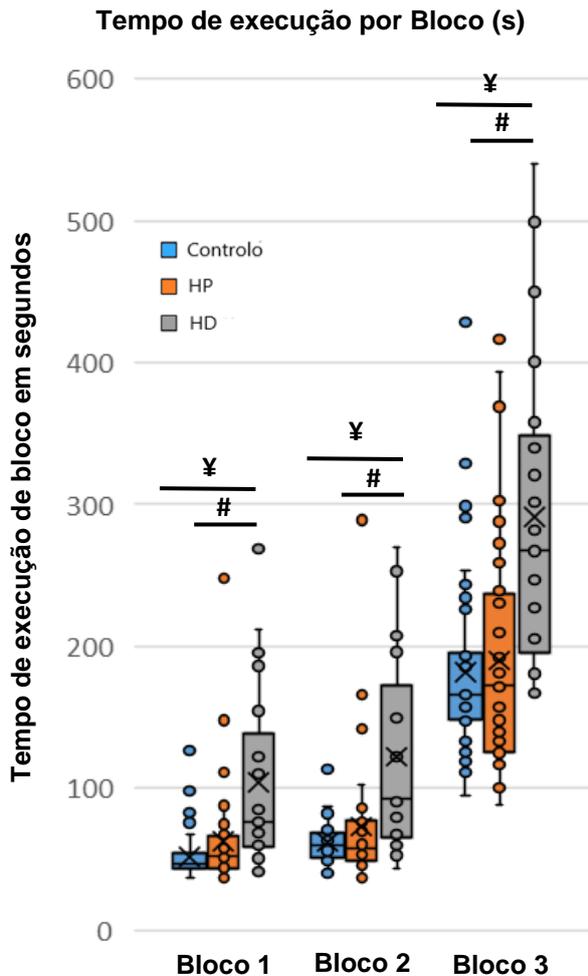


Figura 5 – Boxplot da variável - tempo de execução de bloco. Marcas centrais representam a mediana (traço) e a média (cruz), os limites da caixa representam o percentil 25 e 75 e os bigodes os pontos extremos, máximo e mínimo. *Diferenças significativas estão assinaladas na figura: ¥ - HD≠Controló; # - HD≠HP;*

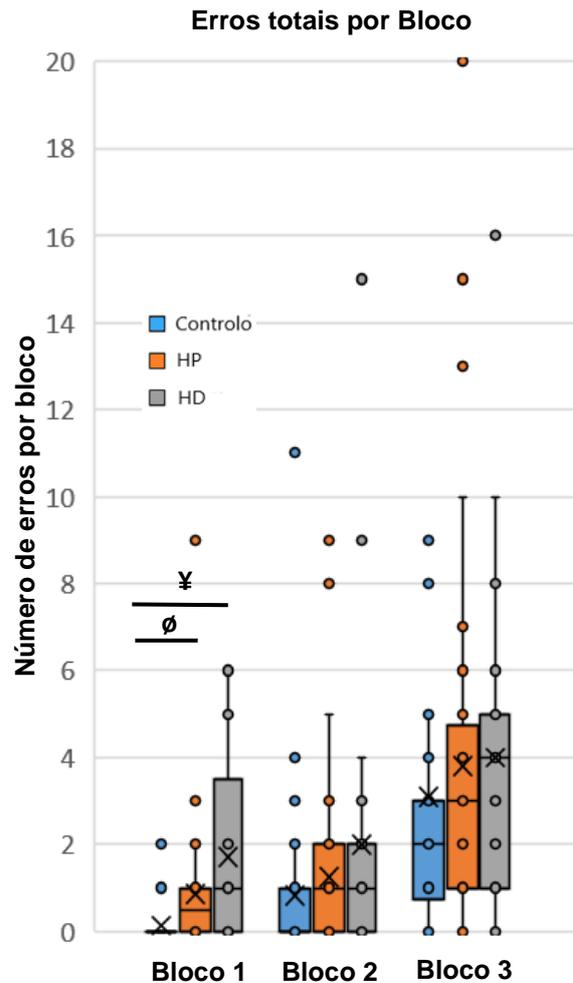


Figura 6 – Boxplot da variável - erros totais por bloco. Marcas centrais representam a mediana (traço) e a média (cruz), os limites da caixa representam o percentil 25 e 75 e os bigodes os pontos extremos, máximo e mínimo. *Diferenças significativas assinaladas na figura: ∅ - Controló ≠ HP; ¥ - HD≠Controló*

4.1.2 Erros totais por Bloco (Erros/Bloco)

O teste de *Kruskall-Wallis* revelou um efeito de grupo significativo para o Bloco 1 ($X^2(2) = 21,388, p < 0,001$) e Bloco 3 ($X^2(2) = 7,464, p = 0,024$). O bloco 2 não mostrou resultados estatisticamente significativos ($X^2(2) = 2,983, p = 0,225$).

Como tal, foram levadas a cargo comparações *Pairwise*, usando o procedimento de *Dunn* (1964), com uma correção de *Bonferroni* para comparações múltiplas, para os Blocos 1 e 3. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 3, reportando valores de *p* corrigidos. A análise *post hoc* revelou diferenças estatisticamente significativas:

No Bloco 1, entre Controló (*mean rank* = 40,92) e HP (*mean rank* = 61,24) ($p = 0,001$) e entre Controló e HD (*mean rank* = 68,86) ($p < 0,001$).

No Bloco 3, apesar do teste de KW ter tido resultados significativos, as comparações Pairwise corrigidas não atingiram significância estatística.

Deste modo, a variável - Erros/Bloco mostrou-se sensível, na distinção do grupo Controlo dos restantes, no bloco 1.

4.1.3 Efeitos do aumento da carga executiva

De modo a averiguar a existência de uma carga cognitiva incremental (Bloco 1 < Bloco 2 < Bloco 3), foi realizado o teste de *Friedman*, seguido de comparações *pairwise*, caso o primeiro se revelasse significativo. Foi aplicado o teste de *Bonferroni* para comparações múltiplas, sendo reportado o valor de p corrigido.

O número de erros por tempo foi significativamente diferente entre blocos $X^2(2) = 75,358$, ($p < 0,000$). A análise *post-hoc* revelou diferenças estatisticamente significativas entre o Bloco 3 (Mdn = 0,108) e o Bloco 1 (Mdn= 0,000) ($p < 0,001$) e entre o Bloco 2 (Mdn=0,000) e o Bloco 3 ($p < 0,001$). Não se encontraram diferenças entre o Bloco 1 e o Bloco 2 ($p = 0,227$).

Assim, o bloco 3 provou-se mais exigente que os restantes blocos, no entanto não podemos afirmar que o bloco 2 é mais exigente que o bloco 1.

Tabela 3 – Resumo dos resultados da análise estatística das variáveis comportamentais – Tempo de execução por bloco e erros por bloco.

	Kruskal – Wallis	CTRL – HP	CTRL – HD	HP – HD
Tempo/Bloco 1	$X^2(2) = 22,144, p < 0,001$	$p = 0,304$	$p < 0,001$	$p = 0,003$
Tempo/Bloco 2	$X^2(2) = 18,068, p < 0,001$	$p = 1,000$	$p < 0,001$	$p = 0,001$
Tempo/Bloco 3	$X^2(2) = 19,740, p < 0,001$	$p = 1,000$	$p < 0,001$	$p < 0,001$
Erros/Bloco 1	$X^2(2) = 21,388, p < 0,001$	$p = 0,001$	$p < 0,001$	$p = 0,837$
Erros/Bloco 2	$X^2(2) = 2,983, p = 0,225$	-	-	-
Erros/Bloco 3	$X^2(2) = 7,464, p = 0,024$	$p = 0,080$	$p = 0,061$	$p = 1,000$

Legenda: A primeira coluna representa os resultados do teste de Kruskal-Wallis, seguidos por comparações *pairwise* no caso de resultados significativos. CTRL - Controlos; HP - Doentes de Huntington pré-sintomáticos; HD - Doentes de Huntington com sintomatologia em fase inicial; Resultados significativos assinalados a amarelo ($p < 0,05$).

