UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

PEDRO MANZKE DE CARVALHO

Caracterização clínica da doença de Huntington e avaliação do nível sérico
de endocanabinoides

Ribeirão Preto

2019

Pedro Manzke de Carvalho

Caracterização clínica da doença de Huntington e avaliação do nível sérico
de endocanabinoides

Dissertação apresentada ao Departamento de
Neurociências e Ciências do Comportamento
da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Vitor Tumas

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

Ribeirão Preto

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Carvalho, Pedro Manzke de

Caracterização clínica da doença de Huntington e avaliação do nível sérico de endocanabinoides

140 p.: il. 30cm

Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP

Orientador: Prof. Dr. Vitor Tumas

Palavras-chave: 1. Doença de Huntington 2. Doenças neurodegenerativas 3. Sistema endocanabinoide 4. Avaliação neuropsicológica 5. Cognição

CARVALHO, Pedro Manzke de

Caracterização clínica da doença de Huntington e avaliação do nível sérico de endocanabinoides

Dissertação apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Aprovado em: 26/08/2019

Banca examinadora

Prof. Dr. Antônio Lúcio Teixeira Júnior

Instituição: UFMG

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof^a. Dr^a. Maria Eugênia Costa Queiroz

Instituição: USP – Ribeirão Preto

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. Jaime Eduardo Cecílio Hallak

Instituição: USP – Ribeirão Preto

Julgamento: _____

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Aos que sofreram e não tiveram sua dor aliviada. Ao longo de séculos, a doença de Huntington afligiu incontáveis.

*“Vita brevis,
ars longa,
experimentum periculosum,
iudicium difficile.”*

Hipócrates, pai da medicina

RESUMO

Carvalho, P. M. **Caracterização clínica da doença de Huntington e avaliação do nível sérico de endocanabinoides**. 2019. 140f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introdução: A doença de Huntington (DH) é caracterizada pela tríade de comprometimento motor, declínio cognitivo e alterações psiquiátricas. Esses 3 fatores geram o declínio funcional na DH. O comprometimento cognitivo é muito estudado na DH, mas não há critérios diagnósticos para demência na DH. Os receptores canabinoides possuem alta concentração nos núcleos da base. Esses receptores estão muito diminuídos no sistema nervoso central (SNC) da DH. **Objetivos:** Caracterização clínica de uma amostra de sujeitos com DH e dosagem do nível plasmático de endocanabinoides em comparação com um grupo controle. **Métodos:** Realizado avaliação clínica com a escala unificada para avaliação da doença de Huntington (UHDRS), inventário neuropsiquiátrico, escala hospitalar de ansiedade e depressão, mini entrevista neuropsiquiátrica internacional (MINI), mini exame do estado mental (MEEM), teste de entrelaçamento de dedos, teste Hayling, bateria de avaliação frontal, escala de avaliação de demência de Mattis (MDRS). Coletado amostra de sangue periférico nesses mesmos sujeitos e em um grupo controle saudável, para dosagem de anandamida (AEA) e 2-araquidonoilglicerol, com cromatografia bidimensional acoplada a espectrometria de massas. **Resultados:** 47 sujeitos de pesquisa com DH foram avaliados. Dentre eles, 42 pacientes foram classificados como DH manifesta e 5 pacientes como DH pré-manifesta (preDH). As escalas cognitivas e da UHDRS apresentaram boa consistência interna, com alfa de Cronbach acima de 0,8. A MINI traçou o perfil neuropsiquiátrico da DH com dados semelhantes à literatura. Mesmo pacientes com DH em estágios iniciais apresentaram comprometimento cognitivo acentuado, principalmente na MDRS. Dentre os pacientes com DH manifesta em estágios iniciais, o teste Hayling apresentou 82% com escore Z abaixo de -1,5, na medida de tempo da parte A desse teste. Utilizando-se como critério de demência um escore Z abaixo de -1,5 na MDRS, associado a um valor menor ou igual a 85% na escala de independência (EI), 61% dos pacientes em estágios iniciais de DH

manifesta preencheram critérios para demência. Pacientes classificados com demência apresentaram níveis mais elevados de AEA em comparação aos sem demência ($p = 0,041$). Os níveis séricos de endocanabinoides também foram comparados entre 47 pacientes com DH e 30 voluntários saudáveis. Apesar de limítrofe, não houve diferença estatística nos níveis de AEA entre grupo DH e grupo controle ($p = 0,051$). Contudo, houve diferença estatística nos níveis de AEA entre controle e pacientes DH sem uso de antidepressivos ($p = 0,0068$). Também houve diferença estatística entre controle e preDH ($p = 0,02$). Houve correlações positivas entre níveis de endocanabinoides e escalas cognitivas (MDRS e teste Hayling). **Conclusões:** A associação de um escore Z da MDRS abaixo de -1,5 e uma EI menor ou igual a 85% pode ser utilizada como critério diagnóstico para demência na DH. O teste Hayling foi compatível com alterações de velocidade de processamento acentuadas, mesmo em fases iniciais da DH. Pode ser uma ferramenta útil na avaliação cognitiva da DH. A MINI pode ser uma ferramenta útil na avaliação psiquiátrica da DH. Os endocanabinoides possuem um papel importante na DH, e podem ter impacto no comprometimento cognitivo. Pacientes com DH possuem alterações sistêmicas de endocanabinoides, não apenas restritas ao SNC.

Palavras-chave: 1. Doença de Huntington; 2. Doenças neurodegenerativas; 3. Sistema endocanabinoide; 4. Avaliação neuropsicológica; 5. Cognição.

ABSTRACT

Carvalho, P. M. **Clinical characterization of Huntington disease and serum endocannabinoids levels evaluation.** 2019. 140p. Thesis (MSc) – Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

Introduction: Huntington disease (HD) is characterized by the triad of motor impairment, cognitive decline and psychiatric symptoms. These 3 factors yield functional disability in HD. There are many studies on cognitive impairment in HD, but there are no diagnostic criteria for HD dementia. Cannabinoid receptors present at high concentrations in basal ganglia. These receptors are markedly reduced in central nervous system (CNS) from HD patients. **Objectives:** To clinically characterize a sample of HD subjects and to evaluate plasma endocannabinoids levels in comparison to a control group. **Methods:** A clinical evaluation was performed, with unified Huntington's disease rating scale (UHDRS), neuropsychiatric inventory, hospital anxiety and depression scale, mini international neuropsychiatric interview (MINI), mini mental state examination (MMSE), interlocking finger test, Hayling test, frontal assessment battery, Mattis dementia rating scale (MDRS). Peripheral blood samples were collected from HD subjects and healthy subjects, to analyze anandamide (AEA) and 2-arachidonoylglycerol concentrations, with bidimensional chromatography-tandem mass spectrometry. **Results:** 47 HD subjects were evaluated. Among them, 42 patients were classified as manifest HD and 5 patients were classified as premanifest HD (preHD). The cognitive scales and UHDRS scales presented good internal consistency, with Cronbach alpha higher than 0.8. MINI yielded a HD neuropsychiatric profile, with data similar to previous publications. Among patients on initial stages of manifest HD, the Hayling test showed 82% of Z score below -1.5, in the time measure of part A from this test. Even HD initial stages patients presented marked cognitive impairment, especially on MDRS. By using a MDRS Z score below -1.5 as dementia criteria, associated with a score $\leq 85\%$ on independence scale (IS), 61% of patients with manifest HD initial stages contemplated the dementia criteria. Among patients classified with dementia AEA levels were higher than non-demented patients ($p = 0.041$). Endocannabinoids levels were also compared between 47 HD subjects and 30

healthy subjects. Although borderline, there was no statistical difference on AEA levels among controls versus HD group ($p = 0.051$). However, there was statistical difference on AEA levels among controls and HD patients without antidepressants therapy ($p = 0.0068$). There was also statistical significance among preHD and controls ($p = 0.02$). There was positive correlations among endocannabinoid levels and cognitive scales (MDRS and Hayling test). **Conclusion:** The association of MDRS Z score below -1.5 and IS $\leq 85\%$ may be used as diagnostic criteria for HD dementia. Hayling test detected markedly slowing on processing speeds, even on HD initial stages. It may be a useful tool to assess HD cognitive impairment. MINI may be a useful tool to assess HD neuropsychiatric symptoms. Endocannabinoids have an important role in HD, and may be related to cognitive decline. HD patients present systemic impairment of endocannabinoids, not only confined to CNS.

Keywords: 1. Huntington disease; 2. Neurodegenerative diseases; 3. Endocannabinoid system; 4. Neuropsychological evaluation; 5. Cognition.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Dr. George Huntington	21
Figura 2 - Estágios da Doença de Huntington	25
Figura 3 - Hipótese do fragmento tóxico	30
Figura 4 - Domínios cognitivos acometidos em diferentes estágios	39
Figura 5 - Alterações do volume cerebral, do teste modalidade símbolo-dígito e da apatia ao longo de 36 meses, em diferentes estágios da doença	41
Figura 6 - Fatores que influenciam o comprometimento funcional na DH	45
Figura 7 - Manifestações iniciais possíveis na DHJ, que podem se sobrepor	48
Figura 8 - RM 7 Tesla, coronal T1, em controle e em paciente com DHP _r , com atrofia de caudado e putamen	51
Figura 9 - Inibição da expressão gênica com oligonucleotídeo <i>antisense</i>	57
Figura 10 - Posições a serem imitadas pelo paciente no teste de entrelaçamento dos dedos	77
Figura 11 - Diagrama de fluxo dos sujeitos de pesquisa admitidos no estudo	82
Figura 12 - Curva ROC de TED e MEEM para o diagnóstico de demência	95
Figura 13 - Fatores que influenciam no comprometimento funcional da DH	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Doenças com repetição de trinucleotídeos	26
Tabela 2 - Prevalência de DH nos diferentes países e regiões	33
Tabela 3 - Nível de convicção diagnóstica da UHDRS	36
Tabela 4 - Estadiamento de Shoulson-Fahn para DH	47
Tabela 5 - Doenças genéticas que podem se apresentar como fenocópias da DH	53
Tabela 6 - Média dos dados demográficos e exames laboratoriais de preDH, DH manifesta e controles	83
Tabela 7 – Percentual de pacientes com DH manifesta em uso de medicações para o tratamento sintomático da DH	84
Tabela 8 - Perfil clínico e comportamental de pacientes com preDH e DH manifesta, segundo a escala UHDRS e outras escalas comportamentais, com a média dos valores obtidos	85
Tabela 9 - Estadiamento funcional de Shoulson-Fahn	86
Tabela 10 - Diagnósticos psiquiátricos gerados pela MINI	87
Tabela 11 - INP e estadiamento de Shoulson-Fahn	88
Tabela 12 - EHAD e estadiamento de Shoulson-Fahn	88
Tabela 13 - Perfil cognitivo de preDH e DH manifesta, com a média dos resultados gerais e a média dos escores Z	89
Tabela 14 - Média do escore Z de testes neuropsicológicos na preDH e nos estágios I e II de Shoulson-Fahn	90
Tabela 15 - Médias e medianas de pacientes DH sem demência e com	91

demência

Tabela 16 - O teste Hayling na DH, com a média bruta e a média dos escores Z	93
Tabela 17 - Médias do desempenho no TED em controles e DH (preDH e DH manifesta - estágios de Shoulson-Fahn), e porcentagem dos diferentes pontos de corte	94
Tabela 18 - Consistência interna das escalas clínicas aplicadas	96
Tabela 19 - Correlações entre comprometimento motor, cognitivo e comportamental com declínio funcional	97
Tabela 20 - Média e mediana de concentração plasmática dos endocanabinoides em cada grupo	99
Tabela 21 – Média e mediana de concentração plasmática dos endocanabinoides em grupos sem uso de antidepressivos e/ou antipsicóticos	100
Tabela 22 - Resultados que apresentaram p significativo	101

LISTA DE SIGLAS

2AG	2-araquidonoilglicerol
AD	Antidepressivo
ADT	Antidepressivo tricíclico
AEA	Anandamida
AEF	Avaliação do estado funcional
AP	Antipsicótico
AUC	Área sob a curva <i>Area under the curve</i>
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro
CAG	Citosina, adenina e guanina
CB1/2	Receptores canabinoides
CBD	Canabidiol
CCL	Comprometimento cognitivo leve
CFT	Capacidade funcional total
kDa	QuiloDaltons
DH	Doença de Huntington
DHJ	Doença de Huntington juvenil
DHL	Doença de Huntington- <i>like</i> ou símile
DHP _r	Doença de Huntington prodrômica
DSM IV	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
DP	Doença de Parkinson

EHAD	Escala hospitalar de ansiedade e depressão
EI	Escala de independência
FAB	Bateria de avaliação frontal <i>Frontal assessment battery</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HCRP	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto
IMC	Índice de massa corporal
INP	Inventário neuropsiquiátrico
IRSN	Inibidor da recaptação de serotonina e noradrenalina
ISRS	Inibidor seletivo da recaptação de serotonina
MDRS	Escala de avaliação de demência de Mattis <i>Mattis dementia rating scale</i>
MEEM	Mini exame do estado mental
MINI	Mini entrevista neuropsiquiátrica internacional, <i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
NBIA	Neurodegeneração por acúmulo de ferro
OAS	Oligonucleotídeo anti-sentido ou <i>antisense</i>
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PET-CT	Tomografia por emissão de pósitrons
PreDH	Doença de Huntington pré-manifesta
RM	Ressonância magnética
ROC	Característica de operação do receptor <i>Receiver operating characteristic</i>

SCA	Atrofia espinocerebelar
SDMT	Teste modalidade símbolo-digito, <i>Symbol digit modalities test</i>
SEC	Sistema endocanabinoide
SNC	Sistema nervoso central
TED	Teste de entrelaçamento dos dedos
THC	Tetraidrocanabinol
TMC	Coreia máxima total, <i>Total maximal chorea</i>
TMS	Escore motor total, <i>Total motor Score</i>
UHDRS	Escala unificada para avaliação da Doença de Huntington, <i>Unified Huntington's Disease Rating Scale</i>
UHPLC-MS/MS	Cromatografia bidimensional acoplada a espectrometria de massas (<i>ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
1.1 DOENÇA DE HUNTINGTON	20
1.1.1 Histórico	20
1.1.2 Definições	23
1.1.3 Fatores genéticos	25
1.1.3.1 Doenças poliglutamínicas	25
1.1.3.2 Repetições CAG na Doença de Huntington	26
1.1.4 Fisiopatologia	29
1.1.5 Epidemiologia	31
1.1.5.1 Prevalência	31
1.1.5.2 Incidência	33
1.1.6 Características clínicas	33
1.1.6.1 Manifestações motoras	33
1.1.6.2 Manifestações cognitivas	36
1.1.6.3 Manifestações psiquiátricas	39
1.1.6.4 Manifestações periféricas	42
1.1.6.5 Comprometimento funcional	44
1.1.6.6 Escalas clínicas	46
1.1.6.7 Doença de Huntington Juvenil	47
1.1.7 Diagnóstico	49
1.1.7.1 Momento do diagnóstico	49
1.1.7.2 Achados de imagem	50
1.1.7.3 Diagnóstico diferencial	52
1.1.8 Tratamento	54
1.1.8.1 Tratamento sintomático	54
1.1.8.2 Perspectivas de tratamento	56
1.2 SISTEMA ENDOCANABINOIDE	58
1.2.1 Aspectos gerais	58

1.2.2	Receptores canabinoides	60
1.2.3	Mediadores canabinoides	61
1.2.4	Sistema Endocanabinoide e Doença de Parkinson	62
1.2.5	Sistema endocanabinoide e Doença de Huntington	64
2	JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO	67
3	OBJETIVOS	69
3.1	OBJETIVOS GERAIS	69
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	69
4	MÉTODOS	70
4.1	DESENHO DO ESTUDO	70
4.2	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	71
4.3	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	71
4.4	AValiação CLÍNICA	72
4.5	COLETA DE SANGUE E ANÁLISE LABORATORIAL	78
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	80
4.7	APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA	81
5	RESULTADOS	82
5.1	AValiação CLÍNICA E DEMOGRÁFICA	82
5.1.1	Caracterização clínica	84
5.1.2	Estadiamento funcional	86
5.1.3	Exame comportamental	86
5.1.4	AValiação cognitiva	88
5.1.5	O teste Hayling	92
5.1.6	O teste de entrelaçamento dos dedos	94
5.1.7	Consistência interna e dados psicométricos	96
5.2	AValiação FUNCIONAL E SUAS CORRELAÇÕES	96
5.3	NÍVEL SÉRICO DE ENDOCANABINOIDES	98
5.4	ENDOCANABINOIDES E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	100
6	DISCUSSÃO	102
6.1	AValiação CLÍNICA E DEMOGRÁFICA	102
6.1.1	Caracterização clínica	102

6.1.2 Estadiamento funcional	103
6.1.3 Exame comportamental	103
6.1.4 Avaliação cognitiva	104
6.1.5 O teste Hayling	106
6.1.6 O teste de entrelaçamento dos dedos	108
6.2 AVALIAÇÃO FUNCIONAL E SUAS CORRELAÇÕES	108
6.3 ENDOCANABINOIDES	111
6.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO	112
7 CONCLUSÃO	114
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
9 GLOSSÁRIO	130
10 ANEXO	133

1. INTRODUÇÃO

1.1 DOENÇA DE HUNTINGTON

1.1.1 Histórico

A doença de Huntington (DH) é uma doença neurodegenerativa, progressiva e hereditária, que foi descrita em detalhes por George Huntington, um médico americano recém-formado (HUNTINGTON, 1872; **Figura 1**). Em seu relato, ele identificou muitas das características clínicas da doença, como a coreia, a natureza hereditária, a tendência à insanidade e ao suicídio, o início na fase adulta, a irritabilidade, agressividade e compulsão sexual. Publicou seu estudo aos 22 anos, mas se utilizou também das experiências de seu pai e seu avô, que eram médicos e acompanharam várias famílias com DH, ao longo de 78 anos. Ao final de sua descrição, Huntington fez a seguinte conclusão:

*I have never known a recovery or even an amelioration of symptoms in this form of chorea; when once it begins it clings to the bitter end. No treatment seems to be of any avail, and indeed nowadays its end is so well-known to the sufferer and his friends, that medical advice is seldom sought. It seems at least to be one of the incurables (HUNTINGTON, 1872, p. 321).**

Esta descrição pode ser considerada atual até hoje, pois a DH ainda é incurável, sem terapia modificadora da doença (KIEBURTZ *et al.*, 2018).

Apesar de um médico norueguês, Johan Lund, ter descrito a DH também com grandes detalhes em 1860, sua publicação foi em uma revista norueguesa, e não foi traduzida, permanecendo na obscuridade. Já a publicação de George Huntington logo foi traduzida para o alemão, francês e italiano. Naturalmente, os neurologistas da época associaram a doença ao nome de George Huntington (HAYDEN, 1983).

* Eu nunca soube de uma recuperação ou até mesmo alívio dos sintomas nesta forma de coreia; desde quando se inicia, mantém-se firme até o final. Não parecer haver tratamento benéfico, e de fato, atualmente, seu fim é tão bem conhecido pelo paciente e seus amigos, que aconselhamento médico raramente é procurado. Parecer ser uma das incuráveis.

Figura 1 – Dr. George Huntington*

Fonte: HAYDEN, Michael. Reflections on the history of Huntington's Chorea. **Trends in Neurosciences**, v. 6, p. 122-124, 1983.

**Uso autorizado por e-mail pelo Professor Michael Hayden em 12/02/2019.*

As famílias de Long Island, Nova York, acompanhadas pelas 3 gerações de médicos da família Huntington foram posteriormente estudadas com base em arquivos históricos. Chegou-se à conclusão de que eram descendentes de 4 famílias que emigraram do sudeste da Inglaterra no século XVII. No histórico dessas famílias, havia vários casos de alcoolismo, brigas, crimes e até homicídios. Pelo menos 3 mulheres dessas famílias foram executadas sob acusação de bruxaria. A coreia e outros movimentos anormais eram vistos como comprovação de que elas estavam possuídas pelo demônio (LOI, 2012).

Mesmo no início do século XX, o estigma e discriminação voltado contra pacientes com DH perdurou, infelizmente. A comunidade médica e científica, em revistas conceituadas, aludia à esterilização compulsória de indivíduos com DH. Escrevia-se, à época, que pacientes com DH não se comportavam adequadamente, procriavam “descaradamente” e não contribuíam em nada para a sociedade. Na Alemanha nazista, houve um programa de extermínio que tinha como alvo pessoas com comprometimento cognitivo, psiquiátrico ou motor. Muitos indivíduos com DH foram esterilizados e executados por esse programa, mas não há estatísticas disponíveis (LOI, 2012). Um dos

neurologistas que estudava e cuidava de pacientes com DH antes da guerra, com algumas pesquisas em epidemiologia, filiou-se aos nazistas e ajudou a identificar estes mesmos pacientes para esterilização e morte na câmara de gás. Até hoje não há estudos genéticos de prevalência de DH na Alemanha, visto o tabu que se criou após a guerra (LEAVITT; KAY; HAYDEN, 2017).

Nas décadas de 1960 e 1970, houve uma maior conscientização da comunidade científica para com esses pacientes. Grandes estudos de caracterização clínica e de epidemiologia foram realizados em países como Venezuela e Reino Unido. Os sinais e sintomas, assim como a história natural da doença e o prognóstico foram mais bem definidos nessa época. Na região em volta do Lago Maracaibo, no noroeste da Venezuela, foi identificada uma grande concentração de indivíduos com DH (AVILA-GIRÓN, 1973). Estes indivíduos portadores de DH foram amplamente avaliados por pesquisadores internacionais e sempre colaboraram. A contribuição desta população para o avanço no entendimento da DH foi inestimável.

Na década de 1980, após extensa investigação com amostras de sangue doadas por pacientes venezuelanos de Lago Maracaibo, o defeito genético causador da DH foi localizado no cromossoma 4 (GUSELLA *et al.*, 1983). O gene causador da DH foi descoberto 10 anos depois, com o avanço da biologia molecular e da reação em cadeia da polimerase (PCR) (MACDONALD *et al.*, 1993).

O estigma que envolve a DH é grande. Ao longo de séculos, essas pessoas vêm sofrendo não apenas pela doença, mas também por como a sociedade as discrimina. Por esse motivo, é encarado como “segredo familiar” em muitas famílias acometidas. O impacto na qualidade de vida é profundo e global, em todas as áreas avaliadas, como emocional, física, cognitiva e saúde social. Cuidadores também são afetados (READ *et al.*; TRACK-HD, 2013). Em muitos casos, pacientes recebem um diagnóstico inespecífico e indevido de demência ou esquizofrenia e são institucionalizados. Os movimentos anormais são atribuídos a efeitos colaterais dos antipsicóticos.

1.1.2 Definições

Para facilitar a compreensão ao longo da dissertação, é necessário esclarecer algumas definições clínicas relacionadas à DH, de acordo com estudos mais recentes e consensos entre os principais pesquisadores em DH. Após as definições, a **Figura 2** esquematiza esses dados.

-Comprometimento cognitivo leve (CCL): antes do início dos sintomas motores, ocorre comprometimento cognitivo, mas sem perda funcional considerável (PREDICT-HD, 2010; PAULSEN *et al.*, 2017). Na fase inicial da doença, já com os sintomas motores, o paciente mantém o comprometimento cognitivo leve, ainda sem demência. A demência surge, em geral, em fases intermediárias.

-DH pré-clínica ou pré-sintomática: ainda muito utilizados, mas são termos que podem ser contraditórios, pois na fase que antecede o diagnóstico motor, o paciente já tem sintomas não motores e alterações motoras leves (fase chamada atualmente de prodrômica). Estes 2 termos também podem ser utilizados para se referir ao estágio *antes* dos sintomas prodrômicos, quando o indivíduo é portador totalmente assintomático. Os termos mais utilizados atualmente são DH pré-manifesta e/ou DH prodrômica, conforme descritos a seguir (REILMANN *et al.*, 2014; PAULSEN *et al.*, 2017).

-DH pré-manifesta (preDH): período que antecede o diagnóstico motor, podendo ou não já apresentar alguns sintomas. Pode ser dividido em DH pré-manifesta A e B, que seria o tempo estimado para o diagnóstico motor maior ou menor que 10 anos, respectivamente (GHOSH; TABRIZI, 2018).

-DH prodrômica (DHPr): paciente já apresenta alterações psiquiátricas, cognitivas e/ou motoras sutis, mas ainda não fecha o diagnóstico clínico. Essa fase pode se iniciar 10 anos ou mais antes do diagnóstico clínico/motor (REILMANN *et al.*, 2014; PAULSEN *et al.*, 2017).

-DH manifesta: paciente já fez o diagnóstico motor, ou seja, tem sinais motores inequívocos compatíveis com DH (REILMANN *et al.*, 2014; PAULSEN *et al.*, 2017).

-DH inicial: fase inicial da DH manifesta, ou seja, já com o diagnóstico motor (PAULSEN *et al.*, 2017).

-DH juvenil: DH com início dos sintomas antes dos 20 anos de idade (GHOSH; TABRIZI, 2018).

-DH de início tardio: DH com início dos sintomas após os 60 anos de idade. O número de repetições CAG pode ter penetrância incompleta, entre 36 e 39 (CHAGANTI; MCCUSKER; LOY, 2017).

-Diagnóstico clínico ou motor: paciente com sinais motores inequívocos, especialmente a coreia, compatíveis com DH. Há várias décadas esta é a base do diagnóstico clínico na DH (TABRIZI *et al.*, 2015).

-Diagnóstico genético: teste genético com técnica PCR ou *Southern Blot* demonstrando número de repetições CAG ≥ 40 , independente da fase da doença, independente de ter sintomas ou não (REILMANN *et al.*, 2014).

-Portador: indivíduo tem o diagnóstico genético, mas é assintomático. Antes dos sintomas prodrômicos. Nessa situação, o termo **pré-sintomático** também é utilizado por alguns autores (PAULSEN *et al.*, 2017).

-Sob risco: indivíduo ainda não fez o teste genético e não tem sintomas, mas um dos pais tem DH. A chance dessa pessoa ter a doença é de 50% (REILMANN *et al.*, 2014; PAULSEN *et al.*, 2017).

Figura 2 – Estágios da Doença de Huntington. *Fonte: próprio autor.*

1.1.3 Fatores genéticos

1.1.3.1 Doenças poliglutamínicas

A DH é uma doença monogênica e autossômica dominante. É causada por uma mutação no gene da proteína huntingtina, localizado no braço curto do cromossoma 4. Esse gene possui em seu início, no éxon 1, uma repetição de nucleotídeos na forma de trincas, mesmo em pessoas saudáveis. A mutação consiste em uma expansão dessa repetição, dos nucleotídeos citosina, adenina e guanina (CAG), no éxon 1 do gene (ORTH, 2014).

A trinca CAG codifica o aminoácido glutamina. Com isso, a expansão dessa repetição leva a uma sequência de glutaminas na proteína huntingtina. Ao todo, 9 doenças, em diferentes genes, apresentam expansão da trinca CAG. São conhecidas como doenças poliglutamínicas. São elas: DH, atrofia espinocerebelar (SCA) 1, 2, 3, 6, 7, 17, atrofia dentatorubro palidoluisiana (DRPLA) e atrofia muscular espinobulbar ligada ao X (doença de Kennedy) (NANCE, 2017).

As doenças poliglutamínicas são neurodegenerativas, com caráter progressivo. As expansões CAG sempre estão localizadas em éxons. O número de repetições CAG que leva à doença varia entre cada uma delas, mas em geral é em torno de 30 ou 40 trincas. No caso específico da DH, o diagnóstico é feito quando há mais de 40 repetições (NANCE, 2017).

Em uma perspectiva mais ampla, as doenças poliglutamínicas são parte das doenças com repetição de trinucleotídeos (**Tabela 1**). As doenças não poliglutamínicas caracterizam-se por expansões em íntrons, e alguns casos podem chegar a acima de 1000 repetições. Dentre elas, inclui-se Doença de Huntington-*like* 2 (DHL2), Síndrome do X Frágil, Ataxia de Friedreich, Distrofia Miotônica e SCA 8 e 10 (NANCE, 2017).

Tabela 1 – Doenças com repetição de trinucleotídeos.

Doenças poliglutamínicas (CAG)	Doenças não poliglutamínicas
DH	DHL2
SCA 1, 2, 3, 6, 7, 17	SCA 8, 10
DRPLA	Síndrome do X Frágil
Doença de Kennedy	Ataxia de Friedreich
	Distrofia Miotônica

1.1.3.2 Repetições CAG na Doença de Huntington

O número de repetições CAG, no éxon 1 do gene da huntingtina, considerado normal na população é de 6 a 26. Até esse valor, não há casos de DH relatados, nem mutações *de novo* em familiares da geração seguinte. A média de repetições CAG na população saudável é maior em locais com maior prevalência de DH. Na Europa, por exemplo, a média é de 18,5 repetições CAG, enquanto na África e na Ásia é de 17 (TABRIZI *et al.*, 2015).

No Brasil, um estudo com 92 sujeitos saudáveis, sendo 50 caucasoides e 42 afrodescendentes, detectou uma média de 17,7 e 17,9 trincas de CAG, respectivamente. O autor atribui a similaridade de repetições entre descendentes europeus e africanos, que discorda da literatura internacional, à miscigenação brasileira (RASKIN *et al.*, 2000).

Entre 27 e 35 trincas, a definição é *alelos intermediários* ou *normal, mutável*. Ela é mais instável. Isso significa que o indivíduo que porta esse número de repetições não desenvolverá DH, mas gerações subsequentes poderão ou não desenvolver a doença, caso haja expansão das repetições. O alelo intermediário é incomum na população geral, com prevalência em torno de 3% (TABRIZI *et al.*, 2015).

Nos últimos anos, alguns casos de indivíduos com possível DH foram relatados nessa faixa, principalmente acima de 30 trincas CAG, mais comumente em idosos acima dos 60 anos. A acurácia do diagnóstico de DH desses casos foi questionada por outros autores, então ainda é um tema em aberto. Um desses estudos realizou autópsia em um paciente de 62 anos, que possuía coreia generalizada leve, impersistência motora, sem queixas cognitivas. Apresentava 29 repetições CAG e faleceu após cair de uma escada, e não da doença. O estudo histopatológico foi compatível com DH (KENNEY; POWELL; JANKOVIC, 2007). Alguns autores defendem que 35 repetições já seja considerado *anormal*, mas não há consenso (NANCE, 2017).

