

# CENTRO DE NEUROCIENCIAS DE CUBA



## Tesina del Diplomado en Neurociencias

Conectividad funcional derivada del electroencefalograma en enfermos y presintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2.

**AUTOR:** Dr. Henry Freeman Guillen.

Residente de cuarto año en Neurofisiología Clínica.

**TUTOR:** Dr. Cs. Luis Velázquez Pérez.

Profesor e Investigador Titular.

Especialista de 2do grado en Neurofisiología Clínica.

**LA HABANA 2018**

## **RESUMEN**

**Introducción:** La conectividad funcional se refiere al grado con el cual la actividad en un área se correlaciona con la actividad de otra área, entre los métodos más utilizados para estimar la conectividad funcional se encuentran la sincronización generalizada, y la teoría de grafos.

**Objetivo General:** Determinar los patrones de conectividad funcional derivada del Electroencefalograma en estado de reposo en sujetos enfermos y presintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 y su posible relación con la expansión poliglutamínica y las alteraciones cognitivas.

**Métodos:** La conectividad funcional de la señal del electroencefalograma será evaluada a partir de la probabilidad de sincronización y la teoría de grafos. Se aplicará Mini Mental State Examination de Folstein (MMSE) para la evaluación funciones cognitivas.

**Resultados:** incremento de la sincronización para ambos grupos en las bandas delta-theta; con mayor nivel de significación estadístico en el grupo de los enfermos. Las propiedades topológicas de las redes arrojan diferencias para las bandas más lentas.

**Conclusiones:** Los pacientes presintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 muestran patrones de conectividad funcional general más débiles para la frecuencia alfa y más fuerte para la theta y delta que los pacientes enfermos. Las propiedades intrínsecas de las redes funcionales evaluadas mostraron patrones diferentes entre ambos grupos en las bandas más lentas.

**Palabras claves:** Ataxia Espinocerebelosa tipo 2, conectividad funcional, teoría de grafos, probabilidad de sincronización.

## II. INTRODUCCIÓN

Las Ataxias Cerebelosas Autosómico Dominantes (ADCA, del inglés: Autosomal Dominant Cerebellar Ataxias) también conocidas como Ataxias Espinocerebelosas forman un grupo de afecciones neurodegenerativas clínica y genéticamente heterogéneas que caracterizan por la pérdida neuronal progresiva fundamentalmente a nivel del cerebelo, núcleos del tronco cerebral y tractos espinocerebelosos. *(Velázquez-Pérez y col., 2017)*.

La SCA2 alcanza las mayores tasas de prevalencia e incidencia a nivel mundial en la provincia de Holguín, donde existen más de 500 enfermos vivos, y 7000 descendientes. Estos últimos dispersos por toda la isla lo cual representa un serio problema de salud nacional. Anualmente nacen 22 niños portadores de la mutación, enferman 35 nuevos casos y fallecen 15 enfermos *(Velázquez-Pérez y col., 2003)*.

La SCA2 es causada por la expansión del trinucleótido CAG en la región codificante del gen ATXN2 y el consecuente efecto patológico de la expansión del tracto poliglutamínico en la proteína ataxina 2. Se caracteriza por un síndrome cerebeloso progresivo, acompañado por movimientos oculares sacádicos lentos, neuropatía periférica sensorimotora, trastornos del sueño y disfunción cognitiva. *(Rodríguez-Labrada y col., 2014)*

La edad de inicio de la enfermedad es variable, aunque usualmente debuta entre la tercera y cuarta década de la vida. En la población cubana, este parámetro varía entre tres y 79 años de edad con una media de 32 años. Como en otras enfermedades poliglutamínicas, la edad de inicio de los síntomas depende significativamente del número de repeticiones del trinucleótido CAG, de manera que los individuos con mayores expansiones debutan más tempranamente y deterioro es más marcado. *(Rodríguez-Labrada et al., 2014; Velázquez-Pérez y col., 2003)*

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la SCA2 se relacionan con el síndrome cerebeloso, presentado en forma de ataxia de la marcha, dismetría, disartria cerebelosa y adiadococinesia (*Velázquez-Pérez y col., 2009a*).

Otra de las manifestaciones más comunes de la SCA2 son los trastornos del sueño y las alteraciones en las funciones cognitivas, con disfunción fronto ejecutiva, alteraciones de memoria verbal, la atención y la concentración (*Velázquez-Pérez y col., 2011*)

La caracterización más detallada de la fase presintomática de la SCA2 proviene de una extensa y homogénea población de portadores de la mutación SCA2 cubanos. Este estudio demostró la correlación entre el tamaño de mutación y la aparición de algunas de estas alteraciones tempranas no motoras (*Velázquez-Pérez y col., 2010; Sánchez-Cruz G., 2012*).