4.2 Regressão quadrática - Performance/Neurodegeneração (anos de doença e estimativa de anos para a doença)

Como descrito na secção métodos, o interesse do estudo recaía sobre a identificação das medidas comportamentais com maior carga executiva, que demonstrassem diferenças entre HP e HD, sem, no entanto, distinguirem pré-sintomáticos de controlos. Como tal, apresentam-se os resultados da regressão quadrática entre o tempo de execução do bloco 3 e a neurodegeneração, visto ter sido a única variável a enquadrar-se nas características supramencionadas. De forma a transformar tempos mais longos de execução em indicativos de pior performance, o tempo de execução foi multiplicado por -1.

Assim, foi realizada uma regressão quadrática que estabeleceu que a Neurodegeneração poderia prever, de forma estatisticamente significativa ($Z(2,58) = 10,422$, p corrigido (*Benjamini Hochberg*) $< 0,001$, $FDR < 0,05$), a performance da variável Tempo/Bloco 3. A neurodegeneração conseguiu explicar 23,9% da variância da variável dependente do modelo (R^2 ajustado para a população). A equação da regressão foi a seguinte: Performance (tempo/bloco3) = $-0,0656(\text{Neurodegeneração})^2 - 5,4021(\text{Neurodegeneração}) - 260,51$.

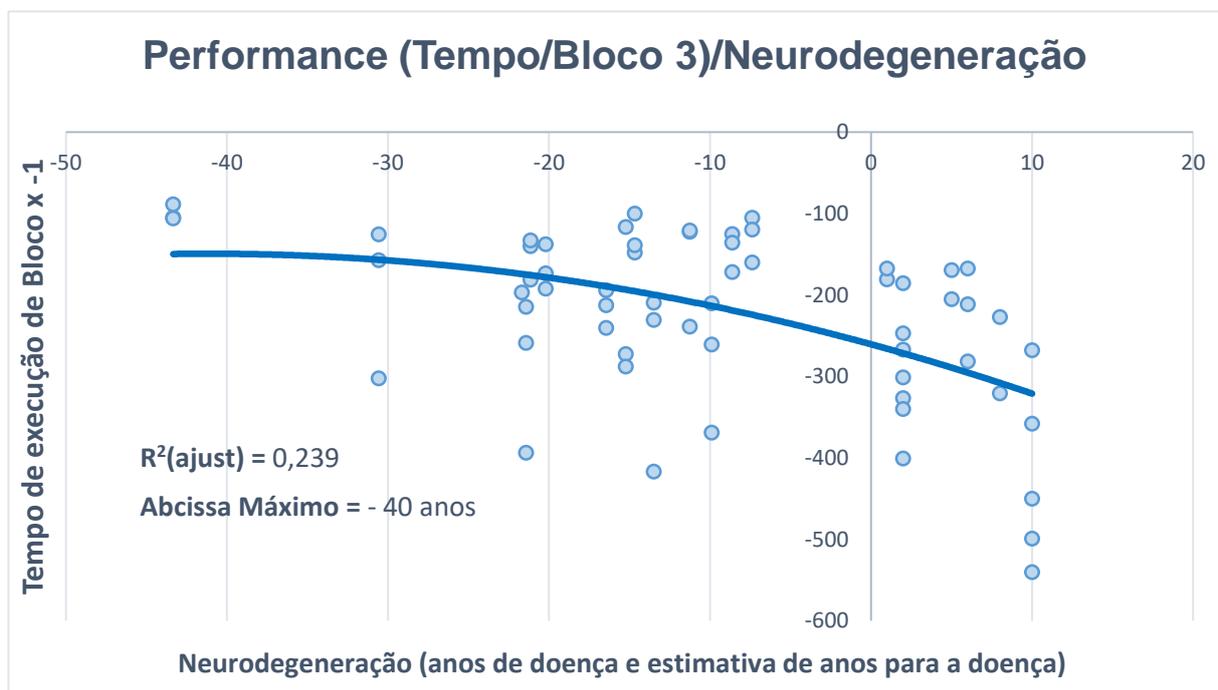


Figura 7 – Regressão quadrática da variável “tempo de execução do bloco 3” com a neurodegeneração. $R^2(\text{ajust})$ – proporção da variância da variável dependente explicada pela variável independente, ajustada para a população.

4.3 Resultado da análise dos dados funcionais segundo o modelo linear geral (GLM)

Áreas ativadas pela tarefa

Os dados de ressonância funcionais recolhidos dos 39 sujeitos foram integrados num GLM de modo a perceber quais as áreas ativadas por esta tarefa em particular (bloco 1 + bloco 2 + bloco 3 > *baseline*). Os resultados encontram-se representados nas Tabelas 4 e 5. Foram isoladas diversas áreas para um $p < 0,01$ (*FDR*), incluindo um *cluster* occipito-fronto-parietal, cujos picos de ativação tiveram de ser extraídos manualmente após o uso de um *threshold* mínimo de ativação de $t \geq 6$.

A figura 8 permite uma representação visual dos mesmos, em conjunto com as regiões de interesse definidas *a priori*.

Tabela 3 – Localização dos picos máximos das ativações da tarefa dos três grupos (GLM).

Clusters de Áreas Ativadas Pela Tarefa	X	Y	Z	t	P	Nº de Voxeis
Giro Temporal Superior Direito, BA 22	54	11	-1	7.178688	<0.00000	2926
Giro Pós Central Direito, Lobo Parietal, BA 2	55	-22	49	3.324507	0.001970	48
Giro Frontal Médio Direito, BA 9	36	42	34	6.375016	<0.00000	3384
Lobo Parietal Inferior Direito, BA 40	33	-37	43	3.279331	0.002232	74
Tálamo Esquerdo	-12	-16	10	4.925559	0.000017	208
Giro Pré Central Esquerdo, Lobo Frontal, BA 6	-51	2	37	4.994303	0.000014	790
Lobo Temporal Superior Esquerdo, BA 22	-57	11	1	4.142098	0.000185	127
Giro Pós Central Esquerdo, Lobo Parietal, BA 40	-57	-28	19	3.767725	0.000559	43

Legenda: As áreas representadas resultam dos clusters isolados do mapa corrigido para $FDR < 0,01$. Adicionalmente foi isolado um mega cluster, representado na tabela 5. X, Y, Z representam as coordenadas no espaço Talairach. “t” traduz o resultado do teste estatístico e p o nível de significância estatística. BA – Brodmann Area.

Tabela 5 – Localização dos picos máximos das ativações da tarefa dos três grupos (GLM) isolados manualmente a partir do cluster.

Áreas Pertencentes ao Cluster Occipito-Fronto-Parietal	X	Y	Z	T	P
Giro Lingual, Lobo Occipital Esquerdo, BA 18	0	-82	-8	14,2991	<0,000001
Giro Pré Central Direito, Lobo Frontal, BA 6	42	-7	55	7,675904	<0,000001
Giro Frontal Superior Direito, BA 6	27	-7	64	6,461107	<0,000001
Pré- Cúneo Direito, Lobo Parietal, BA 7	12	-73	50	7,12503	<0,000001
Giro Frontal Médio Direito, BA 6	3	-1	49	8,342365	<0,000001
Pré- Cúneo Esquerdo, Lobo Parietal, BA 7	0	-55	61	7,961065	<0,000001
Giro Frontal Superior Direito, BA 6	3	-1	67	6,23608	<0,000001
Giro Frontal Médio Esquerdo, BA 6	0	-16	70	7,755877	<0,000001
Pré- Cúneo Esquerdo, Lobo Parietal, BA 7	-3	-77	49	7,701773	<0,000001
Lobo Parietal Superior Esquerdo, BA 7	-24	-61	49	8,67562	<0,000001
Giro Frontal Médio Esquerdo, BA 6	-24	-7	55	10,03971	<0,000001
Pré- Cúneo Esquerdo, Lobo Parietal, BA 7	-30	-46	49	8,387617	<0,000001

Legenda: As áreas representadas resultam dos clusters isolados do mapa corrigido para $FDR < 0,01$. A, após definição de um threshold mínimo de $t \geq 6$. BA – Brodmann Area. X, Y, Z representam as coordenadas no espaço Talairach. “t” traduz o resultado do teste estatístico e p o nível de significância estatística.