Entre 36 e 39 repetições define-se como *alelos de penetrância reduzida* ou *anormal, penetrância reduzida*. Isso significa que nem todos os indivíduos nessa faixa desenvolverão a DH. A idade de início é mais tardia, associando-se à coreia senil (NANCE, 2017). Um estudo determinou penetrância de 60% com 39 trincas, decaindo progressivamente para 14% com 36. Essa mesma pesquisa conclui que 40% dos indivíduos estarão assintomáticos aos 65 anos, na faixa de 36 a 39 repetições (QUARRELL *et al.*, 2007).

Maior ou igual a 40 repetições é considerado *anormal, penetrância completa*. Nessa faixa, não há dúvida diagnóstica. Há correlação entre o número de repetições e a idade de início dos sintomas. O número de trincas CAG contribui em cerca de 60% para determinar a idade de início da doença. Existem modelos matemáticos que estimam quando surgirão os sintomas, de acordo com o número de trincas CAG do indivíduo (TABRIZI *et al.*, 2015). Repetições acima de pelo menos 55 associam-se à DH juvenil. Repetições acima de 100 são raras, com menos de 50 casos reportados no mundo, e a doença surge no início da infância, com características atípicas (NANCE, 2017).

O número de repetições de uma geração para outra pode diminuir, estabilizar ou aumentar. Em geral, a variação não passa de 3 repetições CAG, para mais ou para menos. Em alelos normais (≤ 26 CAG), cerca de 98% se mantém estável. Em alelos intermediários (27-35), esse número cai para 84%. Em alelos DH (≥ 36 CAG), a estabilidade é de apenas 26% (SEMAKA *et al.*, 2014).

O fenômeno de antecipação é comum na DH. Gerações seguintes tendem a ter a doença mais cedo, pelo aumento do número de repetições CAG. Em geral, o fenômeno de antecipação é mais evidente na herança paterna. Isso ocorre devido à instabilidade elevada da repetição CAG durante a meiose, sendo na espermatogênese maior do que na ovogênese. Além disso, quanto maior o número de trincas CAG, mais instabilidade e mais expansão para as gerações posteriores (ORTH, 2014).

A taxa de mutações *de novo* é estimada em 3 a 10% dos casos de DH. Isso significa que, até 10% dos pacientes diagnosticados com DH, herdaram a expansão de um pai ou mãe sem a doença. Contudo, nos casos de penetrância incompleta (36 a 39 repetições), que em geral se apresentam como DH de início tardio, as novas mutações podem chegar a 30% do total (NANCE, 2017).

Há casos relatados de heterozigose composta, ou “homozigose”, na qual o indivíduo herdou a mutação da DH do pai e da mãe. Contudo, isso não parece agravar a progressão da doença (NANCE, 2017).

Estudos recentes focaram em outros fatores genéticos que não apenas as repetições CAG. Ao estudarem o gene da huntingtina, foram notadas variações em outros locais do gene, chamadas de polimorfismos de nucleotídeo único. Foi detectado um conjunto de polimorfismos de nucleotídeos únicos, todos próximos à expansão CAG. Com isso, foram estabelecidos 3 haplótipos na população geral: A, B e C. A grande maioria dos casos de DH ocorrem no haplogrupo A. Na Europa, a porcentagem da população geral com haplogrupo A é muito maior do que na Ásia. Isso ajuda a explicar a prevalência de DH até 100 vezes maior na Europa do que na Ásia (HAYDEN *et al.*, 2011).

1.1.4 Fisiopatologia

A proteína huntingtina contém, em pessoas saudáveis, 3144 aminoácidos. Isso confere um peso molecular de 348kDa. A função exata dessa proteína no organismo ainda é desconhecida. Suspeita-se que participe da adesão celular e da modulação do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), envolvido com neurogênese e neuroplasticidade (TABRIZI *et al.*, 2015).

Em modelos animais, a ausência de huntingtina leva à morte na fase de desenvolvimento e à neurodegeneração em adultos (ORTH, 2014).

O peptídeo gerado pelo éxon 1 deste gene também parece ter função própria, independente da proteína huntingtina. Esse peptídeo é formado por cerca de 100 aminoácidos, e contém 3 domínios: segmento inicial de 17 aminoácidos; segmento de poliglutaminas de tamanho variável; domínio rico em prolinas com 51 aminoácidos. O segundo segmento é onde ocorre a expansão responsável pela DH (TABRIZI *et al.*, 2015).

Muitos autores defendem a “hipótese do fragmento tóxico”. Evidências sugerem que, após a proteína mutante huntingtina ser clivada ou mesmo durante a transcrição, ocorre geração de peptídeos do éxon 1. Esses peptídeos se acumulam nos neurônios, gerando toxicidade e ativação de caspases. O acúmulo de peptídeos ocorre precocemente, tanto em modelos animais quanto em humanos (GHOSH; TABRIZI, 2018). A **Figura 3**, na página seguinte, esquematiza essa hipótese.

Uma característica patognomônica da DH é a formação de corpos de inclusão intranucleares de huntingtina e seus peptídeos. Não está claro se esses corpos de inclusão são inicialmente tóxicos ou protetores. Contudo, eles atrapalham a atividade normal no núcleo, gerando uma desregulação na transcrição de RNA mensageiros. Também sequestram peptídeos e proteínas para si, aumentando o tamanho da inclusão (TABRIZI *et al.*, 2015).

Corpos de inclusão também são formados, em menor escala, no citoplasma, dendritos e axônio. Eles causam instabilidade nas cascatas de proteases, disfunção

sináptica, diminuição do transporte axonal e toxicidade mitocondrial (TABRIZI *et al.*, 2015).

FIGURA 3 – Hipótese do fragmento tóxico. Célula com seu núcleo e citoplasma. O evento precoce é o acúmulo de peptídeos, originados da clivagem da huntingtina mutante. Esses peptídeos formam agregados no núcleo, levando à disfunção grave da transcrição do DNA. Em menor escala, há acúmulo no citoplasma, gerando as alterações listadas. *Fonte: próprio autor.*

Neuroinflamação também já foi demonstrada em vários estudos. Acredita-se que a huntingtina mutante produzida pelas células da glia cause aumento da transcrição de fatores inflamatórios. Também há inflamação periférica, com níveis aumentados de citosinas pró-inflamatórias na DH e na DH prodrômica (GHOSH; TABRIZI, 2018).

A instabilidade somática também é um fenômeno comprovado na DH. Em locais afetados pela doença, como estriado e córtex cerebral, é observado uma expansão do número de repetições, que pode gerar variações acima de 50 trincas CAG. Se um paciente tem na amostra de sangue 42 repetições, uma biópsia do seu córtex pode detectar, por exemplo, 80 repetições (GHOSH; TABRIZI, 2018).

Do ponto de vista celular, ocorre degeneração massiva do estriado, que integra os núcleos da base. O estriado é composto principalmente de neurônios espinhosos médios gabaérgicos. Na DH, até 95% desses neurônios degeneram (GHOSH; TABRIZI, 2018).

1.1.5 Epidemiologia

1.1.5.1 Prevalência

Os estudos epidemiológicos em DH podem ser divididos em antes e depois do surgimento do diagnóstico genético, em 1993. Antes, a pesquisa por indivíduos com DH era realizada em hospitais, centros de referência, prontuários médicos e na comunidade. Com o advento do teste genético para DH, aliado aos parâmetros clínicos, as taxas de prevalência aumentaram substancialmente (TABRIZI *et al.*, 2015).

A DH está presente no mundo inteiro. Sua prevalência, contudo, pode variar enormemente entre cada região, país ou continente. Existem “bolsões” com alta prevalência de DH em diferentes regiões do mundo (TABRIZI *et al.*, 2015). Populações de ascendência europeia são mais comumente afetadas, e a migração europeia é um dos principais fatores determinantes para a prevalência da DH em uma dada região do mundo (KAY; FISHER; HAYDEN, 2014). A DH é a doença neurodegenerativa monogênica mais comum, assim como a causa mais frequente de demência genética em populações de origem europeia (GHOSH; TABRIZI, 2018).

Um dos países com maior prevalência de DH é o Reino Unido, que possui muitos estudos epidemiológicos desde a década de 1960. Apesar de variável entre cada região, a prevalência média em diversos estudos ficava em torno de 6 casos por 100.000 habitantes. Com o advento do diagnóstico genético, em 1993, a prevalência em pesquisas recentes dobrou, aumentando para aproximadamente 12 (RAWLINS *et al.*, 2013). A **Tabela 2**, ao final desta seção, resume os achados de prevalência de DH em diferentes regiões do mundo.

No Canadá, um estudo na província da Colúmbia Britânica, com parâmetros clínicos e genéticos, indicou uma prevalência elevada em caucasianos, de 17,2 casos por 100.000 habitantes (FISHER; HAYDEN, 2014). Nos Estados Unidos, há poucos estudos epidemiológicos em DH. Os principais são antes de 1993, ou seja, antes do diagnóstico genético, o que pode subestimar a prevalência. Um dos maiores estudos foi realizado no estado americano de Maryland, na década de 1980. A prevalência estimada foi de 5,15 (FOLSTEIN *et al.*, 1987).

No geral, contabilizando apenas os estudos que se utilizaram do diagnóstico genético, aliado aos parâmetros clínicos, a prevalência de DH em populações caucasianas é de 9,71 (RAWLINS *et al.*, 2016). Os dados incluem Austrália, Europa Ocidental e América do Norte.

A Venezuela também coletou dados epidemiológicos a partir da década de 1970. A região do Lago Maracaibo, no noroeste da Venezuela, possui uma das maiores prevalências registradas no mundo (AVILA-GIRÓN, 1973). Acredita-se que a doença veio trazida por imigrantes europeus. A maioria dos casos podem ser traçados a uma única mulher que viveu no século XIX, e que gerou uma prole de 10 filhos, com muitos descendentes (WEXLER *et al.*, 2004).

Excluindo-se Maracaibo, a prevalência de DH na Venezuela é baixa, de 0,35. Foi a única nação da América do Sul a realizar um estudo populacional nacional de prevalência (PARADISI; HERNÁNDEZ; ARIAS, 2008; RAWLINS *et al.*, 2016).

Na África e na Ásia, a prevalência é 5 a 20 vezes menor do que nos países europeus (TABRIZI *et al.*, 2015). Entre os países asiáticos, o Japão é a nação com mais dados epidemiológicos em DH. O maior estudo deste país foi realizado com parâmetros clínicos e genéticos, revelando uma prevalência de 0,72 (ADASHI; NAKASHIMA, 1999). Uma análise baseada em haplótipos confirmou que a mutação inicial foi de origem autóctone, e não europeia (WARBY *et al.*, 2011).

Um estudo realizado na África do Sul, sem avaliação genética, detectou prevalência baixa na população negra, porém mais elevada na população branca e miscigenada. Respectivamente, 0,02 e 2,2 (HAYDEN; MACGREGOR; BEIGHTON, 1980).

No Brasil, não há dados a respeito da prevalência nacional de DH. Existem estudos pontuais, em cidades pequenas nas quais foi notada uma alta prevalência, como Ervália/MG (AGOSTINHO *et al.*, 2015). A miscigenação brasileira, que ocorreu entre descendentes de uma população de alta prevalência e outra de baixa prevalência, respectivamente europeus e africanos, pode gerar resultados variáveis entre diferentes regiões (RASKIN *et al.*, 2000).

Tabela 2 – Prevalência de DH, em ordem crescente, nos diferentes países e regiões*.

País ou região	Prevalência (/100.000)	Referência
Brasil	-	-
África do Sul (negros)	0,02	HAYDEN <i>et al.</i> , 1980
Venezuela	0,35	PARADISI <i>et al.</i> , 2008
Japão	0,72	ADASHI <i>et al.</i> , 1999
África do Sul (brancos)	2,2	HAYDEN <i>et al.</i> , 1980
Estados Unidos	5,15	FOLSTEIN <i>et al.</i> , 1987
Reino Unido	12,3	RAWLINS <i>et al.</i> , 2013
Canadá	17,2	FISHER <i>et al.</i> , 2014
Ervália/MG, Brasil	72	AGOSTINHO <i>et al.</i> , 2015
Maracaibo, Venezuela	~700	GHOSH <i>et al.</i> , 2018

* Estudos antes de 1993 não dispunham da confirmação genética, o que tende a subestimar a taxa.

1.1.5.2 Incidência

O número de novos casos de DH por ano vem se mantendo estável nas últimas décadas (PRINGSHEIM *et al.*, 2012). Não há indicativo de acréscimo ou decréscimo. Um possível aumento da incidência poderia refletir uma elevação na taxa de mutações do gene da huntingtina, o que não é o caso. Assim como a prevalência, a incidência também é maior em países com ascendência europeia (PRINGSHEIM *et al.*, 2012).

Há menos estudos de incidência do que de prevalência na DH. Em países asiáticos, a incidência anual é em torno de 0,1 novos casos em 100.000 habitantes. Na Europa, América do Norte e Austrália, a média é de aproximadamente 0,5 (PRINGSHEIM *et al.*, 2012).

1.1.6 Características clínicas

1.1.6.1 Manifestações motoras

A DH é caracterizada pela tríade progressiva de sintomas motores, cognitivos e psiquiátricos. A idade média de início é aos 45 anos e a média de vida é de 15 a 20 anos após o início da doença (GHOSH; TABRIZI, 2018).

A coreia é a característica clínica mais marcante na DH. É um movimento hipercinético, anormal, involuntário e fluido, com contrações musculares aleatórias e imprevisíveis. Surge secundariamente à disfunção nos núcleos da base. A distribuição corporal é generalizada. Em adultos, está presente desde o início da doença, mas na forma juvenil é menos comum. No início da doença, a coreia é de amplitude reduzida, mais distal e em face, pouco perceptível para olhos não treinados, ou pode ser interpretada como uma inquietação. Com a progressão clínica, torna-se também mais proximal, pronunciada e ampla (TABRIZI *et al.*, 2015).

Os pacientes muitas vezes não se queixam da coreia, mas ela pode atrapalhar atividades rotineiras, como escrita e alimentação. A coreia e a incoordenação contribuem para o comprometimento dos movimentos finos. Objetos podem cair com mais frequência das mãos, como copos e pratos, impactando no declínio funcional do paciente (FAHN; JANKOVIC; HALLETT, 2011). O paciente muitas vezes tenta incorporar o movimento coreico a um movimento normal, uma maneira de camuflar a coreia com paracinesias, como levar a mão aos cabelos ou colocar um cigarro na boca (GILBERT; FRUCHT, 2011). Em estágios moderados a avançados da doença, a coreia atinge um platô ou até se reduz. Outros sintomas motores se tornam mais proeminentes, como bradicinesia, rigidez e incoordenação (TABRIZI *et al.*, 2015).

A coreia pode ser mensurada utilizando-se a Escala Unificada para Avaliação da Doença de Huntington (*Unified Huntington's Disease Rating Scale*, UHDRS). Esta escala possui um escore motor chamado *Total Motor Score* (TMS). No TMS, há um subitem específico para coreia, o *Total Maximal Chorea* (TMC). O TMC pontua a gravidade da coreia de 0 a 4 em 7 regiões diferentes do corpo: os 4 membros, tronco, face e buco-oro-lingual. A pontuação máxima do TMC é de 28 pontos (HUNTINGTON STUDY GROUP, 1996).

Entretanto, a DH não se limita à coreia. Há outros sintomas motores e não motores que podem causar impacto na funcionalidade do paciente e em suas atividades de vida diária. Sintomas motores que contribuem para incapacidade funcional são: anormalidades da motilidade ocular, bradicinesia, distonia, mioclonia, tiques, ataxia,

perda dos reflexos posturais com instabilidade e quedas, disartria, disfagia (CARDOSO *et al.*, 2006).

A distonia, em diferentes graus, quase sempre se associa à coreia, mesmo no início da doença (ORTH, 2014). Por esse motivo, a coreia da DH pode não parecer tão “dançante” quanto a coreia de Sydenham, que possui muita hipotonia e pouca distonia associada.

As anormalidades da motilidade ocular estão presentes na grande maioria dos pacientes com DH e são muito características. Há dificuldade em manter contato visual. O paciente, para iniciar o movimento ocular, necessidade de piscamentos ou rotação cefálica para o lado que deseja olhar. Isso pode ser atribuído à apraxia ocular e à intrusão de movimentos coreicos (ORTH, 2014). Essas alterações pioram progressivamente e podem ser mensuradas pela UHDRS. O aumento da latência para iniciação de sacadas é um sinal precoce da DH (GILBERT; FRUCHT, 2011).

A impersistência motora é outro sintoma característico da DH, apesar de nem sempre estar presente. O paciente não é capaz de manter a protusão completa da língua por 10 a 20 segundos. Também não consegue segurar a mão do examinador por vários segundos, sem soltá-la em alguns momentos, conhecido como o sinal da ordenha. A impersistência motora pode ser compreendida como uma “coreia negativa” (FAHN; JANKOVIC; HALLET, 2011).

A disartria também progride com a doença, por incoordenação da musculatura buco-oro-lingual. No início há apenas dificuldade para articular palavras, mas ainda é compreensível. Com o avanço da doença, torna-se cada vez mais difícil de compreender as frases do paciente, até o ponto de desenvolver anartria, ou seja, a incapacidade completa de articular palavras (GHOSH; TABRIZI, 2018).

A disfagia é outro sintoma debilitante e afeta a maioria dos pacientes com DH. Ocorre incoordenação da musculatura em todas as etapas da deglutição. Em estágios moderados a avançados, há dificuldade em deglutir a própria saliva, causando sialorreia. Em estágio avançado, o risco de aspiração aumenta a ponto de ser necessário a gastrostomia para sonda naso-gástrica (ORTH, 2014).

O diagnóstico clínico da DH é baseado em sinais motores inequívocos. Mesmo com o diagnóstico genético, o diagnóstico clínico motor ainda é importante, pois é um marcador de quando os primeiros sintomas começaram. O nível de convicção diagnóstica de um examinador experiente deve ser 4 para que o diagnóstico motor seja confirmado (PREDICT-HD, 2013) A **Tabela 3**, logo a seguir, descreve os graus de convicção diagnóstica.

Tabela 3 – Nível de convicção diagnóstica da UHDRS*.

Qual o seu grau de convicção de que essa pessoa preenche a definição operacional de presença inequívoca de um transtorno do movimento extrapiramidal (e.g., coreia, distonia, bradicinesia, rigidez) não explicado de outra maneira em um sujeito sob risco para Doença de Huntington?	
0	Normal (sem anormalidades)
1	Anormalidades motoras não específicas (convicção abaixo de 50%)
2	Anormalidades motoras podem ser sinais de DH (convicção de 50-89%)
3	Anormalidades motoras provavelmente são sinais de DH (convicção 90-98%)
4	Anormalidades motoras são sinais inequívocos de DH (convicção $\geq 99\%$)
Adaptação e tradução livre de: PREDICT-HD. Refining the diagnosis of Huntington disease: the PREDICT-HD study, <i>Frontiers in Aging Neuroscience</i> , v. 5, n. 12, p. 1-8, 2013.	
*The Unified Huntington Disease Rating Scale diagnostic confidence level	

Anormalidades motoras sutis podem ser detectadas até 10 anos antes do diagnóstico clínico, quando avaliadas por examinadores experientes. Dentre elas: aumento da latência para iniciação de sacadas, movimentos coreicos mínimos, bradicinesia discreta no teste de batida dos dedos (*finger tapping*), teste de Luria e marcha em tandem levemente alterados (PREDICT-HD, 2009).

1.1.6.2 Manifestações cognitivas

A presença de sinais motores inequívocos, especialmente a coreia, é utilizado em pesquisas e em avaliações clínicas para estabelecer o diagnóstico clínico de DH. Contudo, os sintomas não motores – psiquiátricos e cognitivos – frequentemente surgem antes dos sintomas motores (GILBERT; FRUCHT, 2011).

O declínio motor do paciente com DH, gerando comprometimento funcional progressivo, está bem caracterizado e estabelecido na história natural da doença,

principalmente com os estudos no Lago Maracaibo, Venezuela (AVILA-GIRÓN, 1973). Contudo, até pouco tempo, não se sabia a respeito da história natural do declínio cognitivo em pacientes com DH. Apesar de muitos estudos transversais, não havia coortes com 5, 10 anos de acompanhamento. Com isso, não estava bem caracterizado quais os domínios cognitivos afetados na fase prodrômica, na fase inicial ou em estágios mais avançados (STOUT *et al.*, 2014).

Nos últimos 10 anos, grandes coortes em DH foram finalizadas, permitindo montar um fenótipo do declínio cognitivo na DH (PREDICT-HD, 2014; TRACK-HD, 2013; COHORT, 2012; REGISTRY, 2012).

Um comprometimento cognitivo, inicialmente sutil, pode ser detectado até 10 anos antes do diagnóstico clínico motor. Cerca de 40% dos indivíduos com DHPr possuem comprometimento cognitivo leve. Essa taxa é maior nas fases que antecedem o diagnóstico clínico motor. Os domínios cognitivos mais comumente acometidos na DHPr são: velocidade de processamento, função executiva, integração visuomotora e reconhecimento de emoções (STOUT *et al.*, 2014).

Dentre esses 4, o domínio cognitivo mais frequentemente afetado na DHPr é a velocidade de processamento, relacionada a áreas subcorticais frontais. Uma forma comumente utilizada para se avaliar a velocidade de processamento é pelo *Symbol Digit Modalities Test*. Esse teste consiste em associar determinados símbolos a números de acordo com uma tabela, em um espaço de tempo fixo (90s). Quanto mais associações o indivíduo fizer, maior é a sua pontuação. Verifica-se um declínio linear da velocidade de processamento na preDH e na DH, conforme a **Figura 5** da seção 1.1.6.3 (PAULSEN *et al.*, 2017).

Outro domínio cognitivo frequentemente afetado na DHPr é a função executiva, secundário à atrofia estriatal-subcortical. Esse domínio envolve a habilidade de tomar decisões, organização, planejamento e supervisão. Pode ser avaliado pelo Teste *Stroop* e pela fluência verbal fonêmica. O Teste *Stroop* avalia a capacidade de nomear as cores de palavras com cores diferentes. Por exemplo, a cor da tinta da palavra **VERDE** é vermelha. Isso permite avaliar o controle inibitório e função executiva. Na fluência verbal

fonêmica, solicita-se ao indivíduo que enumere palavras iniciadas com determinada letra, em geral as letras F, A e S (STOUT *et al.*, 2014).

No dia-a-dia, os indivíduos com DHP_r ou DH manifesta podem se sentir sobrecarregados quando lidam com múltiplas tarefas e seu desempenho no trabalho pode diminuir, levando à frustração, irritabilidade e depressão (ORTH, 2014).

O reconhecimento de emoções também está alterado na DHP_r. O indivíduo ainda é capaz de compreender e lembrar de emoções, mas tem dificuldade em reconhecer se uma expressão facial ou um tom de voz representam medo, tristeza ou repugnância (PAULSEN *et al.*, 2017). Isso pode implicar em dificuldades de relacionamento e piora dos sintomas psiquiátricos. Seu mecanismo fisiopatológico e localização anatômica ainda são desconhecidos. Contudo, em estudos mais recentes, o comprometimento no reconhecimento de emoções tem se associado também a déficits na teoria da mente, que é a habilidade de compreender e criar empatia por sentimentos ou situações de outrem (PAULSEN *et al.*, 2017).

A integração visuomotora é a capacidade de se utilizar de elementos visuais para realizar ações motoras, por exemplo, dirigir e andar de bicicleta. Uma maneira de testá-la é solicitando que o indivíduo trace uma figura geométrica visualizada, mas sem olhar para a própria mão que está desenhando. Essa alteração precoce é compatível com estudos recentes de volumetria em ressonância magnética, que detectaram hipotrofia cortical parietal e occipital na DHP_r. Essa atrofia cortical posterior precoce e seu impacto na DH ainda precisa ser melhor compreendida, mas põe em dúvida a hipótese de que a atrofia inicial na DH é puramente estriatal-subcortical (STOUT *et al.*, 2014).

Em pacientes com o diagnóstico clínico motor, o declínio cognitivo torna-se mais aparente. Nesta fase inicial da DH, os domínios cognitivos afetados aumentam em número e gravidade. Entre eles, atenção, memória de trabalho, aprendizado e memória episódica. O declínio da memória episódica não é tão pronunciado quanto na doença de Alzheimer. Outros domínios como compreensão linguística, orientação espacial e memória semântica são relativamente preservados (STOUT *et al.*, 2014).

Com a evolução da doença, o paciente torna-se cada vez mais autocentrado, incapaz de ver outros pontos de vista. Frequentemente se negligencia, não cuidando da higiene própria nem se alimentando devidamente. Também negligencia familiares e cuidadores, o que pode ser secundário ao déficit de teoria da mente e reconhecimento de emoções. Isso pode levar à falta de conexão e perda da empatia com familiares e cuidadores, em um momento em que o paciente mais precisa deles, pois, com o declínio cognitivo e motor, o indivíduo com DH vai se tornando cada vez mais dependente (ORTH, 2014). A **Figura 4**, a seguir, resume os domínios cognitivos afetados na DH.

Figura 4 – Domínios cognitivos acometidos em diferentes estágios. Fonte: *próprio autor*.

1.1.6.3 Manifestações psiquiátricas

As alterações psiquiátricas e comportamentais representam um aspecto significativo da doença e muitas vezes são a causa da procura de atendimento médico. Estão muito presentes tanto na fase prodrômica quanto na DH manifesta. Contudo, são os sintomas menos estudados na DH, quando comparados às alterações motoras e cognitivas. Parecem ser menos previsíveis que os declínios motor e cognitivo, mas não há pesquisas suficientes para se montar um fenótipo das alterações psiquiátricas nos diferentes estágios da DH (PAULSEN *et al.*, 2017).

Os transtornos do humor, depressão e ansiedade, são os diagnósticos psiquiátricos mais comuns na DH, e podem estar presentes em qualquer estágio, desde a fase prodrômica até fases avançadas. Aparentemente, não se correlacionam com o declínio funcional progressivo da DH (GHOSH; TABRIZI, 2018). A depressão é a mais comum, e tem uma prevalência aproximada de 40%. O diagnóstico de depressão utilizando o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV ou V) pode ser mais desafiador, pois muitos dos sintomas físicos podem ser resultantes da DH ao invés da depressão. A avaliação com a Escala Hospitalar de Depressão e Ansiedade pode auxiliar no diagnóstico, pois foca nos sintomas principais da depressão, sem levar em conta os físicos (ORTH, 2014).

A apatia, por sua vez, parece se agravar de maneira mais linear, e piora com a progressão da doença, conforme indica a **Figura 5**, na página seguinte. É um sintoma debilitante, caracterizado por perda da iniciativa e da espontaneidade em conversas e atividades, levando a um comportamento passivo, sem melhora com medicação (GHOSH; TABRIZI, 2018). Pode ser muito frustrante para familiares e cuidadores, pois o paciente abandona seus hobbies, deixa de se alimentar, fica horas em frente à TV sem nem trocar de canal. Para o paciente em si, não é frustrante (ORTH, 2014).

Em diferentes graus, pesquisas indicam que até 59% dos indivíduos com DHPr são afetados por apatia, e 70% dos com DH estabelecida. A gravidade da apatia se associa com declínio cognitivo e funcional. Em estágios finais, a apatia torna-se um sintoma cada vez mais proeminente e grave. Em pacientes com DH e demência, pode ser um desafio diferenciar entre apatia e depressão (PAULSEN *et al.*, 2017).

Figura 5 – Alterações do volume cerebral (A), do teste modalidade símbolo-digito (H) e da apatia (K) ao longo de 36 meses, em diferentes estágios da doença*.

Legenda: Verde: controles. Azul: DH prodrômico mais de 10 anos distante do diagnóstico motor (PreHD-A). Roxo: DH prodrômico menos de 10 anos distante do diagnóstico motor (PreHD-B). Laranja: fase inicial da DH (HD1). Vermelho: fase inicial a intermediária da DH (HD2).

* $p < 0,05$. ** $p < 0,01$. *** $p < 0,001$, em relação ao controle.

Fonte: TRACK-HD. 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. *The Lancet Neurology*, v. 12, n. 7, p. 637-649, 2013.

*Uso autorizado por e-mail pela Professora Sarah Tabrizi em 13/02/2019.

O suicídio é a segunda causa de morte na DH, atrás apenas de pneumonia aspirativa. O risco de suicídio é maior em 2 fases: quando surgem os sinais motores inequívocos da doença e quando o paciente começa a perder sua independência por perda funcional, correspondente ao estágio II de Shoulson-Fahn (GHOSH; TABRIZI, 2018). Em comparação com a população geral, o risco de suicídio aumenta em até 200 vezes na DH. Estudos indicam que a grande maioria dos indivíduos com DH que planejam ou tentam suicídio têm depressão associada. Deste modo, sempre que houver o diagnóstico de depressão, deve-se tratá-la e investigar ideação suicida (PAULSEN *et al.*, 2017).

Irritabilidade e agressão também são comuns na DH. A irritabilidade pode ocorrer pela percepção do declínio motor, como mãos desajeitadas que deixaram o copo cair, ou por um quadro depressivo. Inconvenientes menores também podem ocasionar mudanças repentinas de humor, com ataques de fúria, abuso verbal, agressividade direcionada a objetos ou até pessoas. Em geral, as pessoas mais próximas ao paciente são as que mais presenciam e sofrem com esses ataques. Podem durar horas ou dias. É causa

constante de queixa de familiares e cuidadores na consulta médica. Quando o paciente ainda tem *insight*, arrepende-se, pode entrar em depressão e até ter ideação suicida. Com a progressão da doença, perde o *insight* e pode continuar agressivo, o que é um dos motivos que levam à institucionalização, pois os cuidadores se sentem sobrecarregados (ORTH, 2014).