Los principales hallazgos clínicos de los portadores de la mutación fueron contracturas musculares dolorosas, síntomas sensoriales, alteraciones antisacádicas, trastornos del sueño, hiperreflexia, así como manifestaciones disautónomas, tales como polaquiuria, nicturia, constipación y disfagia ocasional. Las alteraciones cognitivas incluyeron déficits tempranos de las funciones fronto-ejecutivas y de la memoria visual, lo que sugiere una degeneración temprana de regiones prefrontales específicas y/o la participación de las vías fronto-ponto-cerebelosas y fronto-basales (*Velázquez-Pérez y col., 2010*).

Autores como (*Velázquez-Pérez y col., 2009*) reportaron que los elevados niveles de expresión de la ataxina -2 a nivel de la corteza cerebral podría interferir en el correcto funcionamiento cortical desde estadios tempranos, lo que pudiera explicar los daños cognitivos asociados con la SCA2 y las alteraciones encontradas en el electroencefalograma, estos resultados caracterizan la disfunción que provoca el gen SCA2 sobre la corteza cerebral y es un marcador de daño cognitivo.

Por otro lado, los estudios de neuroimagen funcional y electrofisiológicos han identificado una red compleja de regiones cerebrales involucradas en la generación de las antisácadas, que se ven afectada en estos pacientes desde

estadios preclínicos. Estas redes incluyen la corteza prefrontal dorsolateral, los campos oculares frontal, suplementario y parietal, así como el colículo superior, el estriado, el tallo cerebral, el cerebelo y el tálamo. (Rodríguez-Labrada y col., 2014; Velázquez-Pérez y col., 2003)

En los últimos años, la perspectiva del funcionamiento del cerebro ha variado desde la visión frenológica, en la que cada función está asociada con un área cerebral, hasta una visión integradora, en que la función cerebral se lleva a cabo mediante la comunicación entre distintas regiones. (Zhou J y col., 2012)

En este sentido se han desarrollado múltiples modelos para la evaluación de los patrones de conectividad funcional. El estudio de la conectividad funcional permite descubrir diferentes aspectos del funcionamiento del cerebro humano, como por ejemplo: cómo se organizan las conexiones, si siguen algún criterio de optimización, eficiencia o robustez ante la presencia de algún daño; si existen nodos más importantes que otros; o qué tan eficiente es la transmisión de la información (Bullmore., 2009).

La conectividad funcional se refiere al grado con el cual la actividad en un área se correlaciona con la actividad de otra área, o la sincronización temporal de activación de dos áreas cerebrales durante la realización de una tarea o en estado de reposo (Quiroga -R., 2002). Con ella se mide la interdependencia estadística entre la dinámica de todos los pares de los nodos de la red sin tener en cuenta los efectos causales. De esta manera, el peso de las conexiones funcionales entre dos regiones cerebrales dependerá únicamente de la correlación en la actividad entre dichas regiones. (Stam-C.J., 2002)

Entre los métodos más empleados para estimar la conectividad cerebral funcional a partir de los datos neurofisiológicos de los registros de electroencefalografía se encuentran la sincronización generalizada (del inglés GS, Generalized Synchronization). (Niso-G y col., 2013) y entre ellos, la probabilidad de sincronización (del inglés "Synchronization Likelihood" (SL)) un algoritmo, que nos proporciona información, tanto de la parte lineal como de la no lineal de una serie

temporal estudiada, lo que la convierte dentro de este grupo en uno de los métodos más utilizados en este tipo de estudios.

Otro método empleado en es estudio de conectividad funcional derivada del EEG es la teoría de Grafos; conjunto de herramientas que permiten describir y caracterizar las propiedades intrínsecas de la topología de una red funcional a nivel de conectividad local (segregación) y global (integración) y se basa en el estudio de las propiedades de las estructuras matemáticas llamadas grafos, que consisten en un conjunto de objetos (nodos) conectados por alguna relación formal (enlaces). (S B., 2012)

### **Problema científico:**

Dada la existencia de alteraciones en las funciones cognitivas, con disfunción fronto-ejecutiva, alteraciones de memoria verbal, la atención y la concentración presente en los sujetos con SCA2 desde estadios preclínicos y la existencia de reportes en la literatura acerca de alteraciones electroencefalográficas como resultado de los efectos tóxicos de la ataxina-2 en su estado patológico expresada en numerosas regiones de la corteza cerebral.

**¿Existen alteraciones en los patrones de conectividad funcional derivada del EEG en los enfermos y presintomáticos de la SCA2 y estos se relacionan con la expansión poliglutamínica y las alteraciones cognitivas?**

La **novedad científica** de este trabajo radica en los siguientes aspectos:

- Identificar las alteraciones de los patrones de conectividad funcional en una amplia muestra de sujetos enfermos y presintomáticos de la SCA2 y posibles diferencias entre los mismos.
- Se demostrará que la expansión del trinucleótido CAG y las alteraciones cognitivas pudieran estar en relación directa con las alteraciones encontradas en los patrones de conectividad funcional.

El **aporte teórico** de este estudio radica en la ampliación del conocimiento sobre los patrones de conectividad funcional en las enfermedades neurodegenerativas (SCA2) abordándolas desde estadios preclínicos y avanzados de la enfermedad.

Se estimará la relación existente entre las alteraciones en la conectividad funcional y la expansión poliglutamínica y las alteraciones cognitivas como expresión subclínica del daño degenerativo que sufren estos individuos en etapas tempranas.