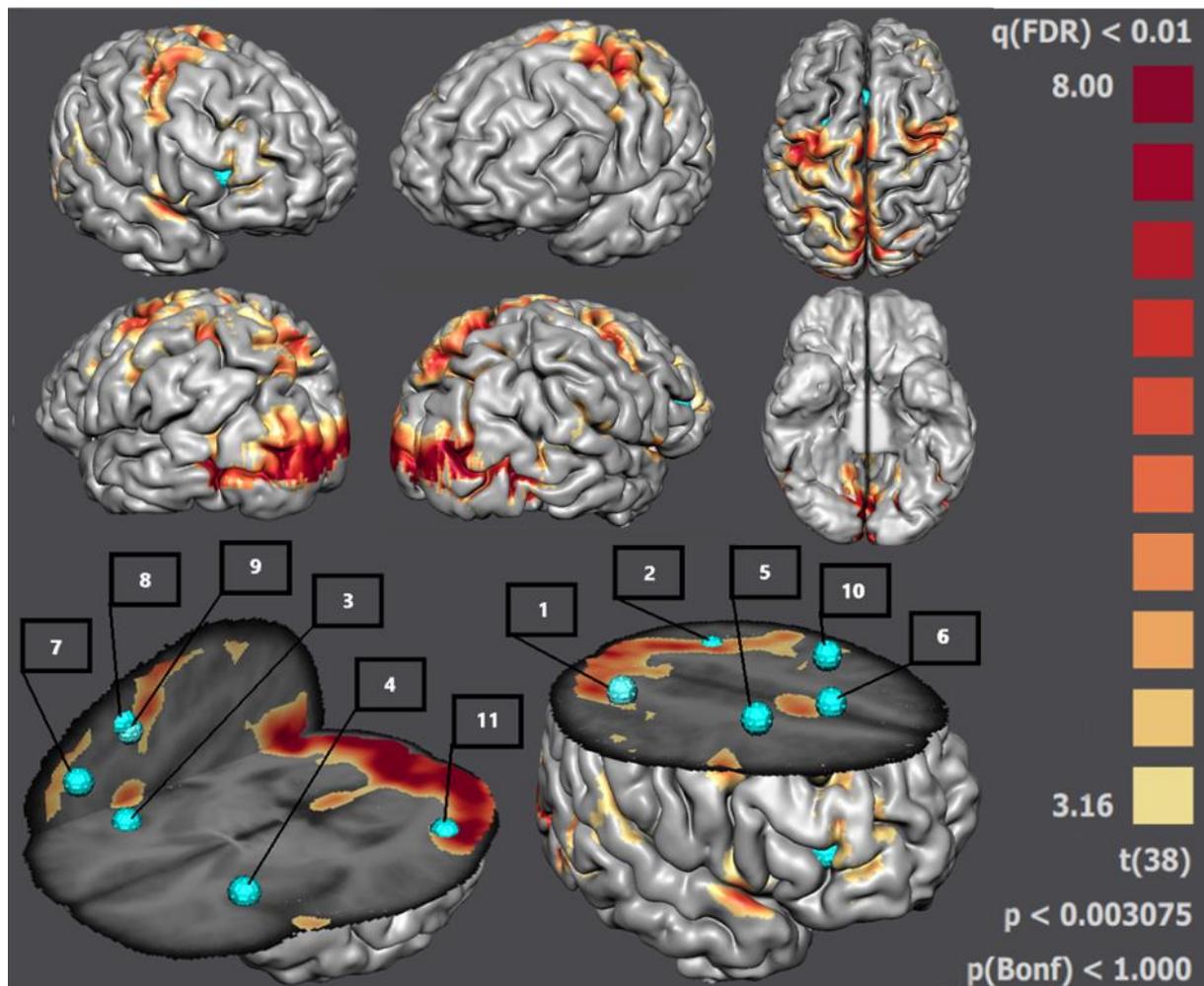


Figura 8- Mapa estatístico resultante das ativações da tarefa (GLM), para todos os grupos, corrigido para $FDR < 0,01$ com a sobreposição da localização das regiões de interesse (azul). O modelo de superfície usado é representado por um cérebro de um indivíduo normal, estandardizado no espaço Talairach, contrariamente aos cortes que advêm de um ficheiro anatómico médio derivado dos 39 sujeitos. Foram apenas consideradas ativações e não deativações, dado o interesse da tarefa.

4.4 Dados funcionais ressonância - Regressões quadráticas

Atividade/Neurodegeneração (anos de doença e estimativa de anos para a doença)

Como descrito na secção métodos, o interesse do estudo recaía sobre a identificação das medidas comportamentais com maior carga executiva, que demonstrassem diferenças entre HP e HD, sem, no entanto, distinguirem pré-sintomáticos de controlos. Como reforçado anteriormente, a manutenção da performance é necessária para testar compensação, no entanto, a capacidade de uma tarefa demonstrar diferenças entre controlos e pré-sintomáticos em graus de dificuldade elevados, como as descritas em Júlio⁽²⁶⁾, é de extrema importância para averiguar a sensibilidade da tarefa na deteção do “teto” da compensação.

Como tal, apresentam-se os resultados das regressões quadráticas entre a atividade cerebral captada durante a execução do bloco 3 e neurodegeneração, nas onze regiões de interesse identificadas. Os resultados da análise estatística encontram-se expostos na tabela 6 e 7. A representação gráfica das regressões pode ser visualizada na figura 10, enquanto que na figura 9 é possível observar a sobreposição da relação de performance com a relação de atividade de modo a obter a imagem do modelo teórico, apresentada na introdução.

Tabela 6 – Equações das regressões quadráticas significativas das regiões de interesse.

ROI's significativas	Equação da Regressão
1 – <i>Lóbulo Parietal Superior Direito, BA 7</i>	$y = -0,0011x^2 - 0,0148x + 0,4004$
5 – <i>Giro Frontal Médio Direito, BA 6</i>	$y = -0,0009x^2 - 0,004x + 0,3175$
6 – <i>Giro Frontal Médio Esquerdo, BA 6</i>	$y = -0,0008x^2 + 0,0035x + 0,3142$
8 – <i>Giro Frontal Médio Direito, BA 9</i>	$y = -0,0011x^2 - 0,0158x + 0,2754$
9 – <i>Giro Frontal Inferior Direito, BA 9</i>	$y = 0,0007x^2 - 0,0058x + 0,1978$

Legenda: São apenas apresentadas as equações das regiões de interesse significativas. **ROI** – região de interesse. **BA** – Brodmann área.

Tabela 7 – Resultados estatísticos das regressões quadráticas, usando o bloco 3, nas onze regiões de interesse.