Traços de obsessão e compulsão podem ocorrer na DH, muito associados à ansiedade. Em geral, não fecha critérios para Transtorno Obsessivo-Compulsivo (TOC), e o TOC em DH não é mais comum do que na população geral. Comportamentos repetitivos que não tem relação com ansiedade, nem com pensamentos que o paciente considera alheios a sua personalidade, podem ser melhor classificados como perseveração, que é muito comum na DH. Em geral esse comportamento repetitivo é reportado por familiares e cuidadores, como caminhar pela casa ao longo de horas. O paciente deseja manter uma rotina previsível no dia-a-dia, e se irrita ou fica agressivo quando precisa alterá-la. Ele pode insistir em determinada atividade ou assunto, voltando repetidamente a ele, ao longo de vários dias. Isso pode ser muito estressante para cuidadores e familiares, mas não para o paciente (ORTH, 2014).

A prevalência de psicose na DH é de 3 a 11%, o que é baixo, em comparação com outros sintomas psiquiátricos. Quando presente, é muito similar à esquizofrenia, com delírios, alucinação auditiva e embotamento afetivo. Pode se manifestar em qualquer estágio da doença, inclusive na DHPr. Em geral, manifesta-se com uma piora aguda da organização do pensamento e sintomas negativos proeminentes (ORTH, 2014).

1.1.6.4 Manifestações periféricas

Além da tríade de alterações motoras, cognitivas e comportamentais, a DH também pode ter manifestações sistêmicas. A principal delas é a perda ponderal, que pode ser grave, intratável e levar à caquexia, mesmo que o indivíduo se alimente avidamente. Essa alteração pode ser explicada pelo constante movimento gerado pela coreia, mas apenas parcialmente (GILBERT; FRUCHT, 2011). Acredita-se que a demanda metabólica dos indivíduos com DH seja maior. Mais recentemente, tem-se

associado à neurodegeneração hipotalâmica, com detecção de agregados de huntingtina nesses neurônios (GILBERT; FRUCHT, 2011).

Essas mesmas alterações hipotalâmicas podem justificar as queixas de sono que afligem até 90% dos pacientes com DH, como inversão do ciclo sono-vigília (VAN WAMELEN *et al.*, 2014).

Outros sintomas periféricos relatados incluem intolerância à glicose, disfunção de células hematológicas, osteoporose, atrofia muscular, atrofia testicular e insuficiência cardíaca (VAN DER BURG; BJÖRKQVIST; BRUNDIN, 2009). Esta última, está presente em 30% dos pacientes com DH, e é uma das principais causas de morte nesta doença. Modelos animais encontraram disautonomia e níveis elevados de huntingtina em cardiomiócitos. Contudo, ainda não está estabelecido se a huntingtina é cardiotóxica ou não, nem as implicações clínicas da insuficiência cardíaca (ABILDTRUP, 2013).

Estudo recente, com DHPe e DH estágio inicial comparados ao controle, revelou risco cardiovascular aumentado em DHPe e DH. Foi realizado medida ambulatorial de pressão arterial (MAPA) por 24h e avaliação da espessura médio-intimal das carótidas com ultrassom. A espessura da parede das carótidas estava elevada na DHPe e DH. Além disso, havia o chamado padrão *non-dipper* no MAPA, que é quando a pressão arterial não diminui ao dormir. Isso indica risco cardiovascular elevado (DIAGO *et al.*, 2018).

Em um estudo com modelo animal, inclusões poliglutamínicas foram encontradas em várias células fora do SNC, como fígado, pâncreas, intestino, rim, pele, testículo, entre outros. Seu potencial patogênico ainda precisa ser confirmado (BATES *et al.*, 2009).

As células hematológicas exibem grande variedade de anormalidades na DH, tanto em modelos animais quanto em humanos. Plaquetas apresentam desregulação de receptores de adenosina, que são importantes para modular a agregação plaquetária. Linfoblastos possuem disfunção mitocondrial e aumento de apoptose (CIAMMOLA *et al.*, 2009).

Outras alterações hematológicas incluem aumento de interleucinas inflamatórias no sangue e no líquido, hiperatividade fagocitária de monócitos, alteração na transcrição gênica de hematócitos e disfunção mitocondrial (VAN DER BURG; BJÖRKQVIST;

BRUNDIN, 2009). Esses achados dão suporte para o estudo de alterações no sangue periférico na DH.

Os neurofilamentos plasmáticos, que são estudados como biomarcadores de neurodegeneração em diversas doenças neurológicas, mostraram-se elevados na DH. Inclusive, níveis maiores no plasma associam-se com um prognóstico pior (WILD *et al.*, 2017).

A intolerância à glicose ainda é objeto de dúvida. Em estudos antes da década de 1990 e em modelos animais recentes, tanto intolerância à glicose quanto diabetes tinham frequência aumentada na DH. Contudo, estudos mais recentes e rigorosos detectaram prevalência igual ou inferior à população geral (MONTJOJO; AGANZO; GONZÁLEZ, 2017).

Muitos estudiosos defendem que essas alterações periféricas não sejam secundárias à degeneração do SNC, mas sim primárias do órgão envolvido (VAN DER BURG; BJÖRKQVIST; BRUNDIN, 2009). Deste modo, a DH seria uma doença sistêmica. Evidências que falam a favor dessa hipótese incluem: alterações periféricas não se relacionam temporalmente com as alterações neurológicas; o grau de alterações periféricas não é justificado por acometimento neurológico, como do eixo hipotalâmico, entre outros (VAN DER BURG; BJÖRKQVIST; BRUNDIN, 2009).

1.1.6.5 Comprometimento funcional

O declínio funcional na DH é secundário ao comprometimento motor, cognitivo e comportamental (**Figura 6**). Os sintomas cognitivos e motores se degradam concomitantemente ao longo do tempo, pois ambos são secundários à degeneração estriatal-subcortical dos núcleos da base. O grau de impacto dos sintomas psiquiátricos no declínio funcional, por sua vez, não está tão bem estabelecido (TABRIZI *et al.*, 2015).

Figura 6 – Fatores que influenciam o comprometimento funcional na DH. Fonte: próprio autor.

As alças motoras e cognitivas possuem íntima relação nos núcleos da base, o que justifica o declínio paralelo de ambas na DH. A alça límbica, relacionada à emoção, possui alguns circuitos diversos. Por exemplo, conexões com o estriado ventral, formado pelo núcleo accumbens e o tubérculo olfatório, o que pode explicar a influência distinta dos sintomas psiquiátricos na perda funcional (ROSS *et al.*, 2014).

Na fase pré-sintomática da DH não há comprometimento funcional. Na fase prodrômica, pode ocorrer perda funcional, variável entre cada indivíduo, mas não é detectada por escores de funcionalidade padrões. Na DH manifesta, o declínio funcional já é evidente em escalas, afetando progressivamente atividades rotineiras e laborais (REILMANN *et al.*, 2014).

A incapacidade para o trabalho depende de qual a ocupação. Indivíduos que necessitam de movimentos finos, como uma costureira, podem perder a capacidade mais precocemente. Muitas vezes o paciente vai diminuindo suas tarefas gradativamente, adaptando-se a sua perda motora e cognitiva, até um ponto em que não seja mais possível realizá-las (ROSS *et al.*, 2014).

A impacto do declínio motor na incapacidade funcional é bem estabelecido. Sabe-se que a coreia é muito importante para o diagnóstico, mas não gera tanta perda funcional. Os outros sintomas motores da DH possuem mais correlação com independência funcional. Entre eles, figuram incoordenação, bradicinesia, disatria, instabilidade postural (ROSS *et al.*, 2014).

O comprometimento cognitivo também gera muita incapacidade funcional. Separar e calcular o impacto de cada um, declínios motor e cognitivo, na perda funcional, pode ser uma tarefa impossível. Por 2 razões: a relação anatômica e fisiológica íntima das 2

alças nos núcleos da base e a dificuldade em encontrar testes que avaliem puramente a cognição, sem necessidade de habilidades motoras (ROSS *et al.*, 2014).

Dentre os sintomas psiquiátricos, o que mais se correlaciona com perda funcional é a apatia. Este sintoma já é detectado na DH prodrômica e piora gradativamente com a evolução da doença. As outras alterações psiquiátricas parecem ter menos previsibilidade, podendo ocorrer em diferentes momentos da doença. Contudo, mais estudos são necessários nessa área (ROSS *et al.*, 2014).

Algumas pesquisas focaram em funcionalidades específicas, como dirigir, que envolve habilidades motoras e cognitivas. Em um estudo nos EUA, 72% dos pacientes com DH manifesta fase inicial ainda dirigiam, mas com um risco maior de acidentes nos 2 anos anteriores (58% vs. 11% controles). A incapacidade para dirigir pode ser um marcador importante da perda funcional na DH (REBOK *et al.*, 1995)

1.1.6.6 Escalas clínicas

A escala clínica mais importante e mais utilizada na DH é a UHDRS. Ela foi desenvolvida para padronizar a avaliação clínica do paciente com DH. Possui 4 domínios principais analisados: motor, cognitivo, comportamental e funcional (TUMAS *et al.*, 2004)

A UHDRS já foi traduzida e validada para a língua portuguesa. A versão brasileira apresentou elevada consistência interna e resultados clínicos semelhantes às versões internacionais (TUMAS *et al.*, 2004).

A avaliação funcional da UHDRS consiste em 3 escalas: avaliação do estado funcional, com 25 perguntas objetivas sobre atividades instrumentais e básicas; escala de independência, com uma graduação de 0 a 100%; e capacidade funcional total, que avalia 5 itens (ocupação, finança, tarefas domésticas, atividades básicas de vida diária e nível de cuidados) (TUMAS *et al.*, 2004).

O desempenho cognitivo é avaliado pela fluência verbal fonêmica, teste *Stroop* e o *Symbol Digit Modalities Test*. As alterações psiquiátricas são analisadas pelo escore de

comportamento, que pontua gravidade e frequência de cada sintoma psiquiátrico, similar ao Inventário Neuropsiquiátrico (TUMAS *et al.*, 2004).

A performance motora da UHDRS é avaliada pelo escore motor total (TMS). O TMS possui 15 itens, com pontuação máxima de 124 pontos. Avalia motricidade ocular, disartria, protusão da língua, bradicinesia, rigidez, distonia, coreia, marcha e instabilidade postural. Cada item é pontuado de 0 a 4, e quanto maior, pior a gravidade (TUMAS *et al.*, 2004).

A partir do diagnóstico motor, a progressão da DH pode ser avaliada pelo estadiamento de Shoulson-Fahn, que consiste em 5 estágios (**Tabela 4**). Os domínios avaliados por esse estadiamento são os mesmos da capacidade funcional total da UHDRS, havendo correspondência entre as duas (GHOSH; TABRIZI, 2018).

Tabela 4 – Estadiamento de Shoulson-Fahn para DH.

Estágio	Engajamento no trabalho	Controle das finanças	Serviços domésticos	Atividades de vida diária	Nível de cuidados
I	Normal	Normal	Normal	Normal	Em casa
II	Reduzido	Pouca ajuda	Normal	Normal	Em casa
III	Muito reduzido	Muita ajuda	Comprometido	Pouco comprometido	Em casa
IV	Incapaz	Incapaz	Incapaz	Moderadamente comprometido	Sob cuidado constante
V	Incapaz	Incapaz	Incapaz	Muito comprometido	Cuidado de enfermagem 24h/dia

Adaptado de: GHOSH, Rhia; TABRIZI, Sarah. Clinical Features of Huntington's Disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 1049, p. 1-28, 2018.

1.1.6.7 Doença de Huntington Juvenil

Também conhecida como variante de Westphal, representa até 10% dos casos de DH. Por definição, os sintomas motores desta variante têm início antes dos 20 anos de idade (GILBERT; FRUCHT, 2011).

É caracterizada geneticamente por um elevado número de repetições CAG, pelo menos acima de 55. Devido à maior suscetibilidade da herança paterna em expandir repetições CAG entre cada geração, cerca de 90% dos casos de Doença de Huntington Juvenil (DHJ) são de origem paterna (GHOSH; TABRIZI, 2018).

A manifestação clínica da DHJ em geral não envolve a coreia. Mioclonias são particularmente comuns. Pode se apresentar sob a forma de mioclonias e epilepsia. Outra apresentação clínica é com parkinsonismo rígido-acinético, distonia, ataxia e piramidalismo. A **Figura 7**, a seguir, resume esses achados. Em geral a progressão é mais rápida do que a forma de início adulto (FAHN; JANKOVIC; HALLET, 2011).

Os sintomas cognitivos e psiquiátricos também são proeminentes na DHJ. Quando surge precocemente, abaixo dos 10 anos, pode se manifestar com atraso ou regressão do desenvolvimento neurológico e motor. Pode haver mudança na personalidade, tornando-se mais agressiva, hostil e com comportamento antissocial. Depressão e apatia também são comuns (ORTH, 2014).

Os sintomas cognitivos e psiquiátricos podem inclusive ser a manifestação inicial, sem achados motores. Os movimentos anormais podem surgir apenas em estágios intermediários da DHJ, dificultando e atrasando o diagnóstico. Além disso, o pai portador da mutação, pode ainda não ter manifestado os sintomas clássicos de DH, por possuir um número menor de repetições CAG (GILBERT; FRUCHT, 2011).

Figura 7 – Manifestações iniciais possíveis na DHJ, que podem se sobrepor. Fonte: próprio autor.

1.1.7 Diagnóstico

1.1.7.1 Momento do diagnóstico

O diagnóstico clínico motor é feito quando há sinais motores inequívocos de DH, o que corresponde ao nível de convicção diagnóstica 4, utilizando a avaliação da UHDRS, conforme já descrito na **Tabela 3** (TABRIZI *et al.*, 2015).

Por outro lado, o teste genético para DH pode ser preditivo ou diagnóstico, a depender do caso. Um teste genético positivo, em um indivíduo assintomático, é preditivo. Já um teste genético positivo em um indivíduo com alterações clínicas compatíveis é diagnóstico (TABRIZI *et al.*, 2015).

O resultado positivo de um teste genético para um paciente sob suspeita de DH deve ser informado com cautela, pois gera muitas implicações para o indivíduo e seus familiares. O ideal é preparar o paciente antecipadamente, com informações sobre a doença, e mantê-lo em acompanhamento psicológico e psiquiátrico. No dia do resultado, o paciente deve vir acompanhado de um familiar ou acompanhante de confiança (TABRIZI *et al.*, 2015).

A solicitação de um teste genético preditivo também exige muito cuidado, visto a DH ser uma doença devastadora e incurável. Deve haver avaliação psicológica e psiquiátrica, aconselhamento genético e exame neurológico realizado por um especialista. Pelo menos 3 consultas devem ser feitas antes, e o indivíduo deve ter tempo para reconsiderar a decisão de realizar o teste. Menores de 18 anos não devem realizar o teste genético, a não ser que apresentem sintomas (TABRIZI *et al.*, 2015).

O teste genético pré-implantacional é uma forma de evitar que o paciente com DH passe a mutação para seus filhos. Consiste na fertilização *in vitro*, com posterior testagem genética dos embriões. Apenas os embriões negativos para a mutação são implantados no útero (GILBERT; FRUCHT, 2011).

O teste genético é realizado pelo método de PCR, que possui alta sensibilidade e especificidade. Fragmentos contendo a expansão CAG são amplificados por PCR. A quantificação desses fragmentos é feita com eletroforese capilar em gel (ORTH, 2014).

Há 3 situações, incomuns, em que pode haver um resultado falso-negativo: número de repetições CAG muito altas, acima de 100, como no caso da DHJ; heterozigose composta, ou seja, pai e mãe com DH, como alguns casos em Lago Maracaibo; o *primer*, região do gene que inicia o método PCR, ter uma mutação, em geral polimorfismo de nucleotídeo único. Nessas ocasiões, deve-se solicitar o teste genético por outra técnica, chamada de *Southern Blot*. Este método é demorado e caro, mas confirmatório. Falsos-positivos do PCR ocorrem raramente, por falha ou imprecisão do laboratório (GILBERT; FRUCHT, 2011).

1.1.7.2 Achados de imagem

Mesmo na fase pré-sintomática, até 20 anos antes do diagnóstico motor, estudos demonstram atrofia estriatal na ressonância magnética (RM), assim como alterações na RM funcional. Essas anormalidades não são detectadas por técnicas convencionais de RM (STOUT *et al.*, 2014).

Deste modo, a RM detecta atrofia 20 anos antes do diagnóstico clínico, enquanto alterações cognitivas e motoras sutis surgem apenas 10 anos antes do diagnóstico clínico. Essa dissociação clínico-radiológica pode indicar mecanismos de compensação neurais, como circuitos alternativos (STOUT *et al.*, 2014).

Em estudos de RM com volumetria, a atrofia estriatal ocorre de 3 a 5% ao ano, e é o achado mais precoce e sensível na DH (SCAHILL *et al.*, 2017). A perda volumétrica é de dorsal para ventral. Desta maneira, a cauda e o corpo do núcleo caudado são afetados antes da cabeça do núcleo caudado. O putamen atrofia mais que o núcleo caudado, mas este último possui a substância cinzenta mais bem delimitada, o que facilita sua volumetria. O estriado ventral, que compreende núcleo accumbens e tubérculo olfatório, sofrem menos alterações (STOUT *et al.*, 2014).

Na fase prodrômica da DH, além da atrofia estriatal mais pronunciada, detecta-se atrofia da substância branca e do córtex posterior (occipital). Na fase manifesta da DH, a atrofia cortical se espalha, assim como a da substância branca, tornando-se global. A

redução volumétrica estriatal atinge seu platô. Esse padrão difuso coincide com o início da perda funcional na DH (SCAHILL *et al.*, 2017).

Os diferentes estágios de atrofia podem ser utilizados como biomarcadores da progressão da doença em ensaios clínicos com terapias modificadoras da doença (SCAHILL *et al.*, 2017).

A RM convencional, que é a disponível fora das pesquisas para o clínico, possui alterações principalmente na DH manifesta, e ocasionalmente na DH prodrômica. A sequência ponderada em T1 é a melhor técnica para avaliar estrutura. Observa-se atrofia da cabeça do núcleo caudado, que é melhor comprovada em cortes axiais e coronais (ROCHA; GAMA; PACHECO, 2012).

Em cortes axiais, há aumento da distância horizontal entre as porções mediais das cabeças dos núcleos caudados. Quando há dúvida, cortes coronais identificam essa perda de volume da cabeça dos caudados, observando-se a retificação das paredes laterais dos cornos frontais dos ventrículos laterais (**Figura 8**). É chamado pelos radiologistas de “aspecto quadrado” ou “ventrículo em vagão”, e é ocasionado pelo alargamento dos cornos frontais, secundário à atrofia do caudado (ROCHA; GAMA; PACHECO, 2012).

Figura 8 – RM 7 Tesla, coronal T1, em controle e em paciente com DHPr, com atrofia de caudado e putamen*.

TABRIZI, Sarah J *et al.* Huntington Disease. **Nature Reviews**, v. 1, p. 1-21, 2015.

**Uso autorizado por e-mail pela Professora Sarah Tabrizi em 13/02/2019.*

1.1.7.3 Diagnóstico diferencial

Mais de 90% dos indivíduos com características clínicas compatíveis com DH confirmarão o diagnóstico de DH pelo teste genético. Os menos de 10% restantes entram no diagnóstico diferencial de DH, que é amplo e envolve dezenas de possibilidades (CARDOSO *et al.*, 2006).

As chamadas fenocópias da DH, Doença de Huntington-*like* ou Huntington-símile (DHL) compreendem distúrbios geneticamente heterogêneos. São numeradas de 1 a 4, mas já foram identificadas várias outras (CARDOSO *et al.*, 2006).

A DHL1 é uma variante da doença priônica familiar que se apresenta também com transtornos do movimento e demência, descrita em poucas famílias. A DHL2 é a que mais se confunde com a DH, podendo ser clinicamente indistinguível (BHATIA *et al.*, 2012). Sua prevalência é maior entre pessoas de origem africana, como no Brasil, onde estima-se ser a segunda causa de coreia autossômica dominante. Um estudo realizado no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP), com 29 pacientes com fenótipo de DHL, negativos para DH, encontraram-se 3 casos (10,3%) positivos para DHL2 (TUMAS *et al.*, 2011).

A DHL3 é uma condição rara, autossômica recessiva, descrita em uma família árabe em 1999, que se apresenta com coreia e atraso do desenvolvimento em crianças (BHATIA *et al.*, 2012).

A DHL4, também conhecida como atrofia espinocerebelar 17 (SCA17), é autossômica dominante e pode ter um quadro clínico muito semelhante à DH. Apresenta-se com ataxia, coreia, distonia, parkinsonismo, demência e alterações psiquiátricas. A clínica pode ser de ataxia leve com predomínio de coreia. Um achado importante que ajuda na diferenciação é a atrofia cerebelar na ressonância magnética de encéfalo (BHATIA *et al.*, 2012).

Mais recentemente, figurando entre os diagnósticos diferenciais mais comuns das fenocópias de DH, a expansão C9orf72 vem ganhando espaço. É autossômica dominante e pode se apresentar com coreia, demência e alterações psiquiátricas. Essa mutação se associa também a demência frontotemporal e esclerose lateral amiotrófica (CARDOSO,

2014). Dados ainda não publicados, de nosso grupo em Ribeirão Preto, não encontraram casos de C9orf72 e DRPLA como causa de HDL em nossos pacientes.

Outras condições autossômicas dominantes relacionadas são SCA2, atrofia dentatorubro-palidolusiana (DRPLA), neurodegeneração por acúmulo de ferro tipo 3 (neuroferritinopatia – NBIA3) e coreia hereditária benigna (CARDOSO, 2014).

As fenocópias autossômicas recessivas de DH são menos comuns. A que mais se assemelha com a DH é a neuroacantocitose. Outras a serem consideradas incluem Ataxia de Friedreich, aceruloplasminemia (NBIA4), neurodegeneração por acúmulo de ferro tipo 1 (deficiência de PANK2 – NBIA1), ataxia-telangiectasia, DHL3 (CARDOSO, 2014). A **Tabela 5**, a seguir, resume essas doenças.

Tabela 5 – Doenças genéticas que podem se apresentar como fenocópias da DH.

Dominantes	Recessivas	Ligada ao X
DHL1	Neuroacantocitose	Síndrome de McLeod
DHL2	Ataxia de Friedreich	
DHL4 ou SCA17	Aceruloplasminemia	
C9orf72	NBIA1	
SCA2	Ataxia-telangiectasia	
DRPLA	DHL3	
NBIA3		
Coreia hereditária benigna		

Casos adquiridos também podem se apresentar como fenocópias da DH. Dentre as mais comuns, discinesia tardia e degeneração hepatolenticular não-Wilsoniana. A discinesia tardia surge secundária ao uso crônico de antipsicóticos, e pode ter fenômenos como coreia e distonia associados. Deve-se coletar uma história precisa, avaliando a relação temporal entre antipsicóticos e discinesia. Se a dúvida persistir, ressonância magnética e teste genético para DH elucidam o diagnóstico (CARDOSO, 2014).

A coreia psicogênica é um diagnóstico raro, que representa apenas 0,6% dos distúrbios de movimento psicogênicos. Já foi relatada em uma paciente com história familiar de DH, mas que subsequentemente apresentou teste genético negativo para DH (FEKETE; JANKOVIC, 2010).

1.1.8 Tratamento

1.1.8.1 Tratamento sintomático

O manejo relacionado à DH envolve indivíduos sob risco, portadores assintomáticos, DH prodrômica, DH manifesta, familiares e cuidadores. Deste modo, é necessária uma abordagem multidisciplinar, idealmente em uma clínica especializada em DH, com neurologistas, psiquiatras, neuropsicólogos, geneticistas, enfermeiros, fisioterapeutas, fonoaudiólogos, nutricionistas, odontólogos e assistentes sociais (ORTH, 2014).

O manejo de pacientes com DH envolve tratamento farmacológico e não farmacológico. Como não há terapia modificadora da doença, o tratamento é centrado nos sintomas (TABRIZI *et al.*, 2015).

Para avaliar quais sintomas necessitam de intervenção, além do paciente, deve-se indagar ativamente os acompanhantes, por vezes em separado. Isso porque pacientes com DH muitas vezes negam qualquer problema. Alterações como irritabilidade, agressão e apatia podem gerar muito estresse e angústia nos cuidadores e familiares, mas não no paciente (ORTH, 2014).

A coreia nem sempre necessita de tratamento, e os pacientes muitas vezes não se queixam dela. Deve-se avaliar o impacto que a coreia causa na funcionalidade diária do paciente, como interferência no trabalho, mas também fatores estigmatizantes e riscos de lesão física. O tratamento farmacológico da coreia, com antipsicóticos e tetrabenazina, pode gerar muitos efeitos colaterais, inclusive piora da cognição, dos sintomas comportamentais, do equilíbrio e do parkinsonismo. Deste modo, deve-se ter como alvo a menor dose eficaz (GHOSH; TABRIZI, 2018).

As drogas consideradas 1ª linha no tratamento da coreia são os antipsicóticos e a tetrabenazina, esta última indisponível no Brasil. A tetrabenazina é a única medicação que possui um ensaio clínico randomizado demonstrando diminuição da coreia, aprovado pela agência americana de alimentos e medicamentos (*Food and Drug Administration*, FDA). Nesse estudo, a redução média do escore TMC foi de 5 pontos, o que pode ser

um benefício modesto em pacientes com coreia grave, visto que o TMC varia de 0 a 28 pontos (HUNTINGTON STUDY GROUP, 2006).

O mecanismo de ação da tetrabenazina é pré-sináptico, ao inibir reversivelmente uma vesícula transportadora de monoaminas, o que diminui a dopamina liberada na sinapse. Sua dose varia de 25 a 150mg/dia, em 2 tomadas diárias. Possui efeitos adversos importantes, como precipitação ou exacerbação de episódio depressivo, suicídio, sedação, parkinsonismo, insônia e baixa adesão ao tratamento (FAHN; JANKOVIC; HALLETT, 2011).

Mais recentemente, um isômero da tetrabenazina, chamado deutetabenazina, se provou eficaz em reduzir a coreia, mas com meia-vida maior e menos efeitos colaterais do que a tetrabenazina (KIEBURTZ *et al.*, 2018)

Os antipsicóticos têm efeito inibitório pós-sináptico, no receptor de dopamina. Já foram testados em estudos pequenos, demonstrando eficácia variável entre cada classe. Haloperidol, risperidona e olanzapina estão entre os mais utilizados. Aripiprazol foi comparado a tetrabenazina em um estudo menor, e teve eficácia similar, mas com menos efeitos colaterais. Clozapina e quetiapina também podem ser úteis, mas os efeitos benéficos parecem menores (BHATIA *et al.*, 2012).

As drogas de 2ª linha para o tratamento da coreia incluem medicações gabaérgicas, como benzodiazepínicos, antilutamatérgicos, como amantadina e riluzol, e antiepilépticos, como valproato, topiramato e levetiracetam (BHATIA *et al.*, 2012).

Em estágios avançados da DH, a coreia em geral se reduz. Com isso, pode ser benéfico diminuir a medicação anticoreica, visando melhora de outros sintomas motores, como rigidez e espasticidade. Nesta fase, baclofeno, tizanidina e toxina botulínica são úteis (GHOSH; TABRIZI, 2018).

Os sintomas psiquiátricos, como depressão, ansiedade e comportamento obsessivo-compulsivo, devem ser medicados da mesma maneira que o seriam em um paciente com esses mesmos sintomas, mas não portador DH, pois ainda não há estudos específicos para DH (TABRIZI *et al.*, 2015). Por exemplo, um paciente com depressão e sem DH, pode ser tratado com sertralina, tendo em vista seus benefícios comprovados.

Por extrapolação, um paciente com depressão e com DH também pode ser tratado com sertralina, apesar de não haver estudos específicos.

A irritabilidade, um sintoma muito comum e motivo de estresse para cuidadores, tem como 1ª escolha os inibidores da recaptação de serotonina. Contudo, caso muita intensa a ponto de gerar agressão física, deve-se optar pelos antipsicóticos. Em casos mais graves, admissão em uma instituição psiquiátrica (ORTH, 2014).

A apatia é um sintoma muitas vezes debilitante, mas de difícil tratamento. Um teste terapêutico com antidepressivos sempre deve ser tentado. Caso não responda, aripiprazol pode ter algum benefício. A redução das drogas anticoreicas, como tetrabenazina e antipsicóticos, gera grande melhora da apatia em alguns pacientes. Manter um calendário de atividades diversas, como fisioterapia e outras tarefas, pode ser uma medida não farmacológica útil (ORTH, 2014).

Estudos em modelos animais e alguns em humanos, indicam que manter uma rotina de atividades físicas e mentais pode adiar o início dos sintomas e retardar a progressão da DH. Assim como na doença de Parkinson (DP) e na doença de Alzheimer, para haver um efeito benéfico global para a saúde (ORTH, 2014).

1.1.8.2 Perspectivas de tratamento

Entre as modalidades terapêuticas que podem atuar modificando a doença, as mais estudadas em DH são terapia celular e terapia genética (KIEBURTZ *et al.*, 2018).

A terapia celular tenta substituir os neurônios estriatais gabaérgicos, os mais afetados na DH, por células tronco que se diferenciem em tecido saudável. Em modelos animais, houve benefício relatado. Contudo, em estudos clínicos abertos, em humanos com DH que colocaram enxerto, os benefícios de longo prazo foram pequenos. Um ensaio clínico multicêntrico na França, com 45 pacientes com DH, foi finalizado, mas ainda está sob análise (KIERBUTZ *et al.*, 2018).

A terapia genética é considerada um ramo promissor para o tratamento da DH. Consiste em silenciar ou modular a proteína ou o gene responsável pela huntingtina. A

modalidade mais estudada na DH, e com ensaios clínicos já em execução, é a terapia genética anti-sentido ou *antisense* (KIERBUTZ *et al.*, 2018). A **Figura 9**, a seguir, traz um esquema dessa modalidade terapêutica.

Esta terapia consiste em produzir oligonucleotídeos sintéticos, que são pequenas cadeias de DNA, que inibam o material genético relacionado à huntingtina. O principal alvo é o RNA mensageiro da huntingtina, que se origina do DNA e gera a proteína no citoplasma. O nome oligonucleotídeo *antisense* (OAS) é usado, pois a sequência de oligonucleotídeos é complementar à do RNA mensageiro alvo. Por exemplo, se a huntingtina possuir uma sequência CAGCAGCAG, à do OAS será GACGACGAC. A terapia *antisense* já tem aprovação do FDA para outras doenças, como atrofia muscular espinhal e distrofia muscular de Duchenne (WILD; TABRIZI, 2017).

Figura 9 – Inibição da expressão gênica com oligonucleotídeo *antisense* (OAS).

Esquema de uma célula com seu núcleo. O DNA do gene da huntingtina é transcrito em RNA.

O RNA sai do núcleo para o citoplasma e gera a proteína huntingtina. O OAS (em vermelho) inibe o RNA ainda dentro do núcleo, logo após a transcrição, impedindo a geração de proteínas.

Fonte: próprio autor.

O primeiro ensaio clínico com OAS foi iniciado em 2015, na Inglaterra e no Canadá. A droga é chamada de IONIS-HTT, e é um OAS sintético de 20 nucleotídeos, que apresentou resultados promissores em modelos animais. Inibe o RNA mensageiro tanto da huntingtina mutante como da não mutante. No estudo fase 1-2a, 46 pacientes com DH inicial foram randomizados, sendo 12 para o placebo e 34 para receberem 4 injeções

intratecais de IONIS-HTT a intervalos mensais (TABRIZI *et al.*, 2019). A droga foi considerada segura e houve uma redução dose dependente nas concentrações de huntingtina mutante no líquido. Em uma análise post-hoc, também foi observado menor progressão da doença nas subescalas UHDRS, mas é um achado que deve ser interpretado com cautela, pois o desenho do estudo não foi para avaliar progressão da doença. A implicação clínica de reduzir também a huntingtina não mutante é desconhecida (WILD; TABRIZI, 2017).

OAS que hajam seletivamente na huntingtina mutante também vem sendo estudados. Tem-se evitado a sequência de trincas CAG, pois ela está presente em outros genes, o que pode causar efeitos colaterais imprevisíveis. O alvo principal são polimorfismos de nucleotídeos único, que na maioria dos pacientes com DH estão presentes no gene da huntingtina mutante, mas não da huntingtina não mutante. Dois ensaios clínicos de OAS seletivos já foram anunciados (WILD; TABRIZI, 2017).

Um dos grandes desafios da terapia genética é assegurar que a intervenção alcance seu alvo em quantidade adequada. Em geral, é necessária aplicação intratecal para obter o aporte necessário no cérebro, mas alguns estudos demonstram que o efeito desta via de aplicação acaba se concentrando no córtex cerebral (50%), não alcançando devidamente os núcleos da base (15-20%) (KIERBUTZ *et al.*, 2018).

1.2 SISTEMA ENDOCANABINOIDE

1.2.1 Aspectos gerais

A *Cannabis sativa* e a *Cannabis indica* são utilizadas pela humanidade há milênios. Originárias da Ásia, eram usadas para produzir cordas, roupas, papel, óleos de semente, entre outros. Também tinham papel importante em rituais religiosos, medicinais e recreação (DEVINSKY *et al.*, 2014).

Somente em 1964 um dos componentes mais importantes da *Cannabis* foi descoberto, o tetraidrocannabinol (THC). O THC é a principal substância da *Cannabis* a

gerar efeito psicoativo, assim como hiperfagia e um risco aumentado de surtos psicóticos (DEVINSKY *et al.*, 2014).

Outro componente da *Cannabis* descoberto na mesma década de 1960 foi o canabidiol (CBD). Inicialmente se pensou nele como uma substância inativa, sem efeitos medicinais. Foi deixado de lado até a década de 1990. A partir daí, foi constatado que o CBD também tem atuação no sistema nervoso central (SNC), mas não é psicotrópico. Possui efeito central ansiolítico, antidepressivo, sedativo, antiepilético, analgésico, entre outros (DEVINSKY *et al.*, 2014). Em oposição ao THC, o CBD apresenta efeitos antipsicóticos. Possui maiores concentrações na *Cannabis indica* do que na *sativa*. Tem um perfil de efeitos colaterais melhor do que o THC (DEVINSKY *et al.*, 2014).

Até a década de 1980, pensava-se erroneamente que a *Cannabis* tinha ação inespecífica na membrana celular, sem um receptor alvo. Em 1988, foi descoberto o primeiro receptor canabinoide (CB1) (SIMON; COSTA, 2017).

Como havia um receptor, iniciou-se a procura pelos seus ligantes endógenos, os endocanabinoides. Em 1992, foi descoberta a anandamida (AEA). Após alguns anos, foi encontrado um 2º endocanabinoide, o 2-araquidonoilglicerol (2AG). Enzimas relacionadas à produção e degradação dos endocanabinoides foram melhor compreendidas. Com isso, ficou claro que havia um sistema endocanabinoide (SEC), com receptores, mediadores, enzimas e diversas funções no sistema nervoso central, sistema imune, entre outros (SIMON; COSTA, 2017).

O SEC está presente em diferentes regiões do cérebro, sistema imunológico, pâncreas, fígado, intestino, tecido adiposo, entre outros. Relaciona-se com síndrome metabólica, obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, síndromes dolorosas, transtornos psiquiátricos, doenças neurodegenerativas, epilepsia (SIMON; COSTA, 2017).

Um dos marcos de um tratamento farmacológico efetivo baseado no SEC foi o desenvolvimento de um antagonista canabinoide central, chamado rimonabant (SIMON; COSTA, 2017). Seu objetivo era tratar a obesidade. O estudo fase III dessa droga obteve sucesso em diminuir o peso e o apetite. Foi aprovado pela Agência Europeia de

Medicamentos. Contudo, foi constatado piora ou início de distúrbios psiquiátricos, como depressão, ansiedade e suicídio, refletindo a relação do SEC com transtornos mentais e neurológicos. A licença da medicação foi suspensa (SIMON; COSTA, 2017).

1.2.2 Receptores canabinoides

Os 2 receptores canabinoides existentes (CB1 e CB2) são da família dos receptores acoplados à proteína G. São neles que os canabinoides exógenos (THC, CBD) e endógenos (AEA, 2AG) se ligam (HOWLETT; ABOOD, 2017).

A distribuição dos receptores CB1 e CB2 no organismo humano é diversa. Os receptores CB1 são um dos receptores transmembranas mais abundantes do SNC. Apresentam alta concentração nos núcleos da base, hipocampo, córtex e cerebelo. Essa distribuição se correlaciona com seu papel no controle de habilidades motoras, cognitivas, como memória, e analgesia (HOWLETT; ABOOD, 2017).

Os receptores CB1 se localizam principalmente nos terminais axonais pré-sinápticos de neurônios gabaérgicos. Em menor escala, neurônios glutamatérgicos. Os receptores canabinoides atuam inibindo a liberação dos neurotransmissores GABA e glutamato na fenda sináptica (SZABO; SCHLICKER, 2005).

Esse *feedback* negativo evita a ativação excessiva do neurônio, preservando sua integridade. É um mecanismo neuromodulador e neuroprotetor contra danos cerebrais agudos e neuroinflamação. Com isso, o SEC e os agonistas canabinoides são estudados visando neuroproteção em diferentes doenças do SNC (BLÁZQUEZ *et al.*, 2011).

Nos núcleos da base, os receptores CB1 são encontrados em 11 sítios diferentes, localizados no estriado, globo pálido, núcleo subtalâmico e substância negra. Em cada um, há um efeito motor hipercinético ou hipocinético. Deste modo, atua modulando o movimento. Na soma geral, tende a favorecer o efeito hipocinético (SZABO; SCHLICKER, 2005).

Os receptores CB1 também são expressos de maneira quase ubíqua na periferia, mas em menor concentração do que no SNC. Dentre eles, sistema imune, adrenal, coração, pulmão, próstata, útero, ovário, testículo (HOWLETT; ABOOD, 2017).

Os receptores CB2 têm expressão abundante no sistema imune. Macrófagos, leucócitos, baço, tonsilas, timo. A concentração deste receptor no SNC é baixa ou ausente em cérebros saudáveis. Contudo, em doença neurodegenerativas, desmielinizantes e neoplásicas, sua expressão está aumentada. Acredita-se que seja secundário à neuroinflamação e ativação do sistema imune (HOWLETT; ABOOD, 2017).

1.2.3 Mediadores canabinoides

Os 2 mediadores canabinoides endógenos, AEA e 2AG, são lipídeos derivados do ácido araquidônico. São sintetizados por vias paralelas e distintas, no meio intracelular. Não são armazenados em vesículas, mas sim produzidos sob demanda (CASCIO; MARINI, 2015).

A liberação destes mediadores ocorre no ambiente extracelular, mais especificamente na fenda sináptica, onde se ligam aos receptores canabinoides, localizados na membrana celular pré-sináptica de neurônios. Tanto AEA quanto 2AG são agonistas de ambos os receptores CB1 e CB2. O 2AG é rapidamente degradado por uma enzima metabólica pré-sináptica. A AEA possui uma metabolização mais lenta, na região pós-sináptica, por uma hidrolase de ácidos graxos (CASCIO; MARINI, 2015).

Deste modo, o efeito dos mediadores lipídicos canabinoides é primariamente local, parácrino, e não a distância. São mensageiros retrógrados pré-sinápticos (CASCIO; MARINI, 2015).

O nível sérico de endocanabinoides está alterado em vários distúrbios metabólicos, inflamatórios, psiquiátricos e neurológicos (O'SULLIVAN, 2015). Como o SEC age da maneira local, não está claro qual a função, nem qual a origem dos endocanabinoides circulantes no plasma. Em situações como sepse, o aumento dos endocanabinoides pode ser secundário à maior produção pelos macrófagos e plaquetas. Na síndrome metabólica, a elevação pode ser decorrente da proliferação de tecido adiposo (O'SULLIVAN, 2015).

Algumas condições neurológicas e psiquiátricas tiveram os níveis séricos e/ou líquóricos de endocanabinoides analisados. Concentrações plasmáticas de AEA e 2AG em mulheres com depressão estão diminuídas (HILL *et al.*, 2009). Na esquizofrenia, há aumento da AEA no plasma e no líquido (DE MARCHI *et al.*, 2003; KOETHE *et al.*, 2009). O estresse agudo aumentou o nível plasmático de AEA, enquanto o transtorno do estresse pós-traumático reduz (DLUGOS *et al.*, 2012; NEUMEISTER *et al.*, 2013). No autismo, há diminuição da concentração plasmática de AEA (KARHSON *et al.*, 2018).

Em transtornos neurológicos, também há resultados diversos. Na esclerose múltipla, a AEA circulante no sangue periférico está aumentada, tanto na forma surto-remissão, quanto primariamente e secundariamente progressivas (JEAN-GILLES *et al.*, 2009). A AEA líquórica, por sua vez, está reduzida (SARCHIELLI *et al.*, 2008). Em indivíduos com epilepsia de lobo temporal virgens de tratamento, a AEA está reduzida no líquido (MACCARRONE *et al.*, 2010). Em pacientes com migrânea crônica, a AEA também está diminuída no líquido (SARCHIELLI *et al.*, 2007).

Em doenças neurodegenerativas também há estudos, tendo em vista a relação do SEC com neurodegeneração. A doença de Alzheimer tem sido estudada no contexto do SEC desde que foram detectados altos níveis de receptores canabinoides no hipocampo humano normal. Na doença de Alzheimer, não houve alteração dos níveis séricos de endocanabinoides em relação aos controles (KOPPEL *et al.*, 2009).

Na DP, em pacientes virgens de tratamento, há aumento da AEA no líquido cefalorraquidiano, que se normaliza após o tratamento com levodopa. Isso pode refletir um mecanismo compensatório secundário à depleção de dopamina, tendo em vista que o SEC auxilia na modulação dos núcleos da base (PISANI *et al.*, 2005).

Tanto DP quanto DH cursam com degeneração dos núcleos da base. Além disso, ambas possuem evidências de alterações no sistema endocanabinoide, que serão expostas nas 2 seções seguintes (1.2.4 *Sistema endocanabinoide e Doença de Parkinson* e 1.2.5 *Sistema endocanabinoide e doença de Huntington*).

Medicações também podem modular o SEC. Em modelos animais, antidepressivos como escitalopram e imipramina aumentam os níveis de AEA, 2AG e CB1 no cérebro (MATO *et al.*, 2010; SMAGA *et al.*, 2014).

1.2.4 Sistema endocanabinoide e doença de Parkinson

A interação entre canabinoides e dopamina nos núcleos da base é complexa, pois envolve modulação de outros neurotransmissores (GABA, glutamato, opioides etc), bem como a ativação de diferentes receptores (CB1 e CB2). Estudos em modelos experimentais, indicam uma hiperativação do SEC na DP, nos núcleos da base. Isso pode ser relacionado à supressão do movimento, ocasionando bradicinesia (CENTONZE *et al.*, 2017).

O estudo em pacientes com DP virgens de tratamento, que demonstrou AEA aumentado no LCR, corrobora essa hipótese de hiperativação do SEC. Com o início de levodopa nesses pacientes, os níveis de AEA no LCR se normalizaram, o que pode refletir uma diminuição da hiperativação do SEC com o tratamento (PISANI *et al.*, 2005).

Tendo em vista a possível relação da hiperativação do SEC com bradicinesia na DP, alguns estudos em modelos experimentais se propuseram a realizar o tratamento com antagonistas canabinoides, com o objetivo de melhorar a bradicinesia. A droga mais utilizada foi o rimonabant, um antagonista do receptor CB1. Em modelos animais, os resultados foram positivos para melhora dos sintomas de bradicinesia (CENTONZE *et al.*, 2017). Em contraste, um ensaio clínico com 8 pacientes portadores de DP, não mostrou melhora dos sintomas motores após 16 dias de uso de rimonabant (MESNAGE *et al.*, 2004).

No polo oposto, evidências em modelos experimentais sugerem que os agonistas canabinoides poderiam melhorar as discinesias induzidas por levodopa. Contudo, o efeito anti-discinético pode ser secundário a uma inibição motora global, pois a elevação das doses dos agonistas piorou os sintomas motores (CENTONZE *et al.*, 2017).

Os ensaios clínicos com agonistas canabinoides obtiveram resultados mais controversos, provavelmente refletindo ineficácia no tratamento das discinesias. Contudo, as amostras pequenas dos estudos impediram conclusões definitivas (KLUGER *et al.*, 2015). Por outro lado, sintomas como insônia, distônia e psicose demonstraram certa melhora, e precisam ser melhor estudados (KLUGER *et al.*, 2015). Em um estudo com 21 pacientes com DP, o tratamento com CBD por 1 semana demonstrou melhora no escore de qualidade de vida (CRIPPA *et al.*, 2014a). Uma série de casos do mesmo grupo de estudos demonstrou redução substancial na frequência de eventos relacionados ao transtorno do sono REM em 4 pacientes com DP (CRIPPA *et al.*, 2014b).

Tendo em vista seu efeito modulatório, outra função especulada para o SEC é na neuroproteção da DP. O mecanismo de modulação de outros neurotransmissores, diminuição do estresse oxidativo e efeito anti-inflamatório indicam possível neuroproteção. Estudos em modelos animais, com THC, CBD e outros moduladores canabinoides, demonstraram resultados consistentes de neuroproteção. Contudo, em um mecanismo dose-dependente, pois podem gerar toxicidade em doses mais elevadas. Ensaios clínicos ainda não foram realizados (KLUGER *et al.*, 2015).

1.2.5 Sistema endocanabinoide e doença de Huntington

Como a DH possui uma degeneração marcante dos neurônios gabaérgicos estriatais, os receptores CB1 que se ligam à membrana dessas células acabam por diminuir de concentração no estriado. Tanto modelos animais quanto estudos de necropsia *post-mortem* em humanos demonstram esse evento precocemente, ainda na fase prodrômica da DH (FERNÁNDEZ-RUIZ; ROMERO; RAMOS, 2015).

Dois estudos de imagem *in vivo* de pacientes com DH contribuíram para o melhor entendimento do papel do SEC nesta doença. O primeiro foi realizado com tomografia de emissão de pósitrons (PET-CT), em 20 pacientes com a doença manifesta, em diferentes estágios. Foi administrado um ligante do receptor CB1 e constatado diminuição acentuada desse receptor, mesmo em estágios iniciais da doença. As regiões mais afetadas foram córtex difusamente, estriado, ponte e cerebelo. A substância branca foi

relativamente preservada. Não houve diferenças entre estágios iniciais e avançados, indicando a perda precoce e acentuada dos receptores CB1 nessas regiões (VAN LAERE *et al.*, 2010).

O segundo estudo de imagem *in vivo*, mais recente, também foi realizado com PEC-CT e com um ligante do receptor CB1. Os sujeitos de pesquisa foram os portadores prodrômicos, ou seja, os com mutação CAG positiva, mas antes do início dos sintomas motores. A amostra foi de 15 sujeitos portadores, com idade média de 39 anos. Houve diferença da disponibilidade de ligante CB1 em relação aos controles saudáveis, no córtex e no núcleo caudado. Foi detectado também correlação com sintomas comportamentais, mas não cognitivos. Sintomas de depressão, apatia e irritabilidade se correlacionaram inversamente com a disponibilidade do ligante CB1 no córtex pré-frontal e giro do cíngulo. Esse estudo sugere uma influência do SEC nas alterações comportamentais da DH (CECCARINI *et al.*, 2019).

Os receptores CB2, por outro lado, possuem uma expressão aumentada no estriado de indivíduos acometidos pela DH. Ocorre *up-regulation* nas células da glia, secundário à neuroinflamação (FERNÁNDEZ-RUIZ; ROMERO; RAMOS, 2015).

A concentração de AEA e 2AG nos núcleos da base está diminuída na DH manifesta e em modelos animais com comprometimento motor (BLÁZQUEZ *et al.*, 2011). No líquido também há diminuição importante dos endocanabinoides, demonstrado em um único estudo (LÓPEZ-SENDÓN MORENO *et al.*, 2016). Até o presente momento, não há publicações dos níveis séricos de endocanabinoides na DH.

Em modelos animais de DH, estudos demonstraram efeito neuroprotetor do tratamento com moduladores canabinoides, como THC e CBD. Há diminuição da atrofia estriatal e da progressão dos sintomas (VALDEOLIVAS *et al.*, 2017). Contudo, outros estudos não obtiveram benefício, e em alguns houve até exacerbação da neurotoxicidade (KLUGER *et al.*, 2015).

Em humanos, as pesquisas de tratamento com moduladores canabinoides focaram nos sintomas dos pacientes com DH, como coreia e distonia. Um único estudo

avaliou biomarcadores no líquido antes e após o tratamento com nabiximols, que possui distribuição equimolar de THC e CBD. A seguir, um resumo de cada estudo.

1° estudo: 700mg/dia de CBD por 6 semanas, duplo-cego, randomizado *cross-over*, 15 indivíduos com DH manifesto em diferentes estágios. Desfecho primário: coreia, sem melhora. Desfecho secundário: outras alterações motoras, sem melhora (CONSROE *et al.*, 1991).

2° estudo: 1 a 2mg de nabilona, um análogo do THC, por 5 semanas, duplo-cego, randomizado *cross-over*, 44 indivíduos com DH manifesto em diferentes estágios. Desfecho primário: UHDRS escore motor, sem melhora. Desfecho secundário: coreia, teste cognitivo, escore comportamental. Houve melhora na pontuação da coreia e do inventário neuropsiquiátrico (CURTIS *et al.*, 2009).

3° estudo: Nabiximols (Sativex®) 12 sprays/dia por 12 semanas, duplo-cego, randomizado *cross-over*, 25 indivíduos com DH manifesto em diferentes estágios. Desfecho primário: positivo (tolerabilidade e segurança). Desfechos secundários: coreia, distonia, escores motor, cognitivo, comportamental e funcional da UHDRS, biomarcadores no líquido. Não houve melhora em nenhum desfecho secundário (LÓPEZ-SENDÓN MORENO *et al.*, 2016).

4° estudo: diferentes agonistas canabinoides, *follow-up* de duração variável (4 dias a 9 meses), não controlado, não randomizado, 7 indivíduos com DH de início abaixo dos 25 anos e distonia proeminente, casos avançados. Desfecho primário: distonia, houve melhora (SAFT *et al.*, 2018).

A resposta ausente ou modesta em ensaios clínicos pode ser decorrente da diminuição acentuada de receptores CB1 no estriado, na fase manifesta da DH. Deste modo, não haveria receptores suficientes para que a medicação pudesse exercer o seu efeito, seja sintomático ou neuroprotetor (LÓPEZ-SENDÓN MORENO *et al.*, 2016).

2. JUSTIFICATIVA PARA O ESTUDO

A caracterização clínica de pacientes portadores de DH em um centro brasileiro de referência para distúrbios do movimento é importante. Permite determinar as qualidades de uma coorte em nosso centro, o que serve para planejar ações de ensino, assistência e pesquisa.

Apesar da DH ser uma doença bastante estudada na literatura internacional, ainda existem lacunas importantes, especialmente no que tange à avaliação clínica dos pacientes. O uso de escalas cognitivas e psiquiátricas é importante na DH, tendo em vista as profundas alterações da DH nesses 2 domínios. Em um estudo de revisão de escalas cognitivas já utilizadas na DH, dividiu-se suas indicações em “listada”, “sugerida” e “recomendada”, com base em evidência científica e dados psicométricos (MESTRE *et al.*, 2018). Nenhuma escala preencheu os critérios para “recomendada”. Algumas escalas interessantes também nunca foram avaliadas em pacientes com DH. Por exemplo, até o presente momento, o teste Hayling nunca foi utilizado na DH. Por avaliar a função executiva, pode ser uma ferramenta importante nesta doença, seja no CCL ou na demência.

Em relação ao comprometimento psiquiátrico, também foi feita uma análise das escalas comportamentais já utilizadas na DH (MESTRE *et al.*, 2016). A conclusão do estudo foi de que são necessárias mais escalas psiquiátricas validadas especificamente para DH, pois ainda há muitas lacunas na avaliação comportamental desses pacientes. A *Mini International Neuropsychiatric Interview* (MINI), foi utilizada apenas em pacientes com DH prodrômico (DURR *et al.*, 2009). Por ser tratar de uma escala extensamente empregada no meio psiquiátrico, com critérios objetivos, que permitem uma ampla gama de diagnósticos psiquiátricos, pode ser muito útil na DH.

Além da caracterização clínica de uma amostra de pacientes com DH, outra questão que nos interessa é o envolvimento dos canabinoides na fisiopatologia da neurodegeneração e dos sintomas associados à doença. Como discutimos, uma série de estudos evidenciam o comprometimento sistêmico da DH, inclusive com diversas alterações hematológicas (VAN DER BURG; BJÖRKQVIST; BRUNDIN, 2009; CIAMMOLA *et al.*, 2009). Contudo, essas alterações ainda não foram avaliadas sob a

perspectiva do SEC, como a dosagem sérica de AEA e 2AG em pacientes com DH. Em outras palavras, as profundas e precoces alterações dos receptores e mediadores canabinoides na DH, detectadas no SNC, ainda não foram estudadas em órgãos periféricos (FERNÁNDEZ-RUIZ; ROMERO; RAMOS, 2015). Dessa forma, parece ser interessante avaliar o funcionamento ou o estado funcional do SEC em pacientes com DH.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

- Caracterizar clinicamente uma amostra de pacientes com DH acompanhados em um ambulatório especializado em distúrbios do movimento;
- Verificar se as dosagens séricas dos endocanabinoides (ANA e 2AG) estão alteradas em pacientes com DH.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar o número e o estado clínico atual de pacientes acompanhados com diagnóstico de DH em uma amostra de um centro especializado brasileiro;
- Determinar o grau de comprometimento motor, cognitivo e funcional dos pacientes acompanhados em nosso ambulatório;
- Verificar se existe relação entre perda funcional e outros parâmetros clínicos (motor, cognitivo e psiquiátrico);
- Verificar a aplicabilidade do teste Hayling e da MINI na DH;
- Verificar se existe relação entre o nível de endocanabinoides no sangue com sintomas específicos, motores, cognitivos e comportamentais na DH;
- Verificar se existe relação entre o nível de endocanabinoides no sangue e o estágio funcional de DH.

4. MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Foi realizado um estudo em 2 etapas. A primeira se tratou de uma avaliação clínica observacional, descritiva e transversal, com voluntários portadores de DH. Os sujeitos de pesquisa com DH foram avaliados com escalas motoras, cognitivas, comportamentais e funcionais, para descrição clínica. Um estudo de prevalência.

A segunda avaliação foi em relação às dosagens séricas de endocanabinoides entre voluntários saudáveis e voluntários com DH. Também se tratou de uma avaliação observacional, porém sob a forma de estudo de caso-controle. Os voluntários saudáveis foram avaliados com escalas cognitivas, comportamentais, anamnese e exame neurológico, visando excluir algumas doenças, conforme os critérios de exclusão na página seguinte.

Em estudos de caso-controle, o desfecho, ou variável dependente, é a presença da doença. No caso, a presença da Doença de Huntington. A variável independente foi o nível sérico de endocanabinoides.

Foram consideradas variáveis confundidoras a idade, o sexo e o Índice de Massa Corporal (IMC). Deste modo, esses 3 atributos foram pareados entre grupo caso e grupo controle.

Os sujeitos de pesquisa com DH acompanhavam no ambulatório de distúrbios do movimento do HCRP. Todos possuíam diagnóstico genético de DH, realizado pelo laboratório de neurologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. O recrutamento foi consecutivo, em ordem de aparecimento no ambulatório, de acordo com a data da consulta de cada um. Todos os pacientes do ambulatório foram convidados a participar, porém 6 recusaram o convite, pois a consulta se prolongaria.

Foram incluídos pacientes com preDH, definidos como aqueles com um nível de convicção diagnóstica clínica abaixo de 4 pontos na UHDRS, conforme a **Tabela 3** da seção 1.1.6.1. Esses pacientes podem apresentar alterações motoras sutis, assim como

alterações psiquiátricas mais pronunciadas. Todos os pacientes com preDH possuíam teste genético positivo para DH.

Os voluntários saudáveis foram recrutados entre a população de Ribeirão Preto e cidades vizinhas. Foi feito o convite com a ajuda da assessoria de comunicação do HCRP. Foi divulgado um panfleto eletrônico na página de uma mídia social oficial do HCRP e em listas de e-mails.

4.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos no estudo, indivíduos que apresentassem os seguintes critérios:

- Suspeita clínica de DH por um neurologista especializado em distúrbios do movimento;
- Confirmação genética da existência da mutação responsável pela doença;
- Idade maior que 18 anos.

Em relação aos voluntários, os critérios de inclusão foram os seguintes:

- Sujeito autodeclarado saudável e sem risco aparente para DH;
- Idade maior que 18 anos.

4.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo, indivíduos que apresentassem algum dos seguintes critérios:

- Diagnóstico de câncer;
- Presença de doença clínica grave;
- Diagnóstico de diabetes descompensado;
- Presença de outra doença neurológica significativa, como Esclerose Múltipla;

- Evidência de esquizofrenia¹;
- Diagnóstico de transtorno de ansiedade ou depressão maior atuais¹;
- Evidência de inflamação local ou sistêmica;
- Vigência de um quadro infeccioso;
- Gravidez;
- Uso atual de drogas ilícitas como maconha, crack, cocaína;
- Ingestão de álcool nas últimas 24h.

4.4 AVALIAÇÃO CLÍNICA

A avaliação clínica dos sujeitos de pesquisa com DH foi realizada no mesmo dia do seu atendimento no ambulatório. Ocorreu juntamente com a consulta habitual. A avaliação clínica foi feita por um médico neurologista com treinamento em distúrbios do movimento, e complementada pela avaliação de uma neuropsicóloga. Foram coletados dados demográficos e clínicos dos pacientes. Foram aplicadas escalas para avaliação motora, comportamental, cognitiva e funcional. Deste modo, foi traçado um perfil clínico dos pacientes com DH do ambulatório de distúrbios do movimento do HCRP.

Os voluntários saudáveis foram submetidos à história clínica, exame neurológico, questionário sobre dados demográficos, MEEM para exclusão de comprometimento cognitivo, MINI para exclusão de transtornos de ansiedade, depressão e psicose.

Foram utilizadas as escalas de avaliação, conforme detalhado abaixo. As escalas UHDRS, MEEM, EHAD, INP e TED foram aplicadas pelo neurologista responsável pelo estudo. As demais foram aplicadas pela neuropsicóloga do serviço de distúrbios do movimento.

¹ O diagnóstico dos transtornos psiquiátricos foram critérios de exclusão apenas para voluntários saudáveis. Em sujeitos de pesquisa com DH, foram considerados como associados à doença de base.

1) Escala unificada para avaliação da doença de Huntington (*Unified Huntington's Disease Rating Scale – UHDRS*).

Escala desenvolvida em 1996 para avaliar as manifestações clínicas principais da DH assim como a capacidade funcional dos pacientes. Ela avalia: função motora, função cognitiva, comportamento e capacidade funcional. O escore motor varia de 0, sem sinais, a 124 pontos, alterações acentuadas e bilaterais. A UHDRS tem validade reconhecida para avaliar indivíduos com DH (HUNTINGTON STUDY GROUP, 1996). Já foi validada para o Brasil (TUMAS *et al.*, 2004).

Inserida no TMS, está a TMC, que é o instrumento que avalia a gravidade da coreia na UHDRS. A TMC avalia 7 segmentos do corpo (membros superiores e inferiores, tronco, face e buco-oro-lingual), com pontuação de 0 a 4 em cada item. O escore máximo é de 28 pontos, e quanto maior a pontuação maior o grau de coreia.

No estudo PREDICT-HD foi definido, com base na UHDRS, que os pacientes que apresentassem 4 pontos no nível de convicção diagnóstica eram classificados como DH manifesta, enquanto aqueles que obtivessem menos do que 4 pontos, entravam como preDH (PREDICT-HD, 2013). A **Tabela 3** da seção 1.1.6.1 detalha os níveis de convicção diagnóstica.