ROI	Z	R ²	R ² (ajust)	p	Benjamini Hochberg (FDR ≤ 0,05)	Abcissa do Máximo
1 – Lóbulo Parietal Superior Direito, BA 7	Z (2;20) = 4,698	0,32	0,252	0,021	0,042	≈ - 7 anos
2 – Lóbulo Parietal Inferior Esquerdo, BA 40	Z (2;20) = 3,518	0,26	0,186	0,049	0,084	-
3 – Insula Direita, BA 13	Z (2;20) = 0,118	0,012	-0,087	0,889	0,889	-
4 – Insula Esquerda, BA 13	Z (2;20) = 0,356	0,034	-0,062	0,705	0,769	-
5 – Giro Frontal Médio Direito, BA 6	Z (2;20) = 6,629	0,399	0,338	0,006	0,018	≈ - 2 anos
6 – Giro Frontal Médio Esquerdo, BA 6	Z (2;20) = 8,496	0,459	0,405	0,002	0,012	≈ 2 anos
7 – Giro Frontal Médio Direito, BA 46	Z (2;20) = 1,754	0,149	0,064	0,199	0,2544	-
8 – Giro Frontal Médio Direito, BA 9	Z (2;20) = 6,986	0,411	0,352	0,005	0,018	≈ - 7 anos
9 – Giro Frontal Inferior Direito, BA 9	Z (2;20) = 5,705	0,363	0,30	0,011	0,0264	≈ - 4 anos
10 – Giro Frontal Esquerdo, Sub-Giral, BA 6	Z (2;20) = 3,250	0,245	0,170	0,060	0,09	-
11 – Giro Occipital Médio Esquerdo, BA 37	Z (2;20) = 1,676	0,144	0,058	0,212	0,2544	-
Média das abcissas dos máximos das curvas significativas						-3,6 anos

Legenda: Z – Estatística do teste; R² – proporção da variância da variável dependente explicada pela variável independente; R²(ajust) – R² ajustado para a população; p – valor de significância (<0,05); BA – área de Brodmann; Em relação à coluna “Abcissa do Máximo” o valor de 0 anos corresponde ao diagnóstico clínico ao passo que valores negativos referem-se ao período pré-sintomático. Resultados significativos encontram-se assinalados a amarelo.

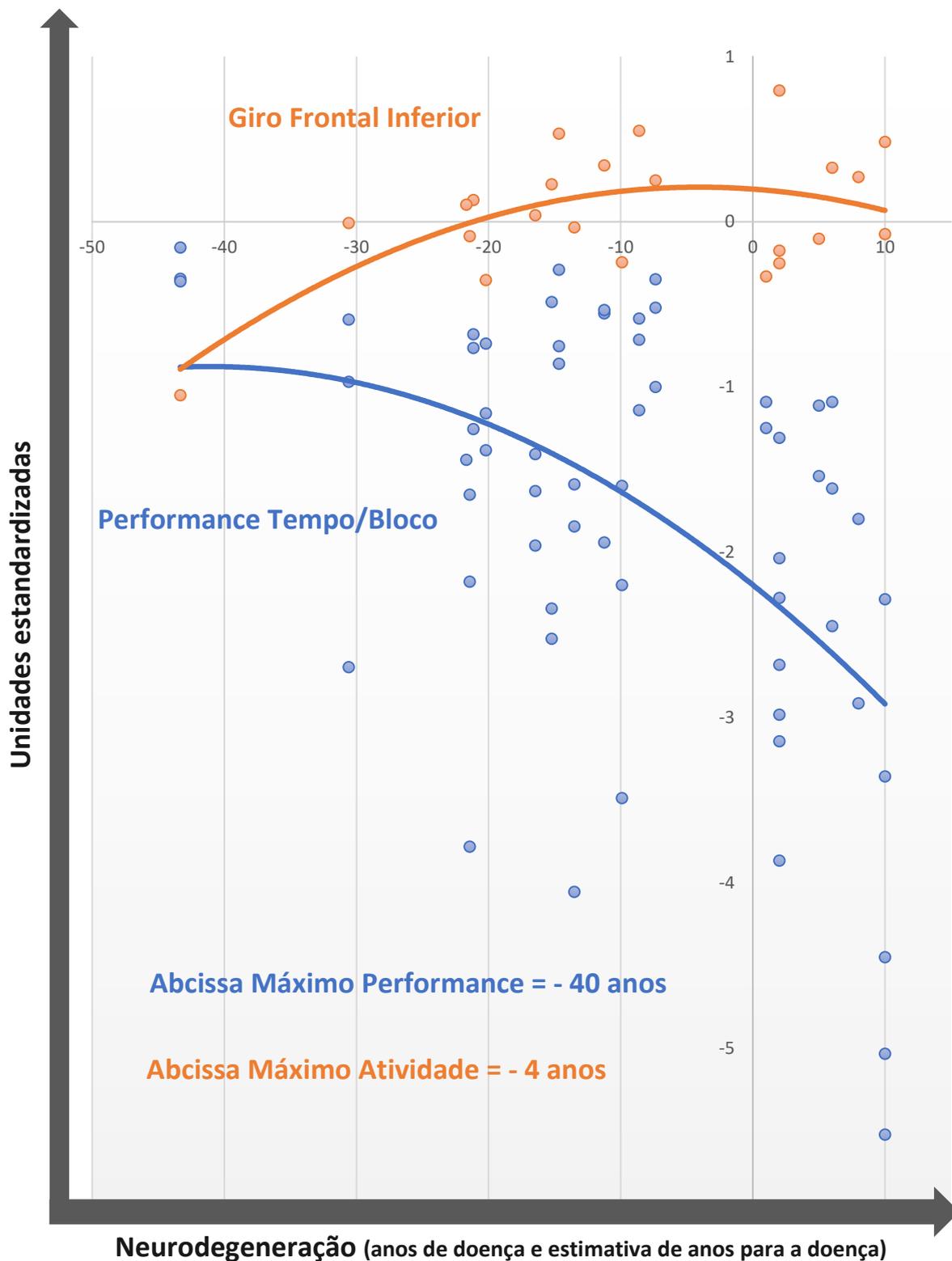


Figura 9 – Sobreposição das relações quadráticas invertidas, de acordo com o modelo teórico. As unidades do eixo das ordenadas foram ajustadas de modo a ambas as curvas terem o mesmo ponto de início, para feitos de visualização. Observa-se uma queda precoce da performance mesmo acompanhada de um aumento da atividade cerebral. Foi utilizado o Giro Frontal Inferior dado a abcissa do seu máximo ser próxima da média das curvas significativas.