A avaliação da independência e perda funcional também foi extraída dos resultados da UHDRS. Os subitens I, II e III, que correspondem à Avaliação do Estado Funcional (AEF), Escala de Independência (EI) e Capacidade Funcional Total (CFT), respectivamente. O valor máximo de cada um é 25 pontos, 100% e 13 pontos, respectivamente. Para os 3, quanto menor o valor, pior o desempenho funcional. O estadiamento funcional de Shoulson-Fahn foi calculado a partir da pontuação na CFT, descrito na **seção 1.1.6.6 Escalas clínicas** (GHOSH; TABRIZI, 2018). Tanto as atividades básicas quanto as atividades instrumentais de vida diária são avaliadas nessa escala. Como o estadiamento de Shoulson-Fahn é destinado para DH manifesta, os 5 pacientes com preDH foram excluídos dos cálculos.

2) Mini exame do estado mental (MEEM).

O MEEM é a escala cognitiva global mais utilizada em todo o mundo. Ela avalia orientação, atenção, memória, linguagem e função viso-espacial. Sua pontuação varia entre 0 a 30, e quanto maior o escore melhor desempenho cognitivo. Já foi utilizada em diversos estudos para avaliar pacientes com DH. Possui dados normativos para o Brasil (BRUCKI *et al.*, 2003).

Foi calculado o escore Z do MEEM a partir dos dados normativos, disponíveis apenas para a escolaridade, pois a idade não parece exercer grande influência nesse teste (BRUCKI *et al.*, 2003).

3) Bateria de avaliação frontal (*Frontal Assessment Battery* – FAB).

Escala breve que avalia funções frontais não analisadas no MEEM. É validada para avaliar pacientes com DH. Possui validação e posterior normatização para o Brasil (TUMAS *et al.*, 2009; CARAMELLI *et al.*, 2012). Também foi calculado o escore Z a partir desses dados normativos, que são para a escolaridade.

4) Teste de fluência verbal FAS.

Trata-se de teste de fluência verbal léxica realizado com 3 letras (F,A,S) e que faz parte da bateria cognitiva da UHDRS. São 60 segundos para cada letra. Possui validação e normatização para o Brasil (CARAMELLI *et al.*, 2009). Também foi calculado o escore Z a partir de seus dados normativos, apenas para nível educacional, visto que a idade não pareceu influenciar na normatização brasileira.

5) Teste modalidade símbolo-dígito (*Symbol digit modalities test* – SDMT).

Teste cognitivo que avalia atenção, concentração e velocidade de processamento, e faz parte da bateria cognitiva da UHDRS. O indivíduo testado tem 90 segundos para associar símbolos a determinados números. O SDMT escrito não possui dados normativos para a população brasileira.

6) Teste de Stroop (*Stroop interference test*).

Teste cognitivo que avalia a velocidade de processamento, atenção seletiva e automaticidade, e faz parte da bateria cognitiva da UHDRS. O indivíduo tem 45 segundos em cada uma das 3 partes do teste. Na 1ª e 2ª partes, enumera as cores

e lê as cores escritas, respectivamente. Na 3ª parte, as palavras das cores são impressas com cores diferentes, para avaliar o controle inibitório. O teste de Stroop versão Golden não possui dados normativos para a população brasileira.

7) Teste Hayling.

Este teste é inteiramente verbal, o que é uma vantagem para avaliar indivíduos com alterações motoras, como na DH. Tem como objetivo completar uma sentença com uma palavra. O tempo é cronometrado. Na parte A, a palavra tem de ter sentido em relação à sentença. Na parte B, a palavra não pode ter relação com a frase. Cada parte possui 15 sentenças. O número de erros da parte A é avaliado apenas quantitativamente (cada erro vale 1 ponto, no máximo de 15 pontos, ou seja, 15 sentenças completadas de maneira errada). O número de erros da parte B é calculado quantitativamente e qualitativamente. A avaliação qualitativa confere uma pontuação ao tipo de erro, com o máximo de 45 pontos. O cálculo é feito de acordo com o grau de relação semântica da resposta com a sentença, variando de 0 a 3 pontos para cada sentença.

Avalia a função executiva, principalmente velocidade de processamento, controle inibitório, planejamento, flexibilidade cognitiva. Possui validação e dados normativos para o Brasil (ZIMMERMANN *et al.*, 2017). O escore Z foi calculado para idade e escolaridade. Houve 3 sujeitos de pesquisa com menos de 4 anos de estudo que completaram o teste Hayling. Eles foram excluídos da análise estatística, pois não há dados normativos para essa faixa de escolaridade.

8) Escala de avaliação de demência de Mattis (*Mattis Dementia Rating Scale* – MDRS).

A MDRS é um instrumento que avalia vários domínios cognitivos e o desempenho global. É dividida em 5 subescalas: atenção, iniciação/perseveração, construção, conceituação e memória. A pontuação máxima é de 144 pontos, e quanto mais baixa, pior o desempenho cognitivo. Pode ser utilizado em pacientes de baixa escolaridade. Poucos estudos na DH. Possui validação e dados normativos para o Brasil (FOSS *et al.*, 2013).

O escore Z foi calculado para idade e nível educacional. Contudo, não há dados normativos para idade abaixo de 50 anos na população brasileira, então os

sujeitos de pesquisa abaixo dessa idade foram incluídos na faixa de 50 a 59 anos (FOSS *et al.*, 2013). Essa adaptação foi feita, levando-se em conta que o declínio cognitivo mais acentuado na população geral ocorre mais comumente a partir dos 60 anos.

9) Escala Hospitalar de ansiedade e depressão (*Hospital Anxiety and Depression Scale* - EHAD).

A EHAD foi desenvolvida para identificar sintomas de ansiedade e de depressão em pacientes de hospitais clínicos não-psiquiátricos, sendo posteriormente utilizada em outros tipos de pacientes, em pacientes não-internados, e já foi utilizada em pacientes com DH. Boa acurácia mesmo para indivíduos de baixa escolaridade. Possui validação da versão brasileira (BOTEGA *et al.*, 1995). As respostas podem ser fornecidas pelos pacientes, com o auxílio dos acompanhantes.

10) Mini entrevista neuropsiquiátrica internacional 5.0.0 (*Mini International Neuropsychiatric Interview* - MINI).

Escala amplamente utilizada no mundo para diagnósticos psiquiátricos qualitativos. Não fornece valores quantitativos. Já foi utilizada em estudo de pacientes com DH pré-clínico (DURR *et al.*, 2009). Trata-se de um instrumento muito útil para gerar diagnósticos psiquiátricos com rapidez e acurácia, com perguntas objetivas. Abrange uma ampla variedade de diagnósticos psiquiátricos, como transtorno depressivo atual e passado, transtorno de ansiedade generalizado, psicoses, transtorno do pânico, entre outros. O próprio paciente deve responder às perguntas, sem ajuda dos acompanhantes.

11) Inventário neuropsiquiátrico (INP).

O INP avalia múltiplos domínios comportamentais, como depressão, ansiedade, irritabilidade e apatia, tanto em frequência quanto em gravidade. Sua pontuação pode ser individual, para cada domínio comportamental, ou total. Há muitos estudos com DH. Possui validação da versão brasileira (CAMOZZATO *et al.*, 2015). As respostas são fornecidas pelo acompanhante, sem participação do paciente.

12) Teste de entrelaçamento dos dedos (*Interlocking finger test* – TED).

O TED é uma escala breve que testa os domínios cognitivos de percepção visual e construção visual, a partir da imitação de gestos complexos. O examinador se posiciona à frente do paciente para a apresentação das posições manuais, e demonstra as posições até que o paciente julgue ter reproduzido perfeitamente cada uma delas. A capacidade de reproduzir cada uma das 4 posições tem o valor de 1 ponto para cada uma delas. O escore varia de 0 a 4 pontos. As figuras são consideradas adequadamente reproduzidas quando o entrelaçamento dos dedos é correto, independente da posição dos demais dedos ou da postura dos braços. A **Figura 10** abaixo demonstra as posições. Essa escala já foi utilizada pela equipe de distúrbios do movimento do HCRP, comparando pacientes com doença de Parkinson e controles saudáveis (TUMAS *et al*, 2016). Os dados referentes aos controles saudáveis desse estudo foram utilizados para comparação com os pacientes com DH.

Figura 10 – Posições a serem imitadas pelo paciente no teste de entrelaçamento dos dedos.

13) Escore Z composto

Foram calculados escores Z compostos como critério para demência em pacientes com perda funcional. Foram 2 médias ponderadas:

- 80% da média do escore Z da MDRS somado a 20% da média do escore Z do tempo da Parte A do teste Hayling;
- 80% da média do escore Z da MDRS somado a 20% da média do escore Z da fluência verbal FAS.

O segundo componente (tempo da Parte A do teste Hayling) foi inserido para que se avaliasse melhor a velocidade de processamento, que é um domínio cognitivo precocemente acometido na DH. A MDRS foi utilizada por ser uma escala de avaliação cognitiva global, já utilizada para DH em outros estudos (PEAVY *et al.*, 2010)

4.5 COLETA DE SANGUE E ANÁLISE LABORATORIAL

A coleta de sangue venoso periférico foi feita em veia antecubital, realizada por enfermeira experiente. Ocorreu de acordo com o seguinte protocolo:

- Jejum de 8 a 12h;
- Coleta pela manhã, entre 8 e 10h da manhã;
- Orientação para não realizar exercícios físicos moderados a intensos e nem beber álcool nas 24h precedentes à coleta;
- As amostras foram centrifugadas e congeladas, para posterior análise.

Foram mensuradas as seguintes substâncias ou exames:

- Endocanabinoides (AEA e 2AG);
- Hemograma completo;
- Proteína C reativa (PCR);
- Glicemia de jejum;
- TGO e TGP;
- Lipidograma.

A coleta de sangue foi realizada em jejum em virtude da glicemia e do lipidograma, mas também com o objetivo de evitar a influência de diferentes dietas nos níveis de endocanabinoides (DI MARZO *et al.*, 2006 e 2009).

O horário fixo entre 8 e 10h da manhã foi estipulado em virtude da variação dos endocanabinoides ao longo do dia, o que confere um ritmo circadiano a essas substâncias (HILLARD *et al.*, 2010).

A orientação para não realizar exercícios físicos e nem beber álcool nas 24h precedentes à coleta foi feita com base em estudos, que demonstraram a alteração aguda dos níveis plasmáticos de endocanabinoides após essas atividades (FEUERHECKER *et al.*, 2012; RAICHLEN *et al.*, 2013).

Exames laboratoriais gerais foram realizados para excluir condições clínicas que poderiam ser fatores de exclusão do estudo, como infecção, inflamação generalizada, diabetes, hepatite, entre outros.

A análise laboratorial de AEA e 2AG foi realizada por cromatografia bidimensional acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS – *ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry*), no Laboratório da Prof.^a Dr.^a Maria Eugênia Queiroz Nassur, docente da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Para a precipitação das proteínas do plasma, foram adicionados 500 µl de acetonitrila a 250 µl de plasma em um tubo Eppendorf. Esse tubo foi centrifugado por 15 minutos a 9000 rpm e 15°C. O sobrenadante de 500 microlitros foi coletado e reconstituído em 150 µl de solução água:acetonitrila. Após, 100 µl desse extrato foram injetados no sistema UHPLC-MS/MS, no modo *column switching* (QUEIROZ *et al.*, 2017).

A determinação dos níveis plasmáticos de AEA e 2AG foi realizada no sistema cromatográfico UHPLC MS/MS bidimensional (Waters Corporation, Milford, MA, EUA). Os analitos foram pré-concentrados na coluna RP-8 ADS (25mm x 4mm x 25 micrometros – Merck®, EUA) e os componentes endógenos da matriz foram eluídos para o descarte com uma fase móvel fraca.

A separação cromatográfica dos analitos foi realizada em fase reversa, com eluição no modo isocrático. Para as determinações quantitativas UHPLC-MS/MS foi utilizado a padronização interna, empregando padrões isotópicos (AEA d₄ e 2AG d₅).

As análises MS/MS foram realizadas em sistema de espectrometria de massas em tandem – triplo quadrupolo Xevo® TQ-D (Waters, Milford, MA, EUA). A ionização por eletrospray (ESI) foi avaliada no modo negativo e positivo. As análises foram realizadas no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM), em razão da alta seletividade e detectabilidade. Para a coleta de dados foi utilizado o sistema *MassLynx* 4.1. Para o processamento dos dados e quantificação, o *software QuanLynx*.

O método de *column switching* UHPLC-MS/MS foi validado em estudo prévio (QUEIROZ *et al.*, 2017). O limite de detecção desse método é de 0,1 ng/ml para AEA e 0,04 ng/ml para 2AG. A acurácia e precisão, calculados a partir do desvio-padrão relativo e do coeficiente de variação, mantiveram-se abaixo de 20% nas diferentes concentrações de AEA e 2AG. O limite de 20% é o limite aceitável de precisão e acurácia. Contudo, em

concentrações mais baixas, especialmente AEA entre 0,1 e 0,3 ng/ml e 2AG entre 0,04 a 0,12 ng/ml, a porcentagem ficou entre 15 e 20%, que é o limite superior aceitável. Isso indica maior variabilidade em valores baixos (QUEIROZ *et al.*, 2017).

O método de análise foi duplo-cego. Cada amostra foi dosada em triplicata, com o valor final sendo a média aritmética dos 3 resultados.

4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o auxílio dos programas *Minitab* v. 16.1 e *SPSS Statistics* v. 16.0. Foram considerados estatisticamente significantes os resultados cujo p-valor fossem abaixo de 0,05. Foi verificada a normalidade em todas as amostras, utilizando-se os testes de Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov.

Para a comparação dos níveis plasmáticos de endocanabinoides entre voluntários saudáveis e pacientes com DH, um dos objetivos gerais, foi aplicado o teste t para 2 amostras independentes ou o teste de Mann-Whitney. O primeiro foi utilizado quando havia normalidade, enquanto o segundo foi utilizado quando não havia distribuição normal. Esses mesmos testes foram utilizados para verificar se idade e IMC estavam adequadamente pareados entre o grupo caso e o grupo controle. Para analisar o pareamento dos sexos, foi utilizado o teste de 2 proporções.

Para correlações, foram utilizados os testes de Pearson, Spearman ou de regressão, conforme apropriado. As correlações foram realizadas principalmente para os objetivos específicos, como verificar se havia relação entre níveis séricos de endocanabinoides e variáveis clínicas medidas por escalas, como graus de apatia e perda funcional.

Para diferença estatística em modelos utilizando o estadiamento de Shoulson-Fahn, foi utilizado regressão logística, ANOVA ou Kruskal-Wallis.

4.7 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP – Universidade de São Paulo. Parecer número 1.828.036 de 21 de novembro de 2016. Registro na Plataforma Brasil/CAAE 59355416.3.0000.5440. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi lido e explicado para todos os sujeitos de pesquisa. Todas as informações coletadas foram mantidas em sigilo, em relação à identificação dos participantes.

5. RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA E DEMOGRÁFICA

Foram identificados 55 indivíduos com diagnóstico de DH e em atendimento no ambulatório de distúrbios do movimento do HCRP entre novembro de 2016 e abril de 2018. Todos foram convidados a participar do estudo e 6 pacientes recusaram o convite. Outros 2 pacientes foram excluídos posteriormente, porque não foi possível aplicar as escalas por completo e nem realizar a coleta de sangue, por questões logísticas. Foram então incluídos nesse estudo 47 pacientes com DH, sendo 42 pacientes com DH manifesta e 5 pacientes com preDH.

Trinta e dois voluntários se apresentaram para participar do estudo após convocação e divulgação nos meios locais. Dois deles foram excluídos pela presença de sintomas depressivos significativos. Assim, para o estudo, foram incluídos 30 voluntários saudáveis, e todos foram avaliados com testes clínicos e coleta de sangue. A **Figura 11** abaixo resume esses resultados.

Figura 11 – Diagrama de fluxo dos sujeitos de pesquisa admitidos no estudo.

As características demográficas e exames laboratoriais dos participantes desse estudo estão apresentadas na **Tabela 6**. Os grupos de pacientes com DH manifesta, com preDH e voluntários saudáveis, eram constituídos predominantemente por indivíduos do gênero feminino. Não houve diferença estatística significativa de sexo e IMC entre os 3 grupos. Houve diferença estatística significativa entre os grupos quanto à idade, que foi menor no grupo de pacientes com preDH, e quanto à escolaridade, que foi menor no

grupo com DH manifesta. O IMC foi numericamente maior nos pacientes com preDH, mas não houve relevância estatística. Os triglicerídeos se apresentaram numericamente elevados na DH manifesta em relação aos controles, mas sem diferença estatística.

Tabela 6 – Média dos dados demográficos e exames laboratoriais de preDH, DH manifesta e controles.

	DH pré-manifesta	DH manifesta	Voluntários saudáveis	p
n	5	42	30	-
Sexo feminino (%)	80%	59,5	56,6	0,29, 0,66
Idade (anos)	33,0 (27-43)	50,8 (36-73)	46,8 (30-64)	0,005*, 0,37
Escolaridade (anos)	9,8 (8-11)	6,8 (0-16)	12,6 (4-20)	0,01*, <0,001*
IMC (kg/m²)	25,89 (22,1-30)	23,65 (15,9-36,7)	25,6 (20,8-33,9)	0,18, 0,057
Glicemia de jejum (mg/dl)	80,8 (64-94)	90,5 (55-342)	88,5 (70-115)	0,19, 0,13
Proteína C reativa (mg/dl)	1,39 (0,03-4,28)	0,51 (0,03-3,82)	0,19 (0,03-0,74)	0,77, 0,42
Colesterol total (mg/dl)	178,2 (154-211)	194,7 (114-261)	200,2 (112-262)	0,17, 0,51
Colesterol HDL (mg/dl)	55,0 (49-64)	46,5 (27-69)	50,4 (29-75)	0,29, 0,09
Colesterol LDL (mg/dl)	108,8 (88-135)	121,7 (56-181)	128,9 (55-172)	0,12, 0,36
Triglicerídeos (mg/dl)	73,2 (61-99)	126,9 (39-386)	112,7 (27-290)	0,19, 0,36
TGP (U/L)	18,6 (9-34)	19,4 (5-85)	22,2 (4-63)	0,52, 0,06

*Legenda: média (valores mínimos e máximos), *p<0,05. O 1º valor de p representa preDH em relação aos controles. O 2º valor de p representa DH manifesta em relação aos controles. IMC: índice de massa corporal, TGP: transaminase glutâmica pirúvica, HDL: lipoproteína da alta densidade, LDL: lipoproteína de baixa densidade.*

Testes estatísticos: teste t/Mann-Whitney para idade, escolaridade, IMC e exames laboratoriais; teste z para 2 proporções para o sexo.

Os medicamentos utilizados para tratamento dos sintomas motores e psiquiátricos foram principalmente antidepressivos, antipsicóticos, antiepilépticos e benzodiazepínicos. A **Tabela 7** ilustra esses dados para DH manifesta. Dentre os inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS), o mais utilizado foi a sertralina, em uso por 20 pacientes (47%). Em relação aos 5 pacientes com preDH, apenas 1 utilizava medicação (fluoxetina).

Tabela 7 – Percentual de pacientes com DH manifesta em uso de medicações para o tratamento sintomático da DH.

		DH Manifesta (%)
Total		42 (100)
Antidepressivos	ISRS	27 (64)
	ADT	5 (12)
	IRSN	1 (2)
	Nenhum	10 (23)
Antipsicóticos	Haloperidol	22 (52)
	Risperidona	11 (26)
	Outros	4 (9)
	Nenhum	8 (19)
Antiepilépticos	Valproato	8 (19)
Benzodiazepínicos	Clonazepam	8 (19)
	Diazepam	1 (2)
Anticolinérgicos	Amantadina	2 (4)
<i>Legenda: ISRS: inibidor seletivo da recaptação de serotonina, ADT: antidepressivo tricíclico, IRSN: inibidor da receptação de serotonina e noradrenalina.</i>		

5.1.1 Caracterização clínica

Em relação às escalas clínicas aplicadas, a **Tabela 8** na página seguinte revela o perfil clínico dos pacientes com DH. O início dos sintomas motores, relatado pelos pacientes, pelos familiares ou em prontuários, é em média de 93,7 meses na DH manifesta, variando entre 12 e 217 meses. A pontuação média desse grupo na escala motora da UHDRS (TMS) foi de 47,5, variando entre 16 e 91. Um componente importante do TMS é a subescala que avalia a gravidade da coreia (TMC), que varia de 0 a 28 pontos.

Os pacientes com DH manifesta apresentaram um escore médio na TMC de 9,6, variando entre 2 e 21. A paciente com escore igual a 21 apresentava coreia grave, refratária ao tratamento farmacológico.

Tabela 8 – Perfil clínico e comportamental de pacientes com preDH e DH manifesta, segundo a escala UHDRS e outras escalas comportamentais, com a média dos valores obtidos.

	Pacientes com preDH	Pacientes com DH manifesta	Pacientes com DH (total)	p
n amostral	5	42	47	-
Início dos sintomas motores (meses)	-	93,7 (12-217)	-	-
UHDRS	Média	Média	Média	p
AEF (0-25 pts)*	25 (25-25)	13,6 (0-25)	14,8 (0-25)	<0,001
EI (10-100%)*	100 (100-100)	67,8 (0-100)	72,5 (0-100)	<0,001
CFT (0-13 pts)*	13 (13-13)	6,3 (0-13)	7 (0-13)	<0,001
TMS (0-124 pts)*	3,4 (0-7)	47,5 (16-91)	42,8 (0-91)	<0,001
TMC (0-28 pts)*	1,8 (0-5)	9,6 (2-21)	8,8 (0-21)	<0,001
ESCALAS COMPORTAMENTAIS				
INP (0-120 pts)*	4 (0-11)	15,5 (2-56)	14,2 (0-56)	0,001
EHAD (0-42 pts)	5 (0-13)	10,3 (0-30)	3,9 (0-30)	0,08

*Legenda: média (valores mínimos e máximos), *p<0,05 para comparação entre preDH e DH manifesta.*

AEF: avaliação do estado funcional, EI: escala de independência, CFT: capacidade funcional total, TMS: escore motor total, TMC: coreia máxima total, INP: inventário neuropsiquiátrico, EHAD: escala hospitalar de ansiedade e depressão

Teste estatísticos: teste t, teste de Mann-Whitney.

Como seria esperado, o grupo preDH apresentou melhor desempenho nas escalas motoras, funcionais, comportamentais e cognitivas que o grupo com DH manifesta. Da mesma forma, o grupo preDH obteve pontuação máxima nas 3 escalas de funcionalidade (AEF, EI e CFT), ou seja, não apresentaram perda funcional decorrente da doença. Como também seria esperado, os pacientes com preDH apresentaram pontuação inferior ao grupo com DH manifesta no TMS e na TMC.

Quanto às escalas de avaliação comportamental, INP e EHAD, em geral, os pacientes com DH manifesta apresentaram pontuações maiores que os com preDH.

Entretanto, a diferença só foi significativa para o INP. Nessa escala, os pacientes com preDH tiveram escores muito inferiores aos dos pacientes com DH manifesta. Já os escores dos pacientes na escala EHAD foram inferiores no grupo de pacientes com preDH, mas sem diferença estatística com o grupo de pacientes com DH manifesta.

Os subitens do INP no grupo preDH que mais se apresentaram alterados foram ansiedade, irritabilidade e agressividade, respectivamente. Os subitens do INP no grupo DH manifesta que mais se apresentaram alterados foram ansiedade, apatia e irritabilidade, respectivamente.

5.1.2 Estadiamento funcional

O estadiamento de Shoulson-Fahn permitiu detalhar a distribuição da perda funcional dos pacientes com DH. A **Tabela 9** apresenta esses dados. O estágio II, de leve a moderado, foi o estágio com a maior proporção de pacientes (28%), enquanto o estágio V teve a menor concentração de pacientes (7%). Após o estágio II, o de número III, moderado, correspondeu a 26% dos pacientes. Os estágios I e III obtiveram a mesma quantidade de pacientes, totalizando 8 em cada um.

Tabela 9 – Estadiamento funcional de Shoulson-Fahn.

Estágio	Quantidade (n = 42)
I	8 (19%)
II	12 (28%)
III	8 (19%)
IV	11 (26%)
V	3 (7%)

5.1.3 Exame comportamental

A MINI foi aplicada em 32 dos 47 pacientes. Os 15 que ficaram de fora não foram entrevistados com a MINI, principalmente em virtude de doença avançada (incapacidade de responder ou compreender, tendo em vista se tratar de uma escala mais elaborada). A **Tabela 10** indica os diagnósticos psiquiátricos gerados pela MINI. Dos 16 diagnósticos

de episódio depressivo maior, 12 foram passados e 4 foram atuais. Os 7 casos de transtorno de ansiedade ou pânico referem-se apenas a episódios nos últimos 6 meses. Em relação aos 5 pacientes com preDH, a MINI diagnosticou 3 episódios depressivos passados, 1 episódio psicótico passado, 1 episódio hipomaníaco passado e 1 transtorno de pânico. Apenas 1 paciente com preDH negou todos os tópicos da MINI.

Tabela 10 – Diagnósticos psiquiátricos gerados pela MINI.

Diagnóstico	n (%)
Episódio depressivo maior	16 (50%)
Transtorno psicótico	8 (25%)
Transtorno de ansiedade ou pânico	7 (21%)
Episódio maníaco ou hipomaníaco	5 (15%)
Dependência de substância	5 (15%)
Transtorno obsessivo-compulsivo	4 (12%)
Sem transtorno psiquiátrico	9 (28%)

Legenda: o número de casos refere-se a episódios atuais ou passados, exceto para transtorno de ansiedade, que é apenas atual. A dependência de substância engloba álcool e outras substâncias psicoativas.

O INP também foi avaliado em relação ao estadiamento de Shoulson-Fahn. Houve uma piora progressiva dos valores do INP. A menor média encontrada foi no grupo preDH (4,0), enquanto a maior foi no estágio V de Shoulson-Fahn (25,2). O subitem de apatia (INP-g) também apresentou tendência de piora com a evolução da doença, exceto do estágio III para o IV, quando houve uma pequena melhora. O menor valor encontrado foi 0 e o maior foi 12, que corresponde ao valor máximo da INP-g. A **Tabela 11** resume esses achados.

Tabela 11 – INP e estadiamento de Shoulson-Fahn.

Estágio	n	Média do INP	Média do INP-g
preDH	5	4,0	0,2
I	8	11,5	2,0
II	11	12,7	3,0
III	7	15	4,8
IV	11	19,7	3,6
V	2	25,2	6,0
Total	44	14,2	3,0

A EHAD apresentou-se com grande variação entre cada estágio de Shoulson-Fahn e não foi possível determinar um padrão ascendente ou descendente, diferentemente da INP. Vide dados da **Tabela 12**.

Tabela 12 – EHAD e estadiamento de Shoulson-Fahn.

Estágio	n	Média da EHAD
preDH	5	5,0
I	8	9,5
II	11	5,6
III	7	14,5
IV	11	10,3
V	2	24,0
Total	44	9,7

5.1.4 Avaliação cognitiva

Os dados gerais das escalas cognitivas estão apresentados na **Tabela 13**. Foram observados valores inferiores no grupo DH manifesta em relação à preDH. Tanto a média dos valores brutos quanto a média dos escores Z demonstraram níveis menores na DH manifesta. SDMT e o teste Stroop não possuem dados normativos para o cálculo do escore Z, conforme discutido nos métodos. O teste Hayling e o TED serão detalhados posteriormente, em seções à parte.

Tabela 13 – Perfil cognitivo de preDH e DH manifesta, com a média dos resultados gerais e a média dos escores Z.

ESCALAS COGNITIVAS	n*	Pacientes com preDH	Pacientes com DH manifesta	Pacientes com DH (total)	p
		Média geral Escore Z	Média geral Escore Z	Média geral Escore Z	Média geral Escore Z
MEEM (0-30 pts)*	5/38	25,6 (22-28) -0,69 (-1,7-+0,16)	19,9 (7-30) -2,33 (-8,1-+1,26)	20,6 (7-30) -2,1 (-8,1-+1,26)	0,001 0,004
FAB (0-18 pts)*	5/35	14,4 (11-17) +0,29 (-1,2-+1,45)	8,4 (0-17) -1,95 (-6,27-+1,0)	9,2 (0-17) -1,6 (-6,27-+1,45)	0,004 0,01
MDRS (0-144 pts)*	5/29	131 (117-138) -1,33 (-5,12-+0,25)	105 (17-143) -7,22 (-20,7-+1,03)	108,9 (17-143) -6,3 (-20,7-+1,03)	<0,001 0,001
SDMT (tempo 90s)*	5/24	44 (37-58) NR	13,2 (0-32) NR	18,5 (0-58) NR	0,003 NR
FAS (tempo 60s)*	5/32	22 (18-25) -0,91 (-1,29- -0,64)	12,1 (0-30) -1,91 (-3,57-+0,47)	13,4 (0-30) -1,7 (-3,57-+0,47)	<0,001 <0,001
Stroop (tempo 45s)	5/25	31,8 (15-44) NR	14,7 (0-44) NR	17,6 (0-44) NR	0,06 NR

Legenda: média (valores mínimos e máximos)/Escore Z (valores mínimos e máximos), * $p < 0,05$ para comparação entre preDH e DH manifesta. MEEM: mini-exame do estado mental, FAB: bateria de avaliação frontal, MDRS: escala de avaliação de demência de Mattis, FAS: teste de fluência verbal FAS, Stroop: teste de Stroop.

*O n se refere ao total em preDH e DH manifesta, respectivamente.

Teste estatísticos: teste t, teste de Mann-Whitney.

A **Tabela 14** apresenta o escore Z de cada teste neuropsicológico na preDH e nos estágios I e II de Shoulson-Fahn. Os testes que apresentaram maior queda do estágio I para o estágio II foram FAB e MDRS, que avaliam principalmente lobo frontal e função executiva. Mesmo no estágio II da DH, MEEM e FAB não apresentaram escore Z abaixo de -1,5, enquanto a fluência verbal FAS já apresentava escores relativamente mais baixos. A MDRS foi a escala que se alterou mais precocemente, já com alterações importantes na preDH, e abaixo de -1,5 mesmo no estágio I.