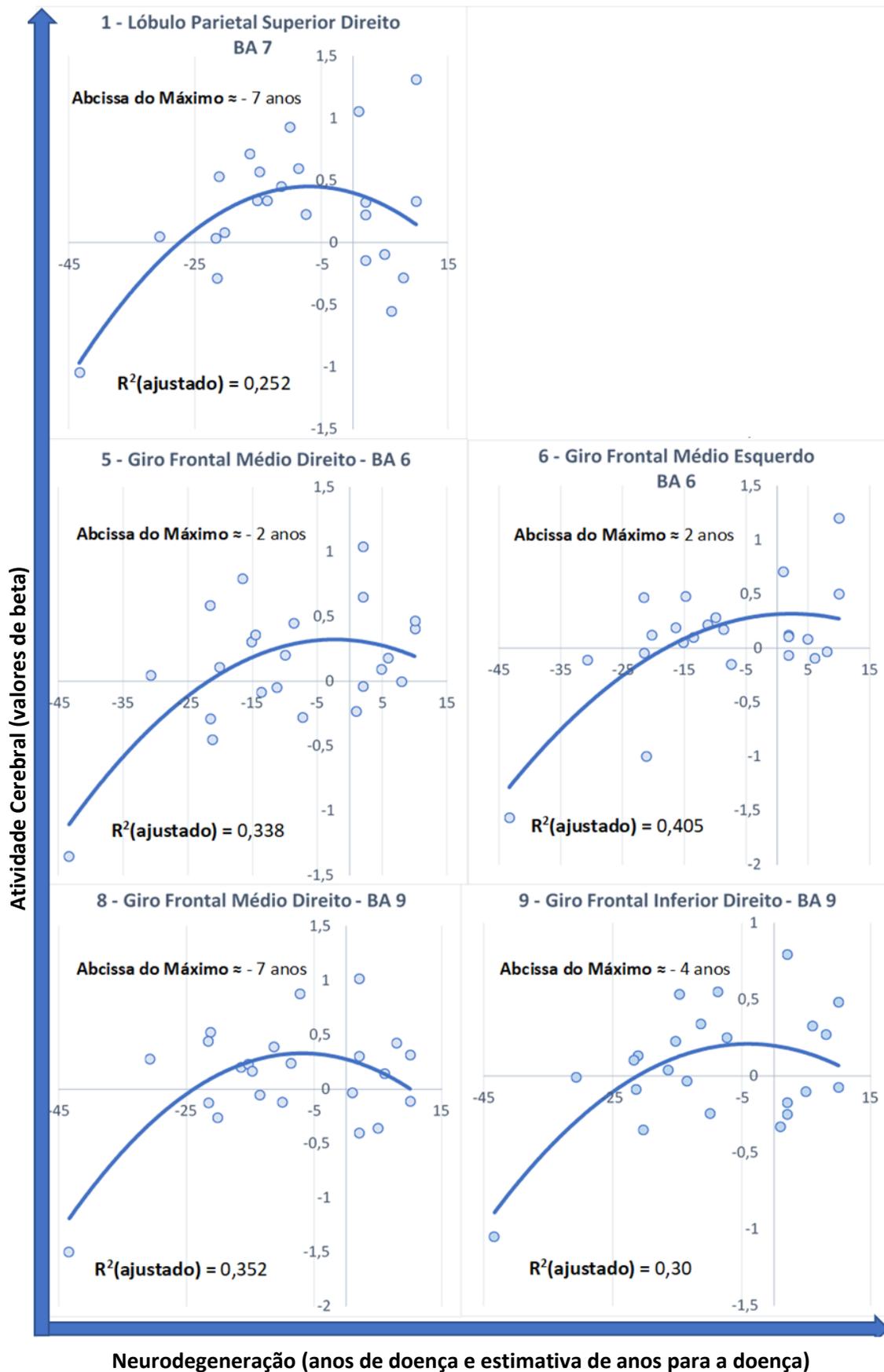


Figura 10 – Representação visual das regressões quadráticas significativas entre atividade cerebral (Y) e neurodegeneração (X).

5. Discussão:

O presente estudo teve como objetivo a investigação empírica de compensação, através da identificação de padrões de compensação e performance quadráticos de concavidade invertida, bem como a determinação do início da disfunção executiva, partindo do modelo operacionalizado por Gregory⁽²⁰⁾. Para tal, recorreremos a um modelo transversal na Doença de Huntington e ao uso de uma nova tarefa executiva, tendo analisado 6 variáveis comportamentais e 11 regiões de interesse em busca de padrões associados a compensação.

Os resultados serão discutidos em 3 secções. Na primeira fazemos a análise dos resultados comportamentais e de atividade, seguida da equiparação dos resultados com a literatura disponível, concluindo com algumas sugestões metodológicas e limitações.

5.1 Discussão dos resultados

Em relação à análise dos dados comportamentais, obtivemos resultados compatíveis com o expectável para esta tarefa⁽²⁶⁾. A tarefa revelou-se sensível na deteção de diferenças entre o grupo HD em relação aos restantes, em todos os blocos, para a variável tempo/bloco, replicando os achados do estudo original. Da mesma maneira, obtivemos concordância na comparação entre todos os graus de dificuldade, já que o bloco 3 se revelou mais exigente que o bloco 2 e 1, sem, no entanto, se terem demonstrado diferenças significativas entre estes dois últimos.

Porém, a principal diferença residiu na análise do número de erros por bloco. Ao contrário do esperado, a análise revelou diferenças significativas entre os grupos Controlo e HP para o bloco 1, ao invés do bloco 3, o bloco com maior carga executiva. No entanto, apesar de não significativo, observa-se através da distribuição boxplot uma tendência para o aumento de erros conforme o aumento da carga de doença (HD>HP>CTRL), suportando a coerência dos nossos resultados.

Os grupos CTRL e HP não mostraram diferenças no tempo de execução, embora ambos tivessem mostrado diferenças significativas em comparação com o grupo HD, em qualquer das tarefas propostas. A variável 'tempo' para o bloco 3 foi usada como métrica comportamental para a construção das curvas dado ser a mais exigente cognitivamente e dado ter mostrado diferenças consistentes entre grupos para todos os blocos, com crescente significância estatística com o aumentar de dificuldade.

A não existência de outras diferenças comportamentais entre os grupos CTRL e HP pode dever-se ao largo espectro de doentes pré sintomáticos recrutados. No entanto, este era um requerimento fundamental para a construção das curvas de atividade e performance que constituem o objetivo deste trabalho. Como tal, foram incorporados indivíduos de alta

performance e longe do início dos sintomas clínicos (~ -40anos) que acabam por “dissolver” as possíveis diferenças de HP perto do diagnóstico, onde é expectável estas existirem. Dirigindo agora a nossa atenção sobre a curva de performance/neurodegeneração, tal como previsto pelo modelo teórico, obtivemos com sucesso uma regressão polinomial significativa, com um r^2 corrigido de 0,23.

Torna-se importante sublinhar a coerência dos nossos resultados com o expectável, já que se observa que a performance se encontra maximizada nos portadores a mais anos do diagnóstico clínico. Verifica-se também que esta decai, de um modo mais lento inicialmente, acelerando com a progressão da doença, traduzindo o esgotamento dos mecanismos compensatórios.

Adicionalmente, através da visualização do gráfico de dispersão, nota-se uma clara diferença entre a performance dos pré-sintomáticos e doentes clinicamente afetados, em especial junto ao tempo de diagnóstico. Apesar de não ser possível determinar a partir de que ponto em concreto do curso da doença é que a quebra de performance se torna significativa face a controlos, o padrão da curva parece demonstrar uma afetação da função executiva antes do início dos sintomas clínicos.

A sobreposição das curvas de atividade e performance permite observar inicialmente uma ligeira queda da performance que antecede o pico da curva de atividade e que posteriormente acelera com a progressiva neurodegeneração.

Relativamente aos padrões de atividade observados nos resultados do GLM, ou seja, as áreas ativadas pela tarefa, representadas na Tabela 4, destaca-se sobretudo o recrutamento de áreas executivas, motoras, visuais, linguísticas e sensoriais. Áreas incorporadas no Giro Frontal Médio e Superior, Lóbulo Parietal Inferior e Superior estão associadas a diversas funções executivas entre as quais memória de trabalho⁽⁴⁴⁾, controlo motor executivo⁽⁴⁵⁾, planeamento e resolução de problemas⁽⁴⁶⁾, atenção⁽⁴⁷⁾ e raciocínio dedutivo^{(45), (48), (49)}.

Simultaneamente, algumas das áreas previamente mencionadas possuem também um papel motor, justificado pela necessidade de operar o joystick. A forte componente visual e sensorial associa-se à própria tarefa, já que existe uma grande necessidade em identificar e localizar objetos e processar a informação visuo-espacial do ambiente em redor. Adicionalmente foram identificadas áreas temporais (esquerdas) associadas a questões léxico-semânticas, cuja ativação pode ser enquadrada no contexto do raciocínio dedutivo, já que este é parcialmente mediado pela linguagem. Esta função integra uma rede complexa que se estende desde o lobo frontal (BA 46/BA 45) até ao lobo occipital (BA 37), incluída nas regiões de interesse e que não está, convencionalmente, associada a controlo executivo⁽⁵⁰⁾.

Deste modo, consideramos que ativações encontradas estão em linha com o contexto do controlo executivo.

Por fim, concluímos com a análise das polinomiais quadráticas de atividade, onde 5 padrões significativos compatíveis com compensação foram identificados. Observa-se uma grande consistência interna dos resultados significativos, dado que todos apresentam a concavidade orientada para baixo e denota-se uma grande concordância nos valores da abscissa do máximo, localizadas entre os -7 anos e 2 anos. Deste modo, o início da afetação das capacidades executivas parece acontecer neste intervalo, em média a 3,6 anos do diagnóstico clínico.

Em termos da prática clínica, estes achados revelam-se particularmente importantes, já que o médico é frequentemente confrontado com queixas subjetivas de muitos portadores assintomáticos, no que diz respeito à perda precoce de capacidades cognitivas⁽²⁶⁾. Deste modo, os resultados obtidos valorizam os sintomas do doente e contrapõem os achados de alguns estudos comportamentais, que falham na demonstração de diferenças, por serem menos ecológicos.

Dentro do possível, estabelecemos uma relação entre as curvas de atividade e performance encontradas, através da sua sobreposição, observando-se uma diminuição da performance antes do pico de atividade, traduzindo o esgotamento dos mecanismos compensatórios que surge com o atingimento do *plateau* na curva de atividade, comprovando assim o modelo teórico por inteiro.

Importa ainda destacar os valores de r^2 corrigidos atingidos, dado o contexto de ressonância⁽⁴³⁾ tendo em média a neurodegeneração conseguido explicar 32,9% da variação da atividade cerebral.

5.2 Comparação de resultados

Tendo em conta as áreas significativas identificadas, é possível observar uma forte predominância do hemisfério direito como fonte compensatória (4 de 5 áreas). Este achado não é acidental, dado que as ROI's originais continham 5 áreas localizadas à esquerda, de um total de 11. Assim, o nosso estudo parece replicar as conclusões descritas na literatura^(51, 52), de um córtex direito mais resiliente que suporta através de mecanismos compensatórios o hemisfério esquerdo. Um dos motivos que poderá estar por de trás desta lateralização assenta sobre um maior efeito dos mecanismos citotóxicos e de stress⁽⁵³⁾, uma vez que corresponde ao hemisfério dominante para processamento de informação linguística na maioria da população. Acresce ainda o facto de a única ROI esquerda significativa estar localizada praticamente na linha média.

As áreas identificadas como potencialmente compensadoras foram o Giro Frontal Médio (GFM) bilateralmente, Giro Frontal Inferior Direito (GFI) e Lobo Parietal Superior Direito (LPS).

Simultaneamente, é a primeira vez que é usada uma tarefa ecológica, fazendo uma abordagem global sem se focalizar numa subcomponente executiva em particular. Consequentemente discutiremos sobretudo os resultados de ativações, resultantes de comparações entre pré-sintomáticos e sintomáticos nas várias componentes do controlo executivo. Comparações de atividade com controlos, serão menos debatidas, já que não foram parte integrante do modelo testado neste estudo. Paralelamente, será feita uma equiparação com estudos na área da conectividade, não com o objetivo de inferir sobre atividade, mas com o objetivo de demonstrar o envolvimento das áreas executivas encontradas em outras linhas de investigação. Adicionalmente, trata-se de uma área em crescente expansão e com desenhos de estudo mais operacionalizados em contexto de compensação.

Começando pelo GFM, Kloppel⁽⁸⁾, num estudo de controlo motor executivo, demonstrou através de uma regressão linear, que a ativação da área motora suplementar (SMA) nele contida, diminuía com a maior proximidade ao início dos sintomas clínicos, implicando uma quebra precoce da atividade desta região. Estes achados foram replicados por Scheller⁽¹⁶⁾, que estabeleceu as mesmas regressões lineares e adicionalmente emparelhou a diminuição da atividade do córtex pré-motor, com o aumento da atividade do córtex parietal superior. Noutro estudo, Unschuld⁽²⁴⁾, num estudo transversal de conectividade com recurso a uma tarefa executiva não ecológica, reportou uma correlação linear negativa entre conexão funcional entre o córtex pré-frontal medial e o córtex pré-motor esquerdo e o aumento da neurodegeneração (HP e HD). Esta diminuição acentuava-se com o grau de dificuldade da tarefa e com a crescente atrofia do putamen, na presença de preservação da performance do grupo HP e quebra no grupo HD.

Deste modo, acreditamos que estes achados reforçam o possível papel do córtex pré motor, integrado no giro frontal médio, enquanto área compensatória e advogam uma afetação precoce do controlo executivo, visto que, a quebra da atividade se verifica no grupo pré-sintomático, embora na ausência de diminuição de performance.

Já o córtex parietal superior direito surge também como área compensatória no estudo operacionalizado em memória de trabalho por Kloppel⁽⁹⁾, onde foi estabelecido um padrão de compensação através de uma regressão linear negativa com o avanço da neurodegeneração.

Por outro lado, Gray⁽²³⁾, reportou uma correlação entre a diminuição da atividade no córtex pré-frontal dorsolateral (DLPFC) bilateralmente e a quebra de performance no grupo HD (inibição). Estes resultados foram replicados, mais tarde, num estudo longitudinal de

alternância e atenção⁽²²⁾, o que pode traduzir de alguma forma, a porção descendente da curva de atividade, após a quebra da performance e sugerir uma possível zona compensatória em pré-sintomáticos.

Recentemente, esta área foi explorada com maior rigor em dois novos estudos. Lahr⁽⁵⁴⁾, através do uso da conectividade efetiva em memória de trabalho, reportou uma diminuição da conectividade do DLPFC com outras regiões, nos HP e de modo mais acentuado nos HD. A performance quebrou nos HD, mas manteve-se nos HP, à custa de um maior tempo de realização. Gregory⁽²¹⁾, num estudo longitudinal operacionalizado da mesma temática, replica os achados, no entanto através de um modelo de regressão quadrática/cúbica, similar ao nosso.

Deste modo, estes estudos reforçam o papel desta área enquanto compensatória. O DLPFC apesar de constar das nossas ROIs à priori não mostrou diferenças significativas.

Por fim, Rao⁽²⁵⁾ num estudo de controlo inibitório, agrupou sujeitos HP num espectro de carga de doença (baixo, médio e alto) e comparou a intensidade média do sinal BOLD em regiões definidas à priori, juntamente com controlos. Após a análise dos seus resultados, verificou-se que no contraste entre acertos e erros numa tarefa de controlo inibitório, apenas o giro frontal inferior direito (GFI) mostrou um padrão compatível com o modelo quadrático de compensação. Apoiando os nossos resultados, o GFI, mostrou um nível de ativação média semelhante entre controlos e participantes com baixa carga de doença, que duplicou nos indivíduos com carga média, e voltou a diminuir nos indivíduos de alta carga de doença, como que desenhando a curva da compensação. Dado que o pico de atividade se encontrava na carga média, depreende-se um deslocamento do máximo da curva de atividade para a esquerda, revelando uma afetação precoce destes indivíduos (HP), suportado pelo facto de a quebra da performance se ter manifestado no grupo com alta carga de doença. Este último encontrava-se em média a menos de 7,59 anos do diagnóstico clínico, traduzindo o início da falha nos mecanismos de compensação em linha com os nossos dados (3,6 anos do início dos sintomas motores). Simultaneamente, a insula direita não revelou um padrão compatível com o nosso modelo teórico, apoiando os nossos resultados de uma insula não significativa para compensação.

5.3 Considerações Metodológicas e Sugestões Futuras

O presente estudo contém as limitações inerentes a um desenho transversal⁽²¹⁾, já que a compensação é em si um processo longitudinal e cada individuo terá as suas respostas compensatórias, pois a doença pode não seguir um curso canónico.

Relativamente à seleção das regiões de interesse optou-se pelo uso de ROIs da literatura. Esta abordagem evita por completo o problema da circularidade, visto que mantêm

total independência entre os dados usados para definir regiões e os dados da tarefa. Dado tratar-se de uma metanálise, de preservar o poder estatístico inicial e de ser uma tarefa nova sem estudos sobre ativações, considerou-se esta abordagem vantajosa em relação às demais, como a extração de áreas funcionais dos controlos, uso de um bloco para determinar as áreas ativadas pela tarefa e excluí-lo da análise posteriormente e por fim, o uso de regiões de interesse de outro estudo na literatura.

Verificou-se ainda, que as regiões selecionadas, enquadram-se no contexto geral do controlo executivo e parecem relativamente próximas das próprias ativações da tarefa - GLM. Um problema associado à análise baseada em ROI's é a incapacidade de encontrar compensação em áreas não previstas à priori.