Tabela 14 – Média do escore Z de testes neuropsicológicos na preDH e nos estágios I e II de Shoulson-Fahn.

Estágio	MEEM	FAB	FAS	MDRS
preDH	-0,69	0,28	-0,91	-1,33
I	-0,87	0,16	-1,17	-2,6
II	-1,36	-1,48	-1,67	-5,14

Legenda: Mini-exame do estado mental (MEEM), bateria de avaliação frontal (FAB), fluência verbal FAS, escala de avaliação de demência de Mattis (MDRS).

Em relação à MDRS, 29 dos 42 pacientes com DH manifesta realizaram essa escala. Os outros 13 não aplicaram principalmente pelo quadro avançado da doença. Considerando como ponto de corte para demência, um escore Z da MDRS abaixo de -1,5, 26 dos 29 pacientes (89%) apresentaram-se com demência. Todos apresentavam perda funcional nas escalas funcionais. Os 3 pacientes restantes tinham o desempenho cognitivo preservado, com escores Z acima de 0. O MEEM, por sua vez, foi completado por 38 pacientes com DH manifesta. Caso seja utilizado o MEEM como critério para demência, com escore Z abaixo de -1,5, 22 de 38 pacientes (58%) estariam classificados como portadores de demência. Dentre os 5 pacientes com preDH, 1 apresentou um escore Z abaixo de -1,5, tanto para a MDRS quanto para o MEEM, mas ele não possuía perda funcional pelas escalas funcionais, o que não pode ser definido como demência. Calculando-se apenas os pacientes com DH manifesta nos estágios iniciais (I e II de Shoulson-Fahn), 83% apresentaram o escore Z abaixo de -1,5 para a MDRS, enquanto 35% apresentaram o escore Z abaixo de -1,5 para o MEEM.

Ao se utilizar um critério mais rigoroso de perda funcional, considerando-se um ponto de corte com a EI menor ou igual a 85%, associado a MDRS ou MEEM com escore Z menor que -1,5, temos que a proporção de demência cai de 83% para 61% na MDRS, e de 35% para 15% no MEEM (para os estágios I e II de Shoulson-Fahn). Considerando-se os 34 pacientes que aplicaram a MDRS (preDH e DH manifesta), ao todo 64% fechariam esse critério para demência. A **Tabela 15** a seguir compara os 2 grupos, sem e com demência, em relação a parâmetros clínicos e endocanabinoides. Houve diferença estatística no TMS, MEEM, MDRS, uso de antidepressivos, uso de antipsicóticos e AEA.

Os resultados dos endocanabinoides serão mais bem detalhados em uma seção específica.

Tabela 15 – Médias e medianas de pacientes DH sem demência e com demência.

	Sem demência	Com demência	p
n	12	22	-
TMS (0-144 pts)	21,9 / 24,5	42,6 / 36,0	0,018*
TMC (0-28 pts)	6,5 / 7,0	9,7 / 9,0	0,075
MEEM (escore Z)	-0,94 / -0,94	-2,41 / -1,76	0,013*
MDRS (escore Z)	-2,05 / -0,76	-8,7 / -7,4	<0,001*
Uso de AD (%)	50	86	0,025*
Uso de AP (%)	33	86	0,001*
AEA (ng/ml)	0,37 / 0,36	0,53 / 0,61	0,041*
2AG (ng/ml)	0,27 / 0,27	0,30 / 0,21	0,85

Legenda: médias / medianas. Escore motor total (TMS), coreia máxima total (TMC), mini-exame do estado mental (MEEM), escala de avaliação de demência de Mattis (MDRS), antidepressivos (AD), antipsicóticos (AP), anandamida (AEA), 2-araquidonoilglicerol (2AG).

Testes estatísticos: teste t (TMC, MEEM, AEA), teste de Mann-Whitney (TMS, MDRS, 2AG), teste z para 2 proporções (AD e AP).

Caso os 5 pacientes com preDH sejam removidos do grupo sem demência, restariam 7 pacientes. A diferença numérica das médias de AEA se manteria (0,39 versus 0,53), porém perderia a significância estatística ($p = 0,07$).

Como a FAS foi a escala que progrediu de maneira mais similar em relação à MDRS, foi criado um escore Z composto associando os 2, conforme detalhado em métodos. Chegou-se aos seguintes valores de escore Z para preDH, DH manifesta estágio I e DH manifesta estágio II, respectivamente: -1,2, -2,3 e -4,4. Em relação à porcentagem de pacientes com escore Z menor que -1,5, para os estágios I e II de DH manifesta, foi obtido o valor de 77%. Na preDH, a proporção foi de 20%. Lembrando que os pacientes com preDH não possuíam perda funcional, então não podem ser classificados como portadores de demência.

5.1.5 O teste Hayling

O teste Hayling exige uma avaliação mais pormenorizada, pois possui mais variáveis. Ao todo, 29 pacientes realizaram esse teste. Três foram excluídos dos cálculos do escore Z, pois possuíam menos de 4 anos de escolaridade, e não há dados normativos para essa faixa escolar. Abaixo, a **Tabela 16** resume os resultados para preDH e DH manifesta. Comparando a média dos escores Z, foi observado que os pacientes com preDH possuem um menor grau de alterações na Parte A do teste, realizando essa parte em um tempo mais rápido e com menos erros. Contudo, divergindo do que seria esperado, na Parte B, os pacientes com preDH tiveram mais alterações do que os com DH manifesta, tanto no tempo quanto nos erros quantitativos. Os erros qualitativos, por sua vez, apresentaram leve piora na DH manifesta.

A **Tabela 16** também discrimina os dados normativos do teste Hayling nos estágios I e II de Shoulson-Fahn. Comparando a média dos escores Z, a Parte A piorou progressivamente com a evolução da doença. Em contrapartida, a Parte B melhorou, exceto para os erros qualitativos (Erros 45). Os pacientes em estágio I de Shoulson-Fahn tiveram menores escores Z nos tempos, tanto o tempo da Parte A quanto o da Parte B, relacionados à velocidade de processamento. A avaliação mais preservada ao longo dos estágios foram os Erros 45 da Parte B. A partir do estágio III, os pacientes tiveram muita dificuldade para compreender os comandos do teste Hayling, principalmente da Parte B, limitando a aplicação a poucos pacientes.

Calculando-se a porcentagem dos pacientes com DH manifesta nos estágios I e II que apresentaram um escore Z abaixo de -1,5 para o tempo da Parte A e para os erros da Parte A, temos 82% e 58%, respectivamente. O valor de 82% do tempo da Parte A foi semelhante à MDRS, que apresentou 83% dos pacientes dos estágios I e II com escore Z abaixo de -1,5. Contudo, foi superior ao MEEM, que apresentou 35% dos pacientes em estágios I e II com escore Z abaixo de -1,5.

Tabela 16 – O teste Hayling na DH, com a média bruta e a média dos escores Z.

	preDH	DH manifesta estágio I	DH manifesta estágio II	DH manifesta (todos os estágios)	DH (preDH + manifesta)
n	5	8	9	21	26
Parte A Tempo – Média	25,8	41,6	44,1	45,1	41,4
Escore Z	-1,3	-3,5	-4,45	-4,6	-4,0
Parte A Erros – Média	0,4	0,75	1,2	1,1	1,0
Escore Z	-0,4	-1,78	-2,96	-2,8	-2,3
Parte B Tempo - Média	158,8	111,7	120,1	111,2	120,3
Escore Z	-6,12	-2,87	-3,48	-2,9	-3,5
Parte B Erros 15 – Média	8,2	8,0	7,3	8,4	8,4
Escore Z	-2,9	-1,89	-1,57	-1,9	-2,1
Parte B Erros 45 – Média	14,4	17,8	15,5	20,2	19,1
Escore Z	-0,5	-0,47	-0,08	-0,7	-0,7

Legenda: A **Parte A** possui 15 frases para serem completadas com uma palavra que faça sentido. A **Parte B** possui 15 frases para serem completadas com uma palavra que **não** faça sentido. O **Tempo** representa o tempo total, em segundos, que o paciente levou para terminar cada parte. **Erros 15** representam os erros quantitativos da Parte B (máximo de 15 pontos). **Erros 45** representam os erros qualitativos da Parte B, em relação à semântica (máximo de 45 pontos).

Observação: os estágios III, IV e V não foram representados devido à amostra pequena.

Como o tempo da Parte A foi o que progrediu de maneira mais similar em relação à MDRS, foi criado um escore Z composto associando os 2, conforme detalhado em métodos. Chegou-se aos seguintes valores de escore Z para preDH, DH manifesta estágio I e DH manifesta estágio II, respectivamente: -1,3, -2,8 e -5,0. Em relação à porcentagem de pacientes com escore Z menor que -1,5, para os estágios I e II de DH manifesta, foi obtido o valor de 81%. Na preDH, a proporção foi de 40%. Lembrando que os pacientes com preDH não possuíam perda funcional, então não podem ser classificados como portadores de demência.

5.1.6 O teste de entrelaçamento dos dedos

O TED apresentou diminuição progressiva do estágio prodrômico até o estágio final da DH, conforme detalhado na **Tabela 17**. As quedas mais acentuadas foram do estágio I de Shoulson-Fahn para o estágio II (44%), e do estágio III para o IV (74%). Para comparação, foram utilizados os controles saudáveis coletados pela equipe de distúrbios do movimento do HCRP, de um estudo anterior, detalhado nos métodos (TUMAS *et al*, 2016). Pacientes com preDH e DH manifesta estágio I não tiveram diferença estatística em relação aos controles. Os pacientes em estágio I, porém, tiveram desempenho numericamente inferior aos preDH e controles. A partir do estágio II, houve diferença estatística em relação aos controles.

Ao se utilizar como ponto de corte, um escore menor ou igual a 3 pontos no TED, engloba-se 80% dos pacientes com DH manifesta e 20% dos pacientes com preDH. No estágio I de Shoulson-Fahn, 57% dos pacientes entrariam nesse ponto de corte, enquanto no estágio II a porcentagem aumentaria para 83%. Somando-se estágios I e II, o valor seria de 73%. Ao se utilizar um ponto de corte mais baixo, menor ou igual a 2 pontos no TED, a porcentagem de pacientes seria menor. Nenhum paciente com preDH entraria, enquanto no estágio I apenas 14% e no estágio II 58%. A **Tabela 17** resume esses achados.

Tabela 17 – Médias do desempenho no TED em controles e DH (preDH e DH manifesta - estágios de Shoulson-Fahn), e porcentagem dos diferentes pontos de corte.

	n	Média	p*	Ponto de corte ≤3	Ponto de corte ≤2
Controles	85	3,78	-	17%	1%
preDH	5	3,8	0,95	20%	0
DH estágio I	7	3,28	0,13	57%	14%
DH estágio II	12	1,83	0,001	83%	58%
DH estágio III	8	1,75	0,01	75%	62%
DH estágio IV	11	0,45	<0,001	90%	90%
DH estágio V	3	0	<0,001	100%	100%

*Legenda: Teste de entrelaçamento dos dedos (TED), doença de Huntington (DH), doença de Huntington prodrômica (preDH). *p em relação à média dos controles saudáveis.*

Teste estatístico: teste t.

A **Figura 12** contém a curva característica de operação do receptor (ROC). Essa curva demonstrou que tanto o TED quanto o MEEM não foram adequados para diagnosticar demência pelos critérios estabelecidos na **Seção 5.1.4** (MDRS com escore Z menor ou igual a -1.5 e EI menor ou igual a 85%). A área sob a curva (AUC) de TED e MEEM foram 0,29 e 0,18, respectivamente.

Diagonal segments are produced by ties.

Figura 12 – Curva ROC de TED e MEEM para o diagnóstico de demência. *Gráfico formatado em SPSS Statistics 17.0.*

5.1.7 Consistência interna e dados psicométricos

O alfa de Cronbach de algumas escalas aplicadas foi calculado, para avaliar a consistência interna das escalas, como controle de qualidade do estudo e viabilidade dessas escalas aplicadas na população de pacientes com DH. Os resultados demonstraram um alfa de Cronbach elevado (acima de 0,7, ou pelo menos acima de 0,5), indicando uma consistência interna adequada. A **Tabela 18** abaixo resume os achados.

Tabela 18 – Consistência interna das escalas clínicas aplicadas.

Escola	Alfa de Cronbach
Escore motor total (UHDRS)	0,97
Avaliação do estado funcional (UHDRS)	0,96
Capacidade funcional total (UHDRS)	0,93
Teste Hayling – escores da avaliação quantitativa (Partes A e B)	0,86
Teste Hayling – escores da avaliação qualitativa (Parte B)	0,92
Escala de avaliação de demência de Mattis	0,85
Teste de entrelaçamento dos dedos	0,87
Inventário neuropsiquiátrico	0,63

5.2 AVALIAÇÃO FUNCIONAL E SUAS CORRELAÇÕES

Foi analisada a correlação dos comprometimentos motor, cognitivo e comportamental com a perda funcional, conforme representado na **Tabela 19**, a seguir. A gravidade da coreia (TMC) contribuiu pouco para o declínio funcional, com significância estatística limítrofe ($p = 0,04$), e com coeficiente de correlação fraco ($r = -0,29$). Por outro lado, o TMS apresentou relação importante com a incapacidade funcional ($p < 0,001$), com coeficiente de correlação forte ($r = -0,84$).

A MDRS, uma escala de avaliação global da cognição, foi escolhida para analisar a correlação da perda cognitiva com a perda funcional. Os resultados demonstraram que

a MDRS se relacionou fortemente com a perda da independência na DH ($r = 0,72$). MDRS e TMS também possuíram boa correlação entre si.

Ao se correlacionar a escala comportamental INP com a perda funcional, houve associação positiva ($p = 0,005$), porém com coeficiente de correlação moderado a fraco ($r = -0,4$). O subitem apatia (INP-g) também teve associação fraca com a CFT, conforme ilustrado na **Tabela 19**. Outros subitens não obtiveram significância estatística.

A análise de regressão das correlações positivas de TMS e MDRS com CFT demonstrou uma contribuição de aproximadamente 64% (0,64) dessas 2 variáveis para a alteração da CFT. A equação da regressão foi:

$$TFC = 7.12 - 0.0980 \text{ TMS} + 0.0436 \text{ MDRS}$$

Essa equação indica que a variação de 1 ponto no TMS altera a TFC em 0,9%, enquanto a variação de 1 ponto da MDRS altera a TFC em 0,04%. Como a MDRS possui um total de 144 pontos, enquanto o TMS possui 124 pontos, a contribuição do TMS para a TFC seria em aproximadamente o dobro da contribuição da MDRS. Caso seja adicionado o INP (TMS + MDRS + INP em relação a CFT), a contribuição de alteração dessas 3 variáveis para a TFC aumenta para 70% (0,7).

Tabela 19 – Correlações entre comprometimento motor, cognitivo e comportamental com declínio funcional.

Correlações		p	r ou R ²
TMS	CFT	<0,001	-0,84
TMC	CFT	0,045	-0,29
MDRS	CFT	<0,001	0,72
INP	CFT	0,005	-0,4
INP-g	CFT	0,03	-0,31
TMS + MDRS	CFT	<0,001	0,64
TMS + MDRS + INP	CFT	<0,001	0,7

Legenda: Capacidade funcional total (CFT), Escore motor total (TMS), Coreia máxima total (TMC), Escala de avaliação de demência de Mattis (MDRS), Inventário neuropsiquiátrico (INP), subitem de apatia do INP (INP-g).

r = coeficiente de correlação (0,5-0,7: boa correlação, 0,7-1,0: forte correlação).

Testes estatísticos: regressão, correlação de Pearson e Spearman.

Caso seja utilizado o MEEM ao invés da MDRS, obtemos uma amostra um pouco maior (34 para a MDRS e 41 para o MEEM), e o coeficiente de correlação entre MEEM e CFT fica em 0,7, com p abaixo de 0,001. A regressão com MEEM e TMS em relação ao CFT, demonstra uma contribuição de 70% para a variação da CFT. Enquanto a regressão com MEEM, TMS e INP demonstra uma contribuição de 73%.

5.3 NÍVEL SÉRICO DE ENDOCANABINOIDES

O valor médio da concentração plasmática de AEA no grupo caso foi de 0,473 ng/ml, enquanto do 2AG foi de 0,291 ng/ml. No grupo controle, os valores médios de AEA e 2AG foram 0,562 e 0,237, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos, apesar do p próximo da significância no caso da AEA, conforme ilustra a **Tabela 20** a seguir.

Em relação às variáveis confundidoras, foram comparados os valores de AEA e 2AG com idade, sexo e IMC, em cada grupo. Não foi encontrada associação em nenhuma análise. Entre AEA e IMC do grupo controle, houve um p próximo à significância (0,053), porém com um coeficiente de correlação (r) fraco, de +0,35. No grupo de pacientes DH, esse achado não se repetiu.

Ao se dividir o grupo de pacientes em preDH e DH manifesta, observou-se diferença estatisticamente significativa entre preDH e controle ($p = 0,02$). As outras comparações não apresentaram diferença estatística.

Tabela 20 – Média e mediana de concentração plasmática dos endocanabinoides em cada grupo.

	preDH	DH manifesta	DH (total)	Grupo controle	p*
n	5	42	47	30	-
AEA (ng/ml)	0,353 / 0,282 (0,149-0,655)	0,487 / 0,451 (0,111-0,990)	0,473 / 0,419 (0,111-0,990)	0,562 / 0,501 (0,353-0,950)	0,02**, 0,11, 0,051
2AG (ng/ml)	0,210 / 0,159 (0,122-0,447)	0,301 / 0,229 (0,031-0,917)	0,291 / 0,217 (0,031-0,917)	0,237 / 0,185 (0,102-0,583)	0,58, 0,14, 0,22

*Legenda: média / mediana, (valores mínimos e máximos). AEA: anandamida, 2AG: 2-araquidonoil-glicerol. *o p é comparando o grupo controle com os 3 grupos de pacientes (preDH, manifesta e DH, respectivamente). **p<0,05.*

Teste estatístico: teste de Mann-Whitney (o grupo controle possui distribuição não-normal tanto para AEA quanto para 2AG).

Foi observado que alguns pacientes com preDH e DH manifesta apresentaram valores muito baixos de AEA (<0,350 ng/ml), enquanto o grupo controle não teve nenhuma amostra com valores tão abaixo. No total, 17 dos 47 pacientes apresentaram esses níveis inferiores de AEA, com média de 0,223 ng/ml. A análise estatística com o teste de Mann-Whitney demonstrou um $p < 0,001$ para esse grupo específico, em relação aos 30 controles saudáveis.

Tendo em vista a influência dos antidepressivos, especialmente os ISRS, no SEC (MATO *et al.*, 2010; SMAGA *et al.*, 2014), foram realizados cálculos excluindo os pacientes em uso de antidepressivos. Restaram 14 pacientes. Ao compará-los com os controles, houve diferença estatística para AEA, conforme ilustra a **Tabela 21**. Caso seja adotado um critério mais rigoroso, excluindo pacientes em uso de antidepressivos e antipsicóticos, restam 10 pacientes. A comparação com o grupo controle também demonstrou diferença estatística para AEA.

Contudo, não houve correlação dos níveis de endocanabinoides com a dose do antidepressivo, como a sertralina, na qual os pacientes utilizavam doses de 50, 100, 150 ou 200mg diárias. Também não houve diferença estatística quando se comparou pacientes que utilizavam antidepressivos versus pacientes que não utilizavam antidepressivos, apesar de média e mediana serem numericamente superiores nos

pacientes que utilizavam antidepressivos (média 0,497 vs. 0,416, mediana 0,484 vs. 0,331, $p = 0,34$).

Tabela 21 – Média e mediana de concentração plasmática dos endocanabinoides em grupos sem uso de antidepressivos e/ou antipsicóticos.

	DH sem uso de AD	DH sem uso de AD nem AP	Grupo controle	p*
n	14	10	30	-
AEA (ng/ml)	0,416 / 0,331 (0,149-0,847)	0,364 / 0,331 (0,149-0,775)	0,562 / 0,501 (0,353-0,950)	0,0068**, 0,0019**
2AG (ng/ml)	0,271 / 0,236 (0,149-0,447)	0,261 / 0,202 (0,149-0,447)	0,237 / 0,185 (0,102-0,583)	0,19, 0,34

*Legenda: média / mediana, (valores mínimos e máximos). AD: antidepressivo, AP: antipsicótico, AEA: anandamida, 2AG: 2-araquidonoil-glicerol. *o p é comparando o grupo controle com os 2 grupos de pacientes: DH sem AD e DH sem AD nem AP, respectivamente. ** $p < 0,05$.
Teste estatístico: teste de Mann-Whitney (o grupo controle possui distribuição não-normal tanto para AEA quanto para 2AG).*

A divisão da DH manifesta em estágios de Shoulson-Fahn não demonstrou tendência ascendente ou descendente, seja para AEA ou para 2AG. As médias para AEA nos estágios I, II, III, IV e V foram, respectivamente: 0,504, 0,454, 0,559, 0,465, 0,560 ng/ml. As médias para 2AG nos estágios I, II, III, IV e V, foram, respectivamente: 0,332, 0,233, 0,390, 0,282, 0,299 ng/ml. Não houve diferença estatística dos estágios em comparação com o grupo controle.

5.4 ENDOCANABINOIDES E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Também foram analisadas correlações e regressões entre endocanabinoides e parâmetros clínicos medidos por escalas na DH. AEA e 2AG foram testados em relação a todas as escalas aplicadas: cognitivas, motoras, funcionais e psiquiátricas. Também se correlacionou endocanabinoides com as escalas e início dos sintomas motores, na tentativa de se relacionar canabinoides com progressão da doença.

Escalas motoras, funcionais e psiquiátricas não apresentaram significância estatística. As escalas cognitivas MEEM, FAB e fluência verbal FAS também não demonstraram associação. A MDRS e o teste Hayling apresentaram dados positivos, porém com correlação fraca (r). A **Tabela 22** resume os resultados positivos.

Como foram realizadas diversas correlações, a fim de diminuir o erro estatístico tipo 1, foi aplicada a correção de Bonferroni. Ao todo, foram 12 variáveis comparadas com AEA e 2AG: tempo de início dos sintomas, MEEM, EAF, EI, CFT, TMS, MDRS, FAB, FAS, INP, EHAD, teste Hayling. Dividindo-se alfa por 12, temos que o p deve ser inferior a 0,004 para significância estatística. Com essa correção, todas as correlações se tornam negativas.

Tabela 22 – Resultados que apresentaram p significativo.

Correlação	p	r
2AG + MDRS	0,039	-0,35
AEA + MDRS + Tempo de início dos sintomas	0,020	0,28
AEA + Tempo A Hayling	0,012	0,48
AEA + Tempo B Hayling	0,014	0,47
AEA + Tempo A + Tempo de sintomas	0,046	0,3
AEA + Tempo B + Tempo de sintomas	0,039	0,31

Legenda: AEA: anandamida, 2AG: 2-araquidonoilglicerol, MDRS: escala de avaliação de demência de Mattis, Tempo A e Tempo B: tempo de cada parte do teste Hayling (Partes A e B).

Testes estatísticos: correlações de Pearson e Spearman, regressão.

6. DISCUSSÃO

6.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA E DEMOGRÁFICA

6.1.1 Caracterização clínica

Idade e IMC estão de acordo com outros estudos, porém a escolaridade média de 7 anos foi consideravelmente menor do que o encontrado na literatura, que varia entre 12 e 14 anos (MARDER *et al.*, 2000; PREDICT-HD, 2014; AZIZ *et al.*, 2017). Isso reflete o baixo nível educacional do Brasil. A proporção maior de pacientes do sexo feminino também está presente na literatura internacional (PREDICT-HD, 2014; PAULSEN *et al.*, 2015). Isso pode ser explicado pela maior negligência do homem em relação a sua saúde.

Em relação às 3 escalas de independência da UHDRS, não foi detectado perda funcional na preDH. Esses pacientes possuem alterações motoras e cognitivas sutis ou leves, que não acarretam prejuízo em tarefas corriqueiras. Os pacientes com DH manifesta possuem incapacidade funcional variável. Na fase inicial ainda há pouco comprometimento, enquanto nos estágios finais a dependência de terceiros é completa.

Em relação ao comprometimento motor, o TMS médio de 42 pontos foi um pouco acima do que é encontrado na literatura, que varia entre 24 e 35 pontos (DUIJN *et al.*, 2014; AZIZ *et al.*, 2017). Isso pode refletir a fase mais avançada com que o paciente chega ao serviço público. Os 5 pacientes com preDH possuíam alterações motoras inespecíficas ou leves, que ainda não eram suficientes para o diagnóstico clínico motor.

As escalas psiquiátricas, INP e EHAD, demonstraram que os pacientes prodrômicos também possuem alterações comportamentais importantes, mas em menor escala do que os pacientes com DH manifesta. Esse achado é compatível com a literatura, que já tem bem documentado que os sintomas psiquiátricos surgem precocemente na DH (DURR *et al.*, 2009). O INP demonstrou que o grupo preDH possui mais comprometimento nos domínios da agressividade, ansiedade e irritabilidade, o que é compatível com a literatura, que descreve uma personalidade pré-mórbida nesse grupo. Os resultados dos testes comportamentais serão discutidos em mais detalhes adiante, em uma seção específica.

6.1.2 Estadiamento funcional

A proporção de pacientes com preDH e DH manifesta em estágios iniciais, em relação ao total, foi inferior ao que consta na literatura internacional (MARDER *et al.*, 2000; DUIJN *et al.*, 2014). Os estágios mais avançados do estadiamento funcional de Shoulson-Fahn tiveram um peso maior. O estágio IV se apresentou com 26% dos casos, maior do que os 8% em um estudo anterior (MARDER *et al.*, 2000). Isso pode refletir um atraso na chegada do paciente e seus familiares a um serviço de referência. Apenas 3 sujeitos de pesquisa no estágio V participaram do estudo. Por ser o estágio mais avançado, é quando há mais complicações clínicas, como pneumonia, desidratação e óbito. Alguns já estão em cuidados exclusivamente domiciliares. Isso dificulta a participação de indivíduos do estágio V. Mesmo assim, o estágio V foi em uma proporção maior do que estudos anteriores (7% nessa dissertação de mestrado versus 2% em MARDER *et al.*, 2000).

O estadiamento funcional com a escala de Shoulson-Fahn reflete a perda funcional progressiva dos pacientes com DH, secundária ao comprometimento motor, cognitivo e psiquiátrico. No estágio I, a perda funcional é ausente ou leve. A partir daí o declínio funcional se agrava gradualmente. Por outro lado, pacientes com preDH não têm perda funcional.

6.1.3 Exame comportamental

A MINI foi aplicada com os pacientes, e não com os acompanhantes, então havia a possibilidade de subdiagnóstico dos transtornos psiquiátricos. Isso porque indivíduos com DH podem negar aspectos da doença ou ter o *insight* diminuído (ORTH, 2014). A MINI foi utilizada apenas em um estudo em DH, aplicada em indivíduos pré-sintomáticos e familiares não portadores da mutação. A prevalência de episódio depressivo em pré-sintomáticos foi de 58% (DURR *et al.*, 2009).

No presente estudo, a prevalência de 50% de episódios depressivos na MINI foi compatível com a literatura (GHOSH; TABRIZI, 2018; ORTH, 2014). A maioria dos diagnósticos foram de episódios depressivos passados e não atuais. Isso pode ser

atribuído ao tratamento com antidepressivos, já que todos os sujeitos de pesquisa tinham acompanhamento regular nos ambulatórios.

A prevalência de 25% de transtorno psicótico atual ou passado foi acima da encontrada na literatura (DUIJN *et al.*, 2014). Isso pode refletir uma capacidade maior da MINI para rastrear esses eventos, que podem apresentar uma natureza episódica na DH. Além da depressão e psicose, a MINI também gerou diagnósticos de transtorno de ansiedade, dependência de substância, episódios maníaco ou hipomaníaco, transtornos obsessivo-compulsivo, compatíveis com a literatura (DUIJN *et al.*, 2014). Deste modo, a MINI pode ser um instrumento útil na avaliação psiquiátrica de indivíduos com DH.

A EHAD apresentou valores sem um padrão ascendente ou descendente em relação ao estadiamento funcional, o que é compatível com estudos anteriores, que demonstraram que os sintomas psiquiátricos surgem de maneira paroxística na DH, o que difere dos sintomas cognitivos e motores, que são progressivos (DUIJN *et al.*, 2014). O tratamento eficaz com antidepressivos e ansiolíticos também pode contribuir para esse padrão. Em contrapartida, o INP apresentou um padrão de piora progressiva. Enquanto a EHAD avalia apenas ansiedade e depressão, o INP avalia 10 domínios comportamentais, dentre eles a apatia. A apatia possui um caráter progressivo, que difere da ansiedade e da depressão (PAULSEN *et al.*, 2017). Com isso, o subitem de apatia do INP se apresentou com piora progressiva ao longo dos estágios de Shoulson-Fahn, acompanhando o declínio cognitivo e motor. Isso se deve à relação da apatia com disfunção executiva, ambas localizadas em circuitos frontais corticais e subcorticais.

6.1.4 Avaliação cognitiva

As escalas cognitivas representaram o declínio cognitivo ao longo da história natural da doença. Os pacientes com preDH foram menos acometidos do que os com DH manifesta em todos os testes apresentados na tabela. A escala com alterações mais pronunciadas nos escores Z foi a MDRS. Dentre os testes neuropsicológicos, é a avaliação mais ampla, com vários domínios cognitivos analisados. Deste modo, não é inesperado que seja a mais alterada. Mesmo na preDH, a MDRS demonstrou

comprometimento cognitivo importante, com escore Z de -1,33. Isso é compatível com estudos que demonstraram que há perda cognitiva na DH, até 10 anos ou mais antes do diagnóstico clínico motor (STOUT *et al.*, 2014).

A fluência verbal FAS, que envolve função executiva, também demonstrou alterações precoces. Em contrapartida, a FAB, que também avalia função executiva, foi a que menos apresentou alterações. Na preDH e no estágio I de Shoulson-Fahn, a FAB foi inferior mesmo ao MEEM, que não avalia função executiva de maneira satisfatória. Apesar de inesperado, esse achado já foi encontrado em um estudo anterior de nossa equipe de distúrbios do movimento do HCRP, em que o MEEM foi superior à FAB em detectar alterações cognitivas ao longo de 1 ano em pacientes com DH manifesta (TUMAS *et al.*, 2009). Isso pode ser decorrente de uma limitação inerente ao teste neuropsicológico.