Por fim, apontamos três pontos do desenho experimental de estudos de compensação, que poderão ser melhorados de modo a encontrar um conceito mais operacionalizado:

Estudos recentes^(9, 21) têm integrado medidas de dano estrutural anatómico nos modelos compensatórios, já que, para falar em compensação é necessário a deteção de alterações cerebrais que necessitem de ser compensadas. No entanto, se o objetivo é comprovar a existência de alterações cerebrais não é necessário recorrer a medidas de volume anatómico, já que a patologia na doença de Huntington se encontra presente desde o nascimento e progride linearmente com o tempo^(55, 56) e a desregulação funcional e metabólica antecede as alterações estruturais^(57, 58). Se, por outro lado, o objetivo é estabelecer relações entre atrofia e atividade, é necessário encontrar, através de estudos de conectividade, quais as áreas compensatórias e compensadas e entre estabelecer elas estas relações. Esta abordagem distingue-se do recorrente uso da atrofia do caudado ou medidas de volume cerebral total, que muitas vezes em pouco se correlacionam com as áreas compensatórias em estudo.

De modo a ultrapassar a falta de medidas objetivas para relacionar as curvas de performance e atividade, a solução poderia passar pela integração dos controlos na análise. Assim, através do emparelhamento de um controlo, ajustado para as diversas variáveis, para cada portador da mutação, poderíamos determinar a partir de que ponto do curso da doença, existem diferenças na performance dos dois grupos. Deste modo, o estabelecimento de um nexa com a abcissa do máximo das curvas de atividade tornar-se-ia mais objetiva.

Relativamente à definição de neurodegeneração, propomos a utilização do “*CAP score*” (produto CAG* idade)^(2, 56), dado criar um espetro de carga de doença mais contínuo e homogéneo.

Por último, em relação à parte comportamental dos estudos em função executiva, sugerimos efetuar a comparação de performance entre grupos pré sintomáticos precoces e tardios, em adição à comparação de um curto espetro de doentes junto à transição, visto que

diminuição da performance encontra necessariamente antes do início dos sintomas motores. Adicionalmente, tarefas que com o aumento do grau de dificuldade obtenham quebra de performance são igualmente necessárias.

6. Conclusão

Este estudo investigou a presença de compensação operacionalizada em controlo executivo na doença de Huntington áreas como o GFM bilateral, GFI direito e LPS direito parecem fornecer indícios de compensação operacionalizada e refletem o viés direito descrito na literatura. Simultaneamente, os nossos dados fornecem evidência consistente com uma afetação das funções executivas em média 3,6 anos antes do início dos sintomas motores.

Em suma, destaca-se a complexidade do conceito de compensação e o volume de trabalho ainda por desenvolver, dada a grande variedade de modelos de compensação existentes e a possibilidade da ocorrência de diferentes processos de compensação em simultâneo.

Acreditamos que o principal valor deste trabalho passa pela discussão para a criação de melhores desenhos experimentais que permitam avançar o campo e obter um conceito de compensação mais objetivo e operacionalizado. O objetivo final traduz-se na aplicabilidade clínica, contribuindo para o conhecimento dos efeitos da doença mesmo antes do aparecimento de sintomas motores.

7. Referências Bibliográficas

1. Walker FO. Huntington's disease. *The Lancet*. 2007;369(9557):218-28.
2. Ross CA, Aylward EH, Wild EJ, Langbehn DR, Long JD, Warner JH, et al. Huntington disease: natural history, biomarkers and prospects for therapeutics. *Nature Reviews Neurology*. 2014;10:204.
3. MacDonald ME, Ambrose CM, Duyao MP, Myers RH, Lin C, Srinidhi L, et al. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. *Cell*. 1993;72(6):971-83.
4. Unified Huntington's Disease Rating Scale: reliability and consistency. Huntington Study Group. *Mov Disord*. 1996;11(2):136-42.
5. Tabrizi SJ, Scahill RI, Owen G, Durr A, Leavitt BR, Roos RA, et al. Predictors of phenotypic progression and disease onset in premanifest and early-stage Huntington's disease in the TRACK-HD study: analysis of 36-month observational data. *Lancet Neurol*. 2013;12(7):637-49.
6. Stout JC, Jones R, Labuschagne I, Regan AM, Say MJ, Dumas EM, et al. Evaluation of longitudinal 12 and 24 month cognitive outcomes in premanifest and early Huntington's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2012;83(7):687.
7. Aylward EH, Liu D, Nopoulos PC, Ross CA, Pierson RK, Mills JA, et al. Striatal volume contributes to the prediction of onset of Huntington disease in incident cases. *Biological psychiatry*. 2012;71(9):822-8.
8. Kloppel S, Draganski B, Siebner HR, Tabrizi SJ, Weiller C, Frackowiak RS. Functional compensation of motor function in pre-symptomatic Huntington's disease. *Brain*. 2009;132(Pt 6):1624-32.
9. Kloppel S, Gregory S, Scheller E, Minkova L, Razi A, Durr A, et al. Compensation in Preclinical Huntington's Disease: Evidence From the Track-On HD Study. *EBioMedicine*. 2015;2(10):1420-9.
10. Barulli D, Stern Y. Efficiency, capacity, compensation, maintenance, plasticity: emerging concepts in cognitive reserve. *Trends Cogn Sci*. 2013;17(10):502-9.
11. Cabeza R, Dennis N. Frontal lobes and aging: Deterioration and compensation. *Principles of Frontal Lobe Function*. 2013:628-52.
12. Carusone LM, Srinivasan J, Gitelman DR, Mesulam MM, Parrish TB. Hemodynamic response changes in cerebrovascular disease: implications for functional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2002;23(7):1222-8.

13. Soloveva MV, Jamadar SD, Poudel G, Georgiou-Karistianis N. A critical review of brain and cognitive reserve in Huntington's disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018;88:155-69.
14. Wolf RC, Sambataro F, Vasic N, Wolf ND, Thomann PA, Landwehrmeyer GB, et al. Longitudinal task-negative network analyses in preclinical Huntington's disease. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience.* 2014;264(6):493-505.
15. Georgiou-Karistianis N, Poudel GR, Domínguez D JF, Langmaid R, Gray MA, Churchyard A, et al. Functional and connectivity changes during working memory in Huntington's disease: 18 month longitudinal data from the IMAGE-HD study. *Brain and Cognition.* 2013;83(1):80-91.
16. Scheller E, Abdulkadir A, Peter J, Tabrizi SJ, Frackowiak RSJ, Klöppel S. Interregional compensatory mechanisms of motor functioning in progressing preclinical neurodegeneration. *Neuroimage.* 2013;75:146-54.
17. Wolf RC, Sambataro F, Vasic N, Wolf ND, Thomann PA, Landwehrmeyer GB, et al. Longitudinal functional magnetic resonance imaging of cognition in preclinical Huntington's disease. *Exp Neurol.* 2011;231(2):214-22.
18. Wolf RC, Gron G, Sambataro F, Vasic N, Wolf ND, Thomann PA, et al. Brain activation and functional connectivity in premanifest Huntington's disease during states of intrinsic and phasic alertness. *Hum Brain Mapp.* 2012;33(9):2161-73.
19. Scheller E, Minkova L, Leitner M, Klöppel S. Attempted and successful compensation in preclinical and early manifest neurodegeneration - a review of task FMRI studies. *Front Psychiatry.* 2014;5:132.
20. Gregory S, Long JD, Klöppel S, Razi A, Scheller E, Minkova L, et al. Operationalizing compensation over time in neurodegenerative disease. *Brain : a journal of neurology.* 2017;140(4):1158-65.
21. Gregory S, Long JD, Klöppel S, Razi A, Scheller E, Minkova L, et al. Testing a longitudinal compensation model in premanifest Huntington's disease. *Brain.* 2018;141(7):2156-66.
22. Dominguez DJ, Poudel G, Stout JC, Gray M, Chua P, Borowsky B, et al. Longitudinal changes in the fronto-striatal network are associated with executive dysfunction and behavioral dysregulation in Huntington's disease: 30 months IMAGE-HD data. *Cortex.* 2017;92:139-49.
23. Gray MA, Egan GF, Ando A, Churchyard A, Chua P, Stout JC, et al. Prefrontal activity in Huntington's disease reflects cognitive and neuropsychiatric disturbances: the IMAGE-HD study. *Exp Neurol.* 2013;239:218-28.