Ainda não há critérios para diagnosticar demência na DH (MESTRE *et al.*, 2018). Um estudo anterior já explorou esse assunto, fazendo uma análise com MDRS e Stroop em uma coorte com 84 pacientes com DH, mas não chegou a um consenso (PEAVY *et al.*, 2010). Não é possível comparar a maioria dos dados desse estudo com a presente dissertação de mestrado, pois naquele não foi calculado o escore Z da MDRS. No estudo, 58 dos 64 pacientes com DH manifesta tinham comprometimento funcional. Dentre esses 58, a média da MDRS foi de 120,4 pontos. Na presente dissertação de mestrado, a média dentre os pacientes com DH manifesta foi de 105 pontos. Levando-se em conta a diferença de escolaridade (13,6 anos no estudo versus 6,8 anos neste mestrado), pode-se afirmar que ambas as pontuações são muito baixas em relação à população geral.

A presente dissertação de mestrado demonstrou um profundo comprometimento cognitivo na DH, mesmo em fases prodrômicas e manifestas iniciais, o que é compatível com dados da literatura demonstrando comprometimento cognitivo em até 40% dos pacientes com DHPr (STOUT *et al.*, 2014). A MDRS apresentou as alterações mais pronunciadas. Trata-se de uma escala que avalia vários domínios cognitivos, globalmente, mas com certa ênfase nos domínios frontais. Utiliza de poucas habilidades manuais, o que é ideal para doenças que cursam com distúrbios do movimento, como a DH. O uso da MDRS como critério para demência, associado a comprometimento

funcional, pode ser uma ferramenta útil, como demonstrado nessa dissertação de mestrado.

O MEEM detectou muito menos comprometimento cognitivo do que a MDRS, enquanto FAB e fluência FAS ficaram no meio termo entre MEEM e MDRS. O MEEM é sabidamente pouco eficaz na avaliação dos domínios cognitivos frontais, com maior ênfase em lobos temporais e parietais. Com isso, o menor grau de alteração do MEEM era esperado, tendo em vista a disfunção executiva proeminente que é típica da DH. Desse modo, o MEEM não se mostrou um teste adequado para *screening* de comprometimento cognitivo na DH, pois gerou muitos falsos negativos relativamente à MDRS.

O escore Z da MDRS menor que -1,5, associado à EI menor ou igual a 85%, pode ser utilizado como critério diagnóstico para demência na DH. Esse critério pode diferenciar os 2 grupos (com e sem demência) tanto em parâmetros clínicos quanto laboratoriais (AEA), conforme demonstrou a **Tabela 15**. É muito importante que a DH possua critérios validados para o diagnóstico de demência, inclusive podendo ser utilizado como desfecho para resposta terapêutica de eventuais futuros tratamentos.

6.1.5 O teste Hayling

Os estágios finais da DH apresentam comprometimento cognitivo global. Os estágios iniciais apresentam preservação de alguns domínios cognitivos em detrimento de outros, permitindo distinguir quais são mais afetados (STOUT *et al.*, 2014). A linguagem semântica é um dos domínios cognitivos mais preservados na DH. Isso explica porque o Erros 45 da Parte B do teste Hayling se mostrou relativamente preservado nos estágios I e II de Shoulson-Fahn. Por outro lado, a velocidade de processamento é precocemente acometida na DH (STOUT *et al.*, 2014). O tempo aumentado que se levou para realizar o teste Hayling foi o achado com escore Z mais diminuído no estágio I de Shoulson-Fahn (Tempos Parte A e Parte B). Isso é compatível com déficit precoce na velocidade de processamento, o que está de acordo com a literatura.

A piora progressiva da Parte A com a evolução da doença, tanto no tempo quanto nos erros, era esperada, tendo em vista que ela avalia principalmente a velocidade de processamento e a atenção, que são 2 domínios cognitivos que se agravam progressivamente na DH. A média do escore Z já estava menor que -1,0 para o tempo da Parte A mesmo em pacientes com preDH, o que é um achado precoce. Os pacientes em estágio I da DH manifesta já possuíam média abaixo de -1,5, que usualmente é o ponto de corte utilizado para diagnosticar demências em geral. Esses achados da Parte A se mostraram muito similares com os da MDRS, especialmente o tempo da Parte A. Ao todo, 82% dos pacientes nos estágios I e II de Shoulson-Fahn possuíam escore Z abaixo de -1,5 no tempo da Parte A do teste Hayling. Muito similar aos 83% da MDRS. Com isso, a Parte A do teste Hayling pode ser uma ferramenta útil e rápida para avaliar comprometimento cognitivo na DH. Possui a grande vantagem de não utilizar habilidades manuais na avaliação cognitiva, apenas a habilidade verbal. Em doenças neurodegenerativas que cursam com distúrbios do movimento, como DH e DP, é importante separar o comprometimento motor do comprometimento cognitivo, pois ambas levam à perda funcional. O teste Hayling pode auxiliar nessa separação, e inclusive ser utilizado em outras doenças similares, como DP.

O desempenho ruim dos pacientes com preDH na parte B foi inesperado. Eles haviam obtido desempenho superior aos pacientes com DH manifesta em outros testes cognitivos. Em contrapartida, na Parte B do teste Hayling, o escore Z ficou abaixo de -1,5, tanto para o tempo quanto para os erros quantitativos. Esse paradoxo pode ter 2 razões: a primeira seria a piora da desinibição com a progressão da doença, o que já é bem documentado na DH, relacionado com a disfunção executiva. Essa piora facilitaria ao paciente dar uma resposta errada, que é o que se pede na Parte B do teste Hayling. A segunda justificativa seria pela amostra pequena, o que pode gerar distorções.

Em conclusão, o teste Hayling pode ser uma ferramenta útil na avaliação do comprometimento cognitivo em pacientes com DH, ao demonstrar preservação relativa da linguagem semântica, associado a acometimento precoce da velocidade de processamento. A Parte A do teste apresenta alterações progressivas, que já se iniciam na fase prodrômica da DH, o que é útil para analisar a gravidade do comprometimento cognitivo. Não constam na literatura estudos relacionando DH com o teste Hayling. A

combinação do teste Hayling com outros testes cognitivos, como a MDRS, pode ser utilizada como critério diagnóstico para demência na DH. É muito importante que a DH possua critérios validados para o diagnóstico de demência, inclusive podendo ser utilizado como desfecho para resposta terapêutica.

6.1.6 O teste de entrelaçamento dos dedos

Um ponto de corte menor ou igual a 3 pontos, em um total de 4, pode ser uma ferramenta útil na detecção de comprometimento cognitivo na DH. Contudo, haverá falsos positivos, pois cerca de 17% dos controles saudáveis fizeram 3 pontos (TUMAS *et al.*, 2016). Por se tratar de um teste rápido e simples, com duração abaixo de 2 minutos, preenche as características de *screening*. Entretanto, não se pode excluir que a queda da média do TED a partir do estágio II seja parcialmente secundária ao comprometimento motor. Há também a possibilidade de falsos negativos, visto que a DH afeta inicialmente os domínios cognitivos do lobo frontal. A MDRS apresentou um escore Z abaixo de -1,5 de 83% para os estágios I e II de Shoulson-Fahn, enquanto o TED teve um valor menor, de 73%. Ainda assim, muito acima do MEEM, que foi de 35% para esses 2 estágios.

Contudo, a curva ROC do TED em relação aos critérios de demência propostos nessa dissertação não se mostrou adequada. Mais estudos são necessários para se definir melhor o valor do TED na DH.

6.2 AVALIAÇÃO FUNCIONAL E SUAS CORRELAÇÕES

A graduação do comprometimento funcional é muito importante para a DH. A perda funcional na DH é gradual ao longo de anos, secundária aos comprometimentos motor, cognitivo e psiquiátrico.

O presente estudo confirmou a fraca correlação da coreia com o declínio funcional na DH, em acordo com pesquisas anteriores (ROSS *et al.*, 2014). A coreia na DH surge mais no início da doença e tende a se estabilizar com a evolução do quadro clínico. Os movimentos aleatórios da coreia podem causar dificuldade em alguns movimentos finos,

como escrever e abotoar uma camisa. Contudo, em geral os pacientes conseguem contornar essas dificuldades. Um dos aspectos é que a coreia é parcialmente suprimível por um tempo limitado, caso o paciente se concentre em suprimir este movimento. Outro aspecto é que a coreia em geral não possui uma intensidade tão grave. Mesmo tendo um papel limitado no declínio funcional, a coreia é muito importante para o diagnóstico e para o estigma que a doença gera.

Os outros sintomas motores pontuados no TMS, como disartria, bradicinesia, instabilidade postural e incoordenação, se relacionaram fortemente com a perda da funcionalidade. Esses sintomas podem não ser tão valorizados pelo médico, visto que a coreia é mais perceptível. Contudo, causam um impacto funcional muito grande para os pacientes. Os sintomas motores não coreicos podem ser agravados pelo uso de antipsicóticos, que são um dos principais tratamentos da coreia. Com isso, deve-se sempre avaliar e tratar o comprometimento motor, pois esse gera muita incapacidade. A coreia também deve ser tratada, mas talvez com menos agressividade.

O comprometimento cognitivo surge precocemente, ainda na preDH, e dados da literatura indicam até 40% dos pacientes com DHPr apresentando comprometimento cognitivo (STOUT *et al.*, 2014). A perda funcional, porém, se inicia na DH manifesta estágio I. A forte associação da MDRS com a CFT é compatível com achados de estudos anteriores (ROSS *et al.*, 2014). O declínio cognitivo é determinante para a incapacidade funcional, causando dificuldade com atividades instrumentais e básicas da vida diária.

A correlação importante de escalas cognitivas e motoras com o declínio funcional também está de acordo com dados prévios da literatura (ROSS *et al.*, 2014). Juntas, essas alterações contribuíram em mais de 60% para o comprometimento funcional, com o TMS apresentando uma contribuição maior do que a MDRS. Sabe-se que as alças motoras e cognitivas são profundamente acometidas nos núcleos da base de pacientes com DH. Isso ajudar a explicar o declínio em paralelo dos sintomas motores e cognitivos.

Os outros 30% do declínio funcional que não foram explicados pelo comprometimento motor e cognitivo podem ser decorrentes de diversos fatores. O primeiro seria que as escalas aplicadas, MDRS e TMS, não abrangeram suficientemente

todos os aspectos cognitivos e motores. Com isso, escalas mais completas seriam necessárias.

O segundo fator seria relacionado ao comprometimento comportamental. Sabe-se que alterações psiquiátricas geram declínio funcional, mas não se sabe qual o grau de impacto delas, pois elas são as menos estudadas da tríade clínica da DH (**Figura 13**).

Figura 13 – Fatores que influenciam no comprometimento funcional da DH.

No presente estudo, o INP demonstrou uma diminuição gradual em sua pontuação, nos diferentes graus do estadiamento de Shoulson-Fahn. Houve uma correlação moderada do INP com a CFT, porém foi maior do que a relação da coreia com a CFT. Isso pode ser decorrente da piora da apatia, pois o subitem de apatia também evidenciou piora gradativa e correlação positiva. Os resultados podem refletir a moderada, porém presente, influência do comprometimento psiquiátrico na perda funcional. A apatia é o sintoma psiquiátrico mais associado à fisiopatologia de base da DH, ou seja, degeneração fronto-estriatal-cortical. Enquanto os outros sintomas psiquiátricos possuem caráter episódico, a apatia pode apresentar um declínio gradual (ORTH, 2014). O presente estudo reforça a hipótese de que a apatia pode impactar na perda funcional.

O caráter episódico dos sintomas de depressão e ansiedade ficou claro com a EHAD. Não foi possível observar nenhuma tendência em relação ao estadiamento de Shoulson-Fahn, com seus valores variando enormemente entre cada estágio.

6.3 ENDOCANABINOIDES

Não houve diferença estatística na média dos níveis séricos de endocanabinoides entre os pacientes com DH e o grupo controle. O resultado da AEA, com $p = 0,051$, poderia ou não se tornar significativa caso o n do grupo controle fosse ao menos igual ao n do grupo DH. O fato de haver diferença estatística entre preDH e grupo controle chama a atenção para essa possibilidade. Assim como o fato de um grupo de pacientes com DH apresentar níveis muito baixos de AEA. Contudo, a diferença entre preDH e controles saudáveis pode ser obra do acaso, visto que o n para preDH foi muito baixo. Reforça essa hipótese, o fato de não haver diferença estatística entre os estágios da DH manifesta e o grupo controle.

Contudo, ao se excluir os pacientes em uso de antidepressivos, obteve-se significância estatística. Conforme mencionado, os antidepressivos aumentam os níveis de endocanabinoides no cérebro de modelos animais. Com isso, os dados convergem para que de fato haja uma alteração dos endocanabinoides no plasma de pacientes com DH.

A fisiopatologia dessa possível relação permanece especulativa, sendo necessários estudos mais robustos. Sabe-se que os receptores e mediadores canabinoides estão marcadamente diminuídos nos núcleos da base na DH, tanto em modelos animais quanto em humanos. Como a huntingtina está presente também em células fora do SNC, pode haver um efeito similar no sangue, gerando a diminuição dos níveis séricos de AEA. A DH cursa com alterações sistêmicas ainda pouco esclarecidas, como cardiopatia e perda ponderal.

Os níveis muito baixos de AEA em cerca de 25% dos pacientes com DH ficaram próximos ao limite de detecção do método *column switching* UHPLC-MS/MS, conforme descrito em Métodos (Seção 4.5). Nesse método, valores próximos ao limite de detecção possuem um coeficiente de variação maior, entre 15-20%. Isso se traduz em menor acurácia e precisão, tornando os resultados menos exatos.

As correlações positivas de 2AG e AEA podem ser meramente fortuitas, pois apresentaram coeficientes de correlação moderados e não se mantiveram com a

correção de Bonferroni. Contudo, o fato de tanto AEA e 2AG mostrarem relação em 2 escalas cognitivas diferentes (MDRS e teste Hayling), pode significar um possível efeito dos endocanabinoides na cognição e na progressão da doença. Estudos mais robustos que determinem causa e efeito são necessários.

Os níveis séricos de AEA estavam diminuídos em sujeitos de pesquisa com Tempos de execução do teste Hayling mais lentos. Isso sugere uma relação entre endocanabinoides e velocidade de processamento, que é um domínio cognitivo muito acometido na DH. Tanto o sistema endocanabinoide quanto a velocidade de processamento se alteram precocemente na DH.

Sabe-se que o sistema endocanabinoide é neuroprotetor em modelos animais. Um possível efeito neuroprotetor na cognição estaria ligado à modulação que o sistema endocanabinoide oferece nos núcleos da base. Ele regula disparos excessivos de neurônios gabaérgicos e glutamatérgicos, evitando gasto energético desnecessário e consequente estresse oxidativo.

O sistema endocanabinoide, que é basicamente formado por lipídeos, fornece uma alternativa também aos modelos de outras doenças neurodegenerativas, como DP e Doença de Alzheimer. As hipóteses fisiopatológicas mais atuais colocam o acúmulo de proteínas em uma posição central, dando menos enfoque às alterações de lipídeos, como os lipídeos do sistema endocanabinoide.

6.4 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Por se tratar de uma análise transversal, o estudo não permitiu determinar causa e efeito, apenas correlações. Isso diminui a capacidade de gerar conclusões, tornando as discussões mais especulativas.

O tamanho da amostra do grupo DH não poderia ter sido maior, visto a limitação do número de indivíduos portadores dessa doença rara. Contudo, o n do grupo controle poderia ter sido maior. O n baixo do grupo preDH (05) também limitou a análise estatística, principalmente da diferença significativa de AEA entre preDH e grupo controle.

Os níveis muito baixos de AEA em cerca de 25% dos pacientes com DH possuíam valores com menos acurácia e precisão, por limitação do método *column switching* UHPLC-MS/MS. O coeficiente de variação de valores entre 0,1 e 0,3 ng/ml fica entre 15-20%, o que torna os resultados menos exatos, apesar de ainda aceitáveis.

Não foi possível calcular o escore Z de 2 testes neuropsicológicos (SDMT e Stroop), visto a ausência de dados normativos no Brasil para as versões específicas utilizadas. Isso impossibilitou avaliações mais substanciais desses testes.

As várias escalas utilizadas prolongaram a avaliação em até 2h. Isso foi cansativo para alguns sujeitos de pesquisa, com necessidade de pausas ou retornos em outro dia. Esse fator pode ter influenciado em alguns testes.

7. CONCLUSÃO

O teste Hayling foi utilizado na DH pela primeira vez nesse estudo. Pode ser uma ferramenta útil na avaliação da cognição em indivíduos com DH, principalmente em relação à velocidade de processamento, que é o domínio cognitivo mais precocemente afetado na DH.

A MDRS detectou comprometimento cognitivo importante na maioria dos pacientes com DH, mesmo em fases iniciais. A MDRS sozinha, ou combinada com a fluência FAS ou o teste Hayling, podem ser utilizados no diagnóstico de demência na DH. Um escore Z abaixo de -1,5, associado a comprometimento funcional na EI, pode ser utilizado como critério diagnóstico para demência na DH, e diferencia bem os 2 grupos (sem e com demência) quanto a parâmetros clínicos e laboratoriais (AEA mais elevado nos pacientes com demência).

A MINI foi aplicada na DH em apenas 1 estudo prévio. Pode ser uma ferramenta útil na avaliação psiquiátrica de indivíduos com DH. A prevalência de episódio depressivo maior foi de 50%, similar à literatura prévia.

Transtornos psiquiátricos como depressão e ansiedade se manifestaram de forma episódica, em diferentes estágios de evolução da DH, conforme evidenciado pela EHAD. A apatia apresentou um curso diferente dos outros transtornos psiquiátricos, com piora gradual, detectada no INP.

Os sintomas motores não coreicos se correlacionaram fortemente com o declínio funcional. A coreia, por sua vez, apresentou fraca correlação com perda funcional. Os comprometimentos motor e cognitivo se deterioraram em paralelo, influenciando em cerca de 70% do declínio funcional.

Os níveis séricos de endocanabinoides não apresentaram diferença estatística entre o grupo de pacientes DH e o grupo controle ($p = 0,051$). Uma amostra maior poderia trazer resultados diferentes. Por outro lado, o grupo de pacientes preDH apresentou diferença estatística com o grupo controle ($p = 0,02$), o que pode ser secundário às alterações sistêmicas da DH. Contudo, a amostra de preDH foi baixa. O grupo de pacientes com DH sem uso de antidepressivos também apresentou níveis

significativamente baixos de AEA no plasma, em relação aos controles. Em conjunto, esses dados indicam que há alterações sistêmicas do SEC em pacientes com DH, e não apenas no SNC. Estudos anteriores indicavam alterações do SEC no SNC, mas não havia estudos indicando alterações sistêmicas.

Os níveis séricos de endocanabinoides se correlacionaram com as escalas cognitivas MDRS e Hayling, porém não mantiveram essa relação após a correção de Bonferroni. São indícios de que o comprometimento cognitivo pode se relacionar com o SEC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABILDTRUP, Mads; SHATTOCK, Michael. Cardiac Dysautonomia in Huntington's Disease. **Journal of Huntington's Disease**, v. 2, p. 251-261, 2013.

ADASHI, Yoshiki; NAKASHIMA, Kenji. Population genetic study of Huntington's disease – prevalence and founder's effect in the San-in area, western Japan. **Japanese Journal of Clinical Medicine**, v. 57, n. 4, p. 900-904, 1999.

AGOSTINHO, Luciana *et al.* A Study of a Geographical Cluster of Huntington's Disease in a Brazilian Town of Zona da Mata, Minas Gerais State. **European Neurology**, v. 74, n. 1-2, p. 62-68, 2015.

AVILA-GIRÓN, Ramon. Medical and social aspects of Huntington's chorea in the state of Zulia, Venezuela. In: BARBEAU, André (Org.). **Advances in Neurology**, v. 1, Nova York: Raven Press, 1973. P. 261-266.

AZIZ, Ahmad *et al.* Body weight is a robust predictor of clinical progression in Huntington disease. **Annals of Neurology**, v. 82, n. 3, p. 479-483, 2017.

BATES, Gillian *et al.* Formation of Polyglutamine Inclusions in a Wide Range of Non-CNS Tissues in the HdhQ150 Knock-In Mouse Model of Huntington's Disease. **Plos One**, v. 4, n. 11, p. e8025, 2009.

BHATIA, Kailash *et al.* Huntington's Disease. In: _____ **Marsden's Book of Movement Disorders**, Oxford: Oxford University Press, 2012. P. 733-783.

BOTEGA, Neury *et al.* Mood disorders among medical in-patients: a validation study of the hospital anxiety and depression scale (HAD). **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 29, n. 5, 355-363, 1995.

BLÁZQUEZ, Cristina *et al.* Loss of striatal type 1 cannabinoid receptors is a key pathogenic factor in Huntington's disease. **Brain**, v. 134, p. 119-136, 2011.

BRUCKI, Sonia *et al.* Suggestions for utilization of the mini-mental state examination in Brazil. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 61, n. 3, p. 777-781, 2003.

CAMOZZATO, Ana Luiza *et al.* Validação da versão brasileira do Questionário do Inventário Neuropsiquiátrico (Q-INP). **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 73, n. 1, p. 41-45, 2015.

CASCIO, Maria; MARINI, Pietro. Biosynthesis and Fate of Endocannabinoids. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 231, p. 39-58, 2015.

CARAMELLI, Paulo *et al.* Normative data for healthy elderly on the phonemic verbal fluency task – FAS. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 3, n. 1, p. 55-60, 2009.

CARAMELLI, Paulo *et al.* Frontal assessment battery in a Brazilian sample of healthy controls: normative data. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 70, n. 4, p. 278-280, 2012.

CARDOSO, Francisco *et al.* Seminar on choreas. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 7, p. 589-602, 2006.

CARDOSO, Francisco. Differential diagnosis of Huntington's disease: what the clinician should know. **Neurodegenerative Disease Management**, v. 4, n. 1, p. 67-72, 2014.

CECCARINI, Jenny *et al.* Behavioral Symptoms in Premanifest Huntington Disease Correlate with Reduced Frontal CB1R Levels. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 60, n. 1, p. 115-121, 2019.

CENTONZE, Diego *et al.* Cannabinoids in Parkinson's Disease. **Cannabis and Cannabinoid Research**, v. 2, n. 1, p. 21-29, 2017.

CHAGANTI, Sai; MCCUSKER, Elizabeth; LOY, Clement. What do we know about Late Onset Huntington's Disease? **Journal of Huntington's Disease**, v. 6, n. 2, p. 95-103, 2017.

CIAMMOLA, Andrea *et al.* Huntington's disease: The current state of research with peripheral tissues. **Experimental Neurology**, v. 219, p. 385-397, 2009.

COHORT, HUNTINGTON STUDY GROUP. Characterization of a large group of individuals with Huntington Disease and their relatives enrolled in the COHORT study. **Plos One**, v. 7, n. 2, p. e29522, 2012.

CONSROE, Paul *et al.* Controlled Clinical Trial of Cannabidiol in Huntington's Disease. **Pharmacology, Biochemistry, & Behavior**, v. 40, p. 701-708, 1991.

CRIPPA, José Alexandre de Souza; MOREIRA, Fabrício. The psychiatric side-effects of rimonabant. **Brazilian Journal of Psychiatry**, v. 31, n. 2, p. 145-153, 2009.

CRIPPA, José Alexandre de Souza; ZUARDI, Antonio Waldo; JAIME, Hallak. **Therapeutical use of the cannabinoids in psychiatry**. *Brazilian Journal of Psychiatry*, v. 31, suppl. 1, p. S56-S65, 2010.

CRIPPA, José Alexandre de Souza *et al.* Effects of cannabidiol in the treatment of patients with Parkinson's disease: an exploratory double-blind trial. **Journal of psychopharmacology**, v. 28, n. 11, p. 1088-1098, 2014.

CRIPPA, José Alexandre de Souza *et al.* Cannabidiol can improve complex sleep-related behaviours associated with rapid eye movement sleep behaviour disorder in Parkinson's disease patients: a case series. **Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics**, v. 39, n. 5, p. 564-566, 2014.

CURTIS, Adrienne *et al.* A Pilot Study Using Nabilone for Symptomatic Treatment in Huntington's Disease. **Movement Disorders**, v. 24, n. 15, p. 2254-2259, 2009.

DE CAMPOS-CARLI, Salvina Maria *et al.* Cannabinoid receptors on peripheral leukocytes from patients with schizophrenia: Evidence for defective immunomodulatory mechanisms. **Journal of Psychiatric Research**, v. 87, p. 44-52, 2016.

DE MARCHI, Nicola *et al.* Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. **Lipids in Health and Disease**, v. 19, p. 2–5, 2003.

DEVINSKY, Orrin *et al.* Cannabidiol: Pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. **Epilepsia**, v. 55, n. 6, p. 791-802, 2014.

DI MARZO, Vincenzo *et al.* Regulation, Function, and Dysregulation of Endocannabinoids in Models of Adipose and Beta-Pancreatic Cells and in Obesity and Hyperglycemia. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 91, n. 8, p. 3171–3180, 2006.

DI MARZO, Vincenzo *et al.* Role of insulin as a negative regulator of plasma endocannabinoid levels in obese and nonobese subjects. **European Journal of Endocrinology**, v. 161, p. 715–722, 2009.

DIAGO, Bellosta *et al.* Neurocardiovascular pathology in pre-manifest and early-stage Huntington's disease. **European Journal of Neurology**. 2018 Mar. 14. [*Epub ahead of print*].

DLUGOS, Andrea *et al.* Acute stress increases circulating anandamide and other N-acylethanolamines in healthy humans. **Neuropsychopharmacology**, v. 37, p. 2416–2427, 2012.

DUIJN, Erik van *et al.* Neuropsychiatric symptoms in a European Huntington's disease cohort (REGISTRY). **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 85, n. 12, p. 1411-1418, 2014.

DURR, Alexandra *et al.* Long-term outcome of presymptomatic testing in Huntington disease. **European Journal of Human Genetics**, v. 17, p. 165-171, 2009.

FAHN, Stanley; JANKOVIC, Joseph; HALLETT, Mark. Huntington disease. In: _____ **Principles and Practice of Movement Disorders**, 2 ed., Nova York: Elsevier, 2011. P. 311-334.

FERRETJANS, Rodrigo *et al.* Cognitive performance and peripheral endocannabinoid system receptor expression in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 156, p. 254-260, 2014.

FERNÁNDEZ-RUIZ, Javier; ROMERO, Julián; RAMOS, José. Endocannabinoids and Neurodegenerative Disorders: Parkinson's Disease, Huntington's Chorea, Alzheimer's Disease, and Others. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 231, p. 233-259, 2015.

FEKETE, Robert; JANKOVIC, Joseph. Psychogenic chorea associated with family history of Huntington disease. **Movement Disorders**, v. 25, n. 4, p. 503-504, 2010.

FEUERHECKER, Matthias *et al.* Effect of an Acute Consumption of a Moderate Amount of Ethanol on Plasma Endocannabinoid Levels in Humans. **Alcohol and Alcoholism**, v. 47, n. 3, p. 226–232, 2012.

FISHER, Emily; HAYDEN, Michael. Multisource ascertainment of Huntington disease in Canada: prevalence and population at risk. **Movement Disorders**, v. 29, n. 1, p. 105-114, 2014.

FOLSTEIN, Susan *et al.* Huntington disease in Maryland: clinical aspects of racial variation. **American Journal of Human Genetics**, v. 41, n. 2, p. 168-179, 1987.

FOSS, Maria Paula *et al.* Normative data for the Brazilian middle-age and elderly populations. **Dementia & Neuropsychologia**, v. 7, n. 4, p. 374-379, 2013.

GHOSH, Rhia; TABRIZI, Sarah. Clinical Features of Huntington's Disease. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1049, p. 1-28, 2018.

GILBERT, Rebecca; FRUCHT, Steven. Huntington Disease. In: WALKER, Ruth (Org.). **The Differential Diagnosis of Chorea**, Nova York, Oxford University Press, 2011. P. 50-67.

GUSELLA, James *et al.* A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. **Nature**, v. 306, p. 234-238, 1983.

HAYDEN, Michael; MACGREGOR, John; BEIGHTON, Peter. The prevalence of Huntington's chorea in South Africa. **South African Medical Journal**, v. 58, n. 5, p. 193-196, 1980.

HAYDEN, Michael. Reflections on the history of Huntington's Chorea. **Trends in Neurosciences**, v. 6, p. 122-124, 1983.

HAYDEN, Michael *et al.* HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. **European Journal of Human Genetics**, v. 19, p. 561-566, 2011.

HILL, Matthew *et al.* Circulating endocannabinoids and N-acyl ethanolamines are differentially regulated in major depression and following exposure to social stress. **Psychoneuroendocrinology**, v. 34, p. 1257–1262, 2009.

HILLARD, Cecilia *et al.* Endocannabinoid signalling: has it got rhythm? **British Journal of Pharmacology**, v. 160, p. 530–543, 2010.

HOWLETT, Allyn; ABOOD, Mary. CB1 and CB2 Receptor Pharmacology. In: KENDALL, David; ALEXANDER, Stephen (Org.). **Cannabinoid Pharmacology**, Cambridge: Elsevier, v. 80, 2017. P. 169-206.

HUNTINGTON, George. On Chorea. **The Medical and Surgical Reporter: a Weekly Journal**, v. 26, n. 15, p. 317-321, 1872.

HUNTINGTON STUDY GROUP. Unified Huntington's Disease Rating Scale: Reliability and Consistency. **Movement Disorders**, v. 11, n. 2, p. 136-142, 1996.

HUNTINGTON STUDY GROUP. A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial of tetrabenazine as antichorea therapy in Huntington Disease. **Neurology**, v. 66, p. 366-372, 2006.

JEAN-GILLES, Lucie *et al.* Plasma endocannabinoid levels in multiple sclerosis. **Journal of Neurological Sciences**, v. 287, n. 1-2, p. 212–215, 2009.

KARHSON, Debra *et al.* Plasma anandamide concentrations are lower in children with autism spectrum disorder. **Molecular Autism**. 2018 Mar. 12. [*Epub ahead of print*].

KAY, Chris; FISHER, Emily; HAYDEN, Michael. Epidemiology. In: BATES, Gillian; TABRIZI, Sarah; JONES, Lesley (Org.). **Huntington's Disease**, 4. ed., Londres: Oxford University Press, 2014. P. 131-164.

KENNEY, Christopher; POWELL, Suzanne; JANKOVIC, Joseph. Autopsy-Proven Huntington's Disease With 29 Trinucleotide Repeats. **Movement Disorders**, v. 22, n. 1, p. 127-130, 2007.

KIEBURTZ, Karl; REILMANN, Ralf; OLANOW, Warren. Huntington's Disease: Current and Future Therapeutic Prospects. **Movement Disorders**. 2018 Mai 8. [*Epub ahead of print*].

KOETHE, Dagmar *et al.* Anandamide elevation in cerebrospinal fluid in initial prodromal states of psychosis. **The British Journal of Psychiatry**, v. 194, p. 371–372, 2009.

KLUGER, Benzi *et al.* The Therapeutic Potential of Cannabinoids for Movement Disorders. **Movement Disorders**, v. 30, n. 3, p. 313-327, 2015.

KOPPEL, Jeremy *et al.* Endocannabinoids in Alzheimer's disease and their impact on normative cognitive performance: a case-control and cohort study. **Lipids in Health and Disease**, 2009 Jan. 14. [*Epub ahead of print*].

LEAVITT, Blair; KAY, Chris; HAYDEN, Michael. Epidemiology of Huntington Disease. In: FEIGIN, Andrew; ANDERSON, Karen (Org.). **Huntington Disease: Handbook of Clinical Neurology**, Amsterdã: Elsevier, v. 144, n. 3, 2017. P. 31-46.

LOI, Samantha; CHIU, Edmond. Witchcraft and Huntington's disease: a salutary history of societal and medical stigmatisation. **Australasian Psychiatry**, v. 20, n. 5, p. 438-441, 2012.

LÓPEZ-SENDÓN MORENO, Jose *et al.* A double-blind, randomized, cross-over, placebo-controlled, pilot trial with Sativex in Huntington's disease. **Journal of Neurology**, v. 263, n. 7, p. 1390-4000, 2016.

MACCARRONE, Mauro *et al.* Cerebrospinal fluid levels of the endocannabinoid anandamide are reduced in patients with untreated newly diagnosed temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, v. 51, n. 5, p. 768-772, 2010.

MACDONALD, Marcy *et al.* A Novel Gene Containing a Trinucleotide Repeat That Is Expanded and Unstable on Huntington's Disease Chromosomes. **Cell**, v. 72, n. 6, p. 971-983, 1993.

MARDER, Karen *et al.* Rate of functional decline in Huntington's disease. **Neurology**, v. 54, n. 2, p. 452-458, 2000.

MATO, Susana *et al.* Long-term fluoxetine treatment modulates cannabinoid type 1 receptor-mediated inhibition of adenylyl cyclase in the rat prefrontal cortex through 5-hydroxytryptamine 1A receptor-dependent mechanisms. **Molecular pharmacology**, v. 77, n. 3, p. 424-434, 2010.

MESNAGE, V. Neurokinin B, neurotensin, and cannabinoid receptor antagonists and Parkinson disease. **Clinical neuropharmacology**, v. 27, n. 3, p. 108-110, 2004.

MESTRE, Tiago *et al.* Rating Scales for Behavioral Symptoms in Huntington's Disease: Critique and Recommendations. **Movement Disorders**, v. 31, n. 10, p. 1466-1478, 2016.

MESTRE, Tiago *et al.* Rating Scales for Cognition in Huntington's Disease: Critique and Recommendations. **Movement Disorders**, v. 33, n. 2, p. 187-195, 2018.

MONTOJO, María Teresa; AGANZO, Miguel; GONZÁLEZ, Nieves. Huntington's Disease and Diabetes: Chronological Sequence of its Association. **Journal of Huntington's Disease**, v. 6, n. 3, p. 179-188, 2017

NANCE, Martha. Genetics of Huntington disease. In: FEIGIN, Andrew; ANDERSON, Karen (Org.). **Huntington Disease: Handbook of Clinical Neurology**, Amsterdã: Elsevier, v. 144, n. 3, 2017. P. 4-14.

NEUMEISTER, Alexander *et al.* Elevated brain cannabinoid CB1 receptor availability in post-traumatic stress disorder: a positron emission tomography study. **Molecular Psychiatry**, v. 18, n. 9, p. 1034–1040, 2013.

O'SULLIVAN, Saoirse Elizabeth. Endocannabinoids and the Cardiovascular System in Health and Disease. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 231, p. 393-422, 2015.

ORTH, Michael. Huntington's Disease: Clinical Phenotypes and Therapeutics. In: FEDERICO, Micheli; LEWITT, Peter (Org.). **Chorea: causes and management**, Nova York: Springer, 2014. P. 71-100.

PARADISI, HERNÁNDEZ, ARIAS. Huntington disease mutation in Venezuela: age of onset, haplotype analyses and geographic aggregation. **Journal of Human Genetics**, v. 53, n. 2, p. 127-135, 2008.

PAULSEN, Jane *et al.* Motor onset and diagnosis in Huntington disease using the diagnostic confidence level. **Journal of Neurology**, v. 262, n. 12, p. 2691-2698, 2015.

PAULSEN, Jane *et al.* Cognitive and behavioral changes in Huntington disease before diagnosis. In: FEIGIN, Andrew; ANDERSON, Karen (Org.). **Huntington Disease: Handbook of Clinical Neurology**, Amsterdã: Elsevier, v. 144, n. 3, 2017. P. 69-91.

PEAVY, Guerry *et al.* Cognitive and Functional Decline in Huntington's Disease: Dementia Criteria Revisited. **Movement Disorders**, v. 25, n. 9, p. 1163-1169, 2010.

PISANI, Antonio *et al.* High endogenous cannabinoid levels in the cerebrospinal fluid of untreated Parkinson's disease patients. **Annals of Neurology**, v. 57, n. 5, p. 777-779, 2005.

PREDICT-HD. Motor Abnormalities in Premanifest Persons with Huntington's Disease: The PREDICT-HD Study. **Movement Disorders**, v. 24, n. 12, p. 1763-1772, 2009.

PREDICT-HD. Mild cognitive impairment in prediagnosed Huntington disease. **Neurology**, v. 75, n. 6, p. 500-507, 2010.

PREDICT-HD. Refining the diagnosis of Huntington disease: the PREDICT-HD study. **Frontiers in Aging Neuroscience**, v. 5, n. 12, p. 1-8, 2013.

PREDICT-HD. Prediction of manifest Huntington's disease with clinical and imaging measures: a prospective observational study. **The Lancet Neurology**, v. 13, n. 12, p. 193-201, 2014.

PRINGSHEIM, Tamara *et al.* The Incidence and Prevalence of Huntington's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. **Movement Disorders**. 2012 Mai. 9. [*Epub ahead of print*].

QUARRELL, Oliver *et al.* Reduced penetrance alleles for Huntington's disease: a multi-centre direct observational study. **Journal of Medical Genetics**, v. 44, n. 3, p. e68, 2007.

QUEIROZ, Maria Eugenia Costa *et al.* A column switching ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to determine anandamide and 2-arachidonoylglycerol in plasma samples. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 409, n. 14, p. 3587-3596, 2017.

RAICHLLEN, David *et al.* Exercise-induced endocannabinoid signaling is modulated by intensity. **European Journal of Applied Physiology**, v. 113, n. 4, p. 869-875, 2013.

RASKIN, Salmo *et al.* Huntington disease: DNA analysis in Brazilian population. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 58, n. 4, p. 977-985, 2000.

RAWLINS, Michael *et al.* Prevalence of adult Huntington's disease in the UK based on diagnoses recorded in general practice records. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 84, p. 1156-1160, 2013.

RAWLINS, Michael *et al.* The Prevalence of Huntington's Disease. **Neuroepidemiology**, v. 46, p. 144-153, 2016.

READ, Joy *et al.*; TRACK-HD. Quality of Life in Huntington's Disease: A Comparative Study Investigating the Impact for those with Pre-Manifest and Early Manifest Disease, and their Partners. **Journal of Huntington's Disease**, v. 2, n. 2, p. 159-175, 2013.

REBOK, George *et al.* Automobile Driving in Huntington's Disease. **Movement Disorders**, v. 10, n. 6, p. 778-787, 1995.

REGISTRY. M04 European Huntington's Disease network registry: current status. **Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry**, v. 83, 2012.

REILMANN, Ralf; LEAVITT, Blair; ROSS, Christopher. Diagnostic Criteria for Huntington's Disease Based on Natural History. **Movement Disorders**, v. 29, n. 11, 2014.

ROCHA, Antônio; GAMA, Hugo; PACHECO, Felipe. Doenças Neurodegenerativas e Síndromes Demenciais. In: ROCHA, Antônio; VEDOLIN, Leonardo; MENDONÇA, Renato (Org.). **Encéfalo**, Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

ROSS, Christopher *et al.* Determinants of Functional Disability in Huntington's Disease: Role of Cognitive and Motor Dysfunction. **Movement Disorders**, v. 29, n. 11, p. 1351-1358, 2014.

SAFT, Carsten *et al.* Cannabinoids for Treatment of Dystonia in Huntington's Disease. **Journal of Huntington's Disease**, v. 7, n. 2, p. 167-173, 2018.

SARCHIELLI, Paola *et al.* Endocannabinoids in Chronic Migraine: CSF Findings Suggest a System Failure. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, p. 1384-1390, 2007.

SARCHIELLI, Paola *et al.* Abnormalities in the cerebrospinal fluid levels of endocannabinoids in multiple sclerosis. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 79, p. 1224–1229, 2008.

SCAHILL, Rachael *et al.* Structural imaging in premanifest and manifest Huntington disease. In: FEIGIN, Andrew; ANDERSON, Karen (Org.). **Huntington Disease: Handbook of Clinical Neurology**, Amsterdã: Elsevier, v. 144, n. 3, 2017. P. 247-261.

SEMAKA, Alicia *et al.* CAG size-specific risk estimates for intermediate allele repeat instability in Huntington disease. **Journal of Medical Genetics**, v. 50, p. 696-703, 2014.

SIMON, Vincent; COSTA, Daniela. Endocannabinoids and metabolism: past, present and future. **European Journal of Endocrinology**, v. 176, p. 309-324, 2017.

SMAGA, Irena *et al.* Antidepressants and Changes in Concentration of Endocannabinoids and N-Acylethanolamines in Rat Brain Structures. **Neurotoxicity research**, v. 26, n. 2, p. 190-206, 2014.

STOUT, Julie *et al.* The Cognitive Burden in Huntington's Disease: Pathology, Phenotype, and Mechanisms of Compensation. **Movement Disorders**, v.29, n.5, p.673-683, 2014.

SZABO, Bela; SCHLICKER, Eberhard. Effects of Cannabinoids on Neurotransmission. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v. 168, p. 327-365, 2005.

TABRIZI, Sarah J *et al.* Huntington Disease. **Nature Reviews**, v. 1, p. 1-21, 2015.

TABRIZI, Sarah *et al.* Targeting Huntingtin Expression in Patients with Huntington's Disease. **The New England Journal of Medicine**, v. 380, n. 19, p. 1-10, 2019.

TRACK-HD. 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. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 7, p. 637-649, 2013.

TUMAS, Vitor *et al.* Internal consistency of a Brazilian version of the unified Huntington's disease rating scale. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 62, n. 4, p. 977-982, 2004.

TUMAS, Vitor *et al.* Use of the frontal assessment battery in evaluating executive dysfunction in patients with Huntington's disease. **Journal of Neurology**, v. 256, n. 11, p. 1809-1815, 2009.

TUMAS, Vitor *et al.* Clinical and genetic analysis of 29 Brazilian patients with Huntington's disease-like phenotype. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v. 69, n. 3, p. 419-423, 2011.

TUMAS, Vitor *et al.* The interlocking finger test in patients with Parkinson's disease and healthy subjects. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 29, p. 145-148, 2016.

VALDEOLIVAS, Sara *et al.* Effects of a Sativex-Like Combination of Phytocannabinoids on Disease Progression in R6/2 Mice, an Experimental Model of Huntington's Disease. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. E684, 2017.

VAN DER BURG, Jorien; BJÖRKQVIST, Maria; BRUNDIN, Patrik. Beyond the brain: widespread pathology in Huntington's disease. **The Lancet Neurology**, v. 8, n. 8, p. 765-774, 2009

VAN LAERE, Koen *et al.* Widespread Decrease of Type 1 Cannabinoid Receptor Availability in Huntington Disease In Vivo. **The Journal of Nuclear Medicine**, v. 51, n. 9, p. 1413-1417, 2010.

VAN WAMELEN, Daniel *et al.* Hypothalamic Alterations in Huntington's Disease Patients: Comparison with Genetic Rodent Models. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 26, p. 761-775, 2014.

WARBY, Simon *et al.* HTT haplotypes contribute to differences in Huntington disease prevalence between Europe and East Asia. **European Journal of Human Genetics**, v. 19, n. 5, p. 561-566, 2011.

WEXLER, Nancy *et al.* Venezuelan kindreds reveal that genetic and environmental factors modulate Huntington's disease age of onset. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 101, n. 10, p. 3498-3503, 2004.

WILD, Edward; TABRIZI, Sarah. Therapies targeting DNA and RNA in Huntington's disease. **The Lancet Neurology**, v. 16, p. 837-847, 2017.

WILD, Edward *et al.* Neurofilament light protein in blood as a potential biomarker of neurodegeneration in Huntington's disease: a retrospective cohort analysis. **The Lancet Neurology**, v. 16, n. 8, p. 601-609, 2017.

ZIMMERMANN, Nicolle *et al.* Brazilian norms and effects of age and education on the Hayling and Trail Making Tests. **Trends in Psychiatry and Psychotherapy**, v. 39, n. 3, p. 188-195, 2017.

GLOSSÁRIO

Comprometimento cognitivo leve	Testes neuropsicológicos apresentam alterações, mas não há comprometimento funcional nas atividades diárias do paciente.
Diagnóstico clínico ou motor	Quando o paciente apresenta sinais motores inequívocos da DH (coreia, bradicinesia etc.)
Diagnóstico genético	Quando o teste genético por PCR ou Southern Blotting apresenta ≥ 40 repetições da trinca CAG.
DH manifesta	Doença de Huntington com diagnóstico genético e motor.
DH pré-manifesta	Antes do diagnóstico clínico/motor. Contudo, já pode apresentar alterações motoras sutis, comprometimento cognitivo e psiquiátrico.
DH juvenil	Doença de Huntington com início dos sintomas antes dos 20 anos idade.
DH prodrômica	Estágio antes do diagnóstico motor, quando já pode ser detectado anormalidades motoras sutis, comprometimento cognitivo leve e alterações comportamentais.
Escore Z	É o número de desvios padrões que um determinado valor se distancia da média de uma determinada população. Muito utilizado na neuropsicologia para padronizar os resultados em relação à escolaridade, idade etc.
Éxon	Sequências de um gene que são codificadas para RNA e proteínas. Opõe-se ao íntron.

Haplogrupo/Haplótipo	Conjunto de polimorfismos de nucleotídeo único próximos um ao outro, em um determinado gene, formando um <i>cluster</i> de polimorfismos.
Huntingtina	Proteína que tem seu gene mutado na DH. Seu acúmulo em neurônios leva à morte celular e neurodegeneração na DH.
Íntron	Sequências de um gene que não são codificadas para RNA e proteínas. Opões ao éxon.
Mutação <i>de novo</i>	Quando um paciente tem DH, mas os pais não tem DH, é dito que ocorreu mutação de novo, ou uma “nova mutação”.
Penetrância	Se uma mutação patológica manifesta ou não a doença. Na DH, a penetrância é completa para repetições CAG ≥ 40 , ou seja, todos com a mutação desenvolvem a doença. É incompleta entre 36-39 repetições, ou seja, nem todos desenvolvem a doença.
Polimorfismo de nucleotídeo único	Mutação de um único nucleotídeo em um determinado gene. Portadores da DH possuem várias dessas mutações no gene da huntingtina.
Sácades	Movimento ocular rápido de fixação. Para avaliá-la, solicita-se que o paciente olhe para algum objeto-alvo, na horizontal e na vertical.
Teoria da mente	Capacidade de compreender e criar empatia por pensamentos ou ações de outras pessoas. Localizado principalmente no lobo frontal.

Teste de batida de dedos	Solicita-se que o paciente realize movimentos rápidos e alternados de preensão do indicador contra o polegar, para avaliação da bradicinesia.
Teste de Luria	É uma sequência de 3 movimentos sucessivos (bater na mesa com: a mão fechada -> a lateral da mão aberta -> a palma da mão aberta), correlaciona-se com funções do lobo frontal.
Tandem, Marcha	Pede-se ao paciente que ande em linha reta, com um pé logo na frente do outro, para avaliar o equilíbrio e marcha.

ANEXO 1 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Caracterização clínica de uma amostra de pacientes portadores de doença de Huntington e avaliação do nível sérico de endocanabinóides

Pesquisador: Pedro Manzke de Carvalho

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 59355416.3.0000.5440

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP -

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.828.036

Apresentação do Projeto:

Outros pesquisadores envolvidos:

- (1) Vitor Tumas – orientador, professor doutor do Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRPUSP);
- (2) Nayanne Beckmann Bosaipo - neuropsicóloga do Setor de Distúrbios do Movimento e Neurologia Comportamental do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP);
- (3) Angela Vieira Pimentel – enfermeira contratada do Setor de Distúrbios do Movimento e Neurologia Comportamental (HCRP).

Projeto de pesquisa de desenho observacional para obtenção de título de mestre a ser desenvolvido junto ao Departamento de Neurociência e Ciências do Comportamento da FMRPUSP. A hipótese é de que os níveis séricos de endocanabinóides em pacientes portadores de doença de Huntington (DH) estão alterados em relação a controles.

Objetivo da Pesquisa:

Os objetivos primários descritos são (1) caracterizar uma amostra de pacientes com DH e seus familiares em risco acompanhados em um ambulatório especializado em distúrbios do movimento

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

e (2) verificar se as dosagens séricas dos endocanabinoides (ANA e 2AG) estão alteradas em pacientes com DH.

Como objetivos secundários foram descritos (1) determinar o número e o estado clínico atual dos pacientes acompanhados com diagnóstico de DH em uma amostra de um centro especializado brasileiro; (2) verificar se existe relação entre o nível de endocanabinoides no sangue com sintomas específicos, motores, cognitivos e comportamentais na DH; (3) verificar se existe relação entre o nível de endocanabinoides no sangue e o estágio da DH, e (4) determinar o grau de comprometimento cognitivo e funcional dos pacientes acompanhados.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

(1) O pesquisador principal refere que o projeto oferece como riscos complicações possíveis pela punção venosa. Afirma que o estudo não se caracteriza por conter dilemas éticos;

(2) Não haverá benefício direto ao voluntário. Como benefício indireto, o pesquisador espera contribuir para ampliar conhecimento sobre o funcionamento do sistema endocanabinoide na DH e estimular realização de ensaios clínicos dirigidos especificamente para atuar sobre esse sistema.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A) INTRODUÇÃO

(1) DH é uma doença neurodegenerativa hereditária com uma prevalência global em torno de 2 a 5 casos para cada 100.000 habitantes;

(2) É caracterizada por ser uma doença neurodegenerativa progressiva em que se apresentam manifestações motoras, cognitivas e comportamentais. A coreia é a manifestação motora mais característica da doença, porém, vários outros problemas motores ocorrem, como: distonia, ataxia, bradicinesia, rigidez, alterações da marcha, tiques;

(3) Além dos sintomas motores a DH também provoca alterações cognitivas e comportamentais. As manifestações cognitivas são caracterizadas inicialmente por disfunção executiva e diminuição da velocidade de processamento. Com a evolução da doença, memória e outros domínios cognitivos também são acometidos. As alterações comportamentais também são prevalentes na DH, como depressão, ansiedade, apatia, irritabilidade, ideação suicida, obsessão, compulsão e psicose. Essas manifestações podem eventualmente se apresentar muitos anos antes dos sintomas motores;

(4) Seu impacto é significativo devido à sua gravidade e pelo fato do início dos sintomas se dar preferencialmente entre os 30 e 40 anos de idade, quando os indivíduos estão na sua fase mais produtiva;

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

- (5) Tem como etiologia uma mutação no gene da huntingtina, localizado no braço curto do cromossomo 41. Uma expansão numa sequência de repetições de trinucleotídeos CAG faz com que a huntingtina mutada se torne patológica. Os mecanismos exatos que levam a mutação a produzir o processo degenerativo, principalmente em núcleos da base, não estão ainda completamente esclarecidos. A transmissão da doença é por herança autossômica dominante e a penetrância da mutação é completa;
- (6) Há a possibilidade de o sistema endocanabinoide ter papel na etiopatogenia da DH e dos seus sintomas, como um sistema que exerce ações tanto sistêmicas como no próprio sistema nervoso central.

B) METODOLOGIA

AMOSTRAGEM:

- (1) Serão recrutados todos os pacientes com diagnóstico de DH e seus parentes em risco que forem atendidos no ambulatório de distúrbios do movimento (AEXP) do HCFMRPUSP durante o período de agosto de 2016 a março de 2017. Os parentes em risco serão aqueles já em identificados e em seguimento regular no ambulatório;
- (2) Paralelamente, serão recrutados participantes ditos saudáveis entre os acompanhantes dos pacientes ao ambulatório, sem risco estimado para desenvolver a DH. Os controles serão pareados aos pacientes em idade, sexo e escolaridade;
- (3) A amostra será composta por estimados 80 participantes divididos em Grupo DH (n = 50) e grupo Controle (n = 30);
- (4) Critérios de inclusão para grupo DH: (a) suspeita clínica de DH por um neurologista especializado em distúrbios do movimento, (b) confirmação genética da existência da mutação responsável pela doença ou (c) parente-em-risco de paciente com diagnóstico de DH em acompanhamento no ambulatório, e (d) idade maior que 18 anos. Para grupo Controle: (a) participante autodeclarado saudável e sem risco aparente para DH e (b) idade maior que 18 anos;
- (5) Critérios de exclusão: para estudo de descrição clínica não haverá critério de exclusão específico. Para o estudo de comparação, com coleta de sangue: (a) participantes com evidência de esquizofrenia; (b) diagnóstico de câncer; (c) presença de outra doença clínica grave; (d) presença de outra doença neurológica significativa, como esclerose múltipla; (e) evidência de inflamação local ou sistêmica; (f) vigência de um quadro infeccioso; (g) gravidez; (h) hepatite C; (i) obesidade definida por IMC > 30; (j) uso atual de drogas ilícitas como maconha, crack, cocaína; (l) ingestão de álcool nas últimas 24h; (m) diagnóstico de diabetes, e (n) cardiopatia significativa.

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

MATERIAL:

Estão previstos:

- (a) coleta de sangue por punção venosa (5-10 ml), para dosagem dos endocanabinoides no plasma. Há menção de que este material biológico será guardado em biorrepositório identificado como "Neurobanco" do departamento ao qual o projeto é associado;
- (b) material de consumo para análise dos níveis de ANA e 2AG, hemograma, proteína C reativa, glicemia, sorologia para hepatites B e C, lipidograma;
- (c) Escala unificada para avaliação de manifestações clínicas da DH e capacidade funcional dos pacientes com este diagnóstico (Unified Huntington's Disease Rating Scale – UHDRS);
- (d) Mini-exame do estado mental (MEEM) para avaliação de orientação, atenção, memória, linguagem e função viso-espacial;
- (e) Bateria de avaliação frontal (Frontal Assessment Battery - FAB);
- (f) Teste do entrelaçamento dos dedos (Interlocking finger test - IFT);
- (g) Teste de fluência verbal FAS;
- (h) Teste das modalidades de símbolos (Symbol digit modalities test - SDMT);
- (i) Teste de Stroop (Stroop interference test - SIT);
- (j) Escala rápida para graduar demência (quick dementia rating system - QDRS);
- (k) Questionário de avaliação funcional de Pfeffer;
- (l) Inventário de ansiedade de Beck (IAB);
- (m) Inventário de depressão de Beck (IDB);
- (n) Escala Hospitalar de ansiedade e depressão (Hospital Anxiety and Depression Scale - HADS);
- (o) Entrevista estruturada para diagnósticos psiquiátricos segundo o DSM-IV;
- (p) Mini International Neuropsychiatric Interview 5.0.0 (M.I.N.I. PLUS);
- (q) Perguntas sobre atividade física;
- (r) Teste de reconhecimento de expressões faciais de Ekman;
- (s) Questionário para coleta com controles saudáveis (sobre dados demográficos e verificação de condições associadas e a um exame físico geral e neurológico de rastreio);
- (t) Não é previsto uso de fontes secundárias de dados, como prontuários dos pacientes.

PROCEDIMENTOS DE COLETA E ANÁLISE DE DADOS:

- (1) Estudo de descrição clínica: com avaliação clínica transversal de todos os pacientes portadores de DH e de seus parentes em risco que fazem acompanhamento no ambulatório especializado do

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

HCRP;

- (2) Outro estudo complementar será desenvolvido a partir deste que se destinará a analisar os níveis séricos de endocanabinoides nos pacientes com DH e seus parentes em risco, comparado com o grupo Controle;
- (3) A coleta de dados será feita durante a consulta habitual do paciente no ambulatório;
- (4) A avaliação clínica será realizada por um médico neurologista com treinamento em distúrbios do movimento, e complementada pela avaliação de um médico psiquiatra, de uma enfermeira especializada na área de distúrbios do movimento e de uma neuropsicóloga. Além da entrevista usual será aplicada outra estruturada para a coleta de dados demográficos e clínicos do paciente;
- (5) Os participantes do grupo Controle responderão apenas a questionário específico e a escala HADS;
- (6) A análise estatística será feita com o programa Minitab e SPSS versão 10.0. Serão utilizados o teste t de Student para amostras pareadas, os testes não paramétricos de Mann-Whitney e Friedman e o teste do qui quadrado. O valor de p será considerado significativo quando menor que 0,01 devido à aplicação da Correção de Bonferroni.

C) CRONOGRAMA DE EXECUÇÃO

A coleta de dados está prevista para iniciar em Outubro de 2016. A pesquisa será finalizada em Julho de 2017.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

1. Folha de rosto: devidamente assinada pelo pesquisador principal em 15 de agosto de 2016. Neste documento, identifica-se como instituição proponente o HCFMRPUSP, afirmada por assinatura do Senhor Coordenador Técnico Científico da Unidade de Pesquisas Clínicas (UPC HCFMRPUSP), Prof. Dr. Eduardo Barbosa Coelho, em 22 de agosto de 2016;
2. Ofício emitido pela UPC (HCFMRPUSP), com a aprovação do orçamento e manifestação de concordância com a realização da pesquisa pelo Senhor Chefe de Departamento, Prof. Dr. João Pereira Leite, e, como chefe do ambulatório, Profa. Dra. Cláudia Ferreira da Rosa Sobreira;
3. Orçamento: valor total estimado de R\$ 17.909,88 para custeio de material de escritório, escrita e de impressão, e material de consumo para realização de exames. O valor será pago com verba da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência (FAEPA) do HCFMRPUSP e por verba de projeto submetido e aprovado na FAPESP (processo 2015/07619-1);
4. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE): apresentado em versões para paciente,

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

familiar em risco e controle.

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto e à luz da Resolução CNS 466/2012, o projeto de pesquisa Versão 3 de 01/11/2016 e o Biorrepositório, assim como os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 3 de 01/11/2016 e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Guarda de Material biológico versão 1 data 01/11/2016, podem ser enquadrados na categoria APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto Aprovado: Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados ao CEP, relatórios parciais anuais referentes ao andamento da pesquisa e relatório final ao término do trabalho. Qualquer modificação do projeto original deve ser apresentada a este CEP em nova versão, de forma objetiva e com justificativas, para nova apreciação.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_775175.pdf	04/11/2016 08:51:07		Aceito
Outros	Carta_com_modificacoes2.docx	04/11/2016 08:50:49	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	Biorrepositorio2.JPG	04/11/2016 08:49:56	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	Biorrepositorio1.JPG	04/11/2016 08:49:33	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEbiorrepositorio.doc	04/11/2016 08:48:57	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE3paciente.docx	04/11/2016 08:48:27	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE3grupocontrole.docx	04/11/2016 08:48:12	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRAO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE3familiarerisco.docx	04/11/2016 08:47:53	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_mestrado_HD_Pedro_Manzke3.docx	04/11/2016 08:47:24	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	Oficio_aprovacao_de_biorrepositorio.pdf	27/09/2016 18:00:00	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_mestrado_HD_Pedro_Manzke2.docx	23/09/2016 18:49:35	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLENeurobanco.docx	22/09/2016 23:25:35	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2grupocontrole.docx	22/09/2016 23:25:21	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2paciente.docx	22/09/2016 23:25:08	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2familiarerisco.docx	22/09/2016 23:24:53	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	Carta_com_modificacoes.docx	22/09/2016 23:24:31	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	formulario_UPC.JPG	30/08/2016 14:09:11	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Outros	de_acordo.JPG	30/08/2016 14:08:45	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto.pdf	22/08/2016 20:38:32	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_mestrado_HD_Pedro_Manzke.docx	13/08/2016 16:53:08	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Orçamento	Orcamento.JPG	13/08/2016 16:48:36	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	13/08/2016 16:40:17	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	13/08/2016 16:38:54	Pedro Manzke de Carvalho	Aceito

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO
Bairro: MONTE ALEGRE **CEP:** 14.048-900
UF: SP **Município:** RIBEIRÃO PRETO
Telefone: (16)3602-2228 **Fax:** (16)3633-1144 **E-mail:** cep@hcrp.usp.br

Continuação do Parecer: 1.828.036

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 21 de Novembro de 2016

Assinado por:

MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador)

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br