24. Unschuld PG, Liu X, Shanahan M, Margolis RL, Bassett SS, Brandt J, et al. Prefrontal executive function associated coupling relates to Huntington's disease stage. *Cortex*. 2013;49(10):2661-73.
25. Rao JA, Harrington DL, Durgerian S, Reece C, Mourany L, Koenig K, et al. Disruption of response inhibition circuits in prodromal Huntington disease. *Cortex*. 2014;58:72-85.
26. Júlio F, Ribeiro MJ, Patrício M, Malhão A, Pedrosa F, Gonçalves H, et al. A Novel Ecological Approach Reveals Early Executive Function Impairments in Huntington's Disease. *Frontiers in Psychology*. 2019;10:585.
27. Stout JC, Glikmann-Johnston Y, Andrews SC. Cognitive assessment strategies in Huntington's disease research. *Journal of Neuroscience Methods*. 2016;265:19-24.
28. Reilmann R, Leavitt BR, Ross CA. Diagnostic criteria for Huntington's disease based on natural history. *Mov Disord*. 2014;29(11):1335-41.
29. Demirtas-Tatlidede A, Vahabzadeh-Hagh AM, Pascual-Leone A. Can noninvasive brain stimulation enhance cognition in neuropsychiatric disorders? *Neuropharmacology*. 2013;64:566-78.
30. Miniussi C, Cappa SF, Cohen LG, Floel A, Fregni F, Nitsche MA, et al. Efficacy of repetitive transcranial magnetic stimulation/transcranial direct current stimulation in cognitive neurorehabilitation. *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*. 2008;1(4):326-36.
31. Dumas EM, van den Bogaard SJ, Middelkoop HA, Roos RA. A review of cognition in Huntington's disease. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2013;5:1-18.
32. Tabrizi SJ, Langbehn DR, Leavitt BR, Roos RA, Durr A, Craufurd D, et al. Biological and clinical manifestations of Huntington's disease in the longitudinal TRACK-HD study: cross-sectional analysis of baseline data. *Lancet Neurol*. 2009;8(9):791-801.
33. Shoulson I, Fahn S. Huntington disease. *Neurology*. 1979;29(1):1.
34. Langbehn DR, Brinkman RR, Falush D, Paulsen JS, Hayden MR, on behalf of an International Huntington's Disease Collaborative G. A new model for prediction of the age of onset and penetrance for Huntington's disease based on CAG length. *Clinical Genetics*. 2004;65(4):267-77.
35. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bédirian V, Charbonneau S, Whitehead V, Collin I, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool For Mild Cognitive Impairment. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2005;53(4):695-9.

36. Freitas S, Simões MR, Alves L, Santana I. Montreal Cognitive Assessment (MoCA): Normative study for the Portuguese population. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. 2011;33(9):989-96.
37. Beck AT, Steer RA, Brown GK. BDI-II, Beck depression inventory : manual1996.
38. Campos RC, Gonçalves B. The Portuguese Version of the Beck Depression Inventory-II (BDI-II). *European Journal of Psychological Assessment*. 2011;27(4):258-64.
39. Oldfield RC. The assessment and analysis of handedness: The Edinburgh inventory. *Neuropsychologia*. 1971;9(1):97-113.
40. Yarkoni T, Poldrack RA, Nichols TE, Van Essen DC, Wager TD. Large-scale automated synthesis of human functional neuroimaging data. *Nature Methods*. 2011;8(8):665-70.
41. Lacadie CM, Fulbright RK, Rajeevan N, Constable RT, Papademetris X. More accurate Talairach coordinates for neuroimaging using non-linear registration. *NeuroImage*. 2008;42(2):717-25.
42. Lancaster JL, Woldorff MG, Parsons LM, Liotti M, Freitas CS, Rainey L, et al. Automated Talairach atlas labels for functional brain mapping. *Hum Brain Mapp*. 2000;10(3):120-31.
43. Button KS, Ioannidis JPA, Mokrysz C, Nosek BA, Flint J, Robinson ESJ, et al. Power failure: why small sample size undermines the reliability of neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*. 2013;14(5):365-76.
44. Zhang JX, Leung HC, Johnson MK. Frontal activations associated with accessing and evaluating information in working memory: an fMRI study. *Neuroimage*. 2003;20(3):1531-9.
45. Kubler A, Dixon V, Garavan H. Automaticity and reestablishment of executive control-an fMRI study. *J Cogn Neurosci*. 2006;18(8):1331-42.
46. Fincham JM, Carter CS, van Veen V, Stenger VA, Anderson JR. Neural mechanisms of planning: a computational analysis using event-related fMRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(5):3346-51.
47. Crozier S, Sirigu A, Lehericy S, van de Moortele PF, Pillon B, Grafman J, et al. Distinct prefrontal activations in processing sequence at the sentence and script level: an fMRI study. *Neuropsychologia*. 1999;37(13):1469-76.
48. Reverberi C, Cherubini P, Rapisarda A, Rigamonti E, Caltagirone C, Frackowiak RS, et al. Neural basis of generation of conclusions in elementary deduction. *Neuroimage*. 2007;38(4):752-62.
49. Knauff M, Mulack T, Kassubek J, Salih HR, Greenlee MW. Spatial imagery in deductive reasoning: a functional MRI study. *Brain Res Cogn Brain Res*. 2002;13(2):203-12.

50. Goel V, Gold B, Kapur S, Houle S. Neuroanatomical correlates of human reasoning. *J Cogn Neurosci*. 1998;10(3):293-302.
51. Lambrecq V, Langbour N, Guehl D, Bioulac B, Burbaud P, Rotge JY. Evolution of brain gray matter loss in Huntington's disease: a meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2013;20(2):315-21.
52. Muhlau M, Gaser C, Wohlschlager AM, Weindl A, Stadler M, Valet M, et al. Striatal gray matter loss in Huntington's disease is leftward biased. *Mov Disord*. 2007;22(8):1169-73.
53. Jenkins BG, Rosas HD, Chen YC, Makabe T, Myers R, MacDonald M, et al. ¹H NMR spectroscopy studies of Huntington's disease: correlations with CAG repeat numbers. *Neurology*. 1998;50(5):1357-65.
54. Lahr J, Minkova L, Tabrizi SJ, Stout JC, Klöppel S, Scheller E, et al. Working Memory-Related Effective Connectivity in Huntington's Disease Patients. *Frontiers in Neurology*. 2018;9:370.
55. Bhide PG, Day M, Sapp E, Schwarz C, Sheth A, Kim J, et al. Expression of normal and mutant huntingtin in the developing brain. *J Neurosci*. 1996;16(17):5523-35.
56. Penney JB, Jr., Vonsattel JP, MacDonald ME, Gusella JF, Myers RH. CAG repeat number governs the development rate of pathology in Huntington's disease. *Ann Neurol*. 1997;41(5):689-92.
57. Ciarmiello A, Cannella M, Lastoria S, Simonelli M, Frati L, Rubinsztein DC, et al. Brain white-matter volume loss and glucose hypometabolism precede the clinical symptoms of Huntington's disease. *J Nucl Med*. 2006;47(2):215-22.
58. Gómez-Ansón B, Alegret M, Muñoz E, Sainz A, Monte GC, Tolosa E. Decreased frontal choline and neuropsychological performance in preclinical Huntington disease. *Neurology*. 2007;68(12):906.