El **aporte práctico** de esta investigación estará dado en la identificación de nuevos parámetros objetivos que pudieran servir como biomarcadores preclínicos cuya utilidad, en el diagnóstico temprano de la enfermedad y el pronóstico de su inicio, pudiera ser apreciable.

Estos resultados complementarán el Programa de Diagnóstico Predictivo de la SCA2, pues permitirán abordar con mayor objetividad las dudas en relación al inicio de su enfermedad y la evolución de la misma.

## **OBJETIVOS**

### **General:**

- Determinar los patrones de conectividad funcional derivada del Electroencefalograma en estado de reposo en sujetos enfermos y presintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 y su posible relación con la expansión poliglutamínica y las alteraciones cognitivas.

### **Específicos**

1. Describir los patrones de conectividad funcional general según la medida “probabilidad de sincronización” y las características topológicas de la red mediante la teoría de grafos.
2. Evaluar la relación entre los patrones de conectividad funcional general y las características topológicas de la red con el tamaño de la expansión poliglutamínica y las alteraciones cognitivas.
3. Identificar las diferencias entre los patrones de conectividad funcional general y las características topológicas de la red entre enfermos y presintomáticos de la SCA2.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Diseño metodológico.**

Se realizará un estudio observacional descriptivo prospectivo.

La investigación se realizará en el Centro para la Investigación y Rehabilitación de las Ataxias Hereditarias (CIRAH), durante el periodo de Mayo 2018 a Mayo del 2019.



## Universo de estudio

El universo estará conformado por todos los sujetos con diagnóstico de SCA2, pertenecientes al programa de evaluación del CIRAH.

## Criterios de selección:

### Criterios de inclusión.

1. Pacientes mayores de 18 años de edad.
2. Pacientes que den su consentimiento informado para formar parte de la investigación.

### Criterios de exclusión.

1. Pacientes que presenten otras enfermedades neurológicas, hábitos tóxicos o consumo de fármacos (barbitúricos, melatonina, antipsicóticos, antidepressivos, benzodiazepinas, Antiepilépticos) que afecten la actividad eléctrica cerebral.
2. No cooperación durante los registros de EEG y/o registros de EEG con artefactos que dificulten la evaluación.

## Muestra:

Se considerarán **enfermos** a todos los individuos que presentaban trastornos de la marcha, la coordinación, el equilibrio y/o el habla y portaban la mutación SCA2.

Se considerarán **presintomáticos** a aquellos individuos con 32 o más repeticiones del trinucleótido CAG en al menos uno de los dos alelos del gen ATXN2, pero que no presentaban ataxia de la marcha, trastornos de la coordinación, del equilibrio y/o del habla

Se utilizará un grupo de sujetos controles pareados por género y edad con el grupo de portadores de la mutación.

## Operacionalización de las variables:

Variable	Clasificación y significado
<b>Variables demográficas y clínicas.</b>	

Género	Variable cualitativa nominal dicotómica que se clasificó en masculino o femenino según el examen físico de las características anatómicas externas.
Edad	Variable cuantitativa discreta que consiste en el tiempo transcurrido desde el nacimiento del individuo hasta el momento del estudio. Se expresará en años.
Alteración en las funciones cognitivas	Variable cuantitativa discreta definida según la puntuación obtenida en el Mini Mental State Examination de Folstein(MMSE)
Tamaño de la expansión poliglutamínica	Variable cuantitativa discreta definida como la cantidad de repeticiones del triplete CAG en los alelos ATXN2 expandidos.

**Variables independientes:** edad, sexo, tamaño de la expansión poliglutamínica y alteración en las funciones cognitivas.

**Variables dependientes:** clusterización, conectividad global, longitud del camino, eficiencia local y la eficiencia global para cada banda de frecuencia.

**Recolección de los datos:**

Los electroencefalogramas se realizarán de manera continua, durante su registro el sujeto se sentará o acostará cómodamente en una habitación aislada de ruido ambiental, en condición de reposo (ojos cerrados pero en vigilia en un tiempo aproximado de 15 minutos). Se utilizará el equipo MEDICID V Amplifier System Neuronic, Cuba, con filtros entre 0.1-70 Hz, a una frecuencia de muestreo de 200 Hz.

Se procederá a colocar 19 electrodos activos de oro sobre el cuero cabelludo: Fp1, Fp2, F7, F8, F3, F4, C3, C4, T5, T6, T3, T4, P3, P4, O1, O2, Fz, Cz, Pz, según el sistema internacional 10/20).

La referencia se colocará en orejas cortocircuitadas. La impedancia se mantendrá por debajo de 10 KOhm.

A los pacientes se les indicará asistir a la consulta con el cuero cabelludo libre de grasa e impurezas. Se limpiará antes de registrar la zona correspondiente a los electrodos con gel abrasivo y alcohol, fijándose los mismos con pasta conductora.

### **Análisis de los datos:**

#### **Procedimiento para el cálculo de la conectividad funcional:**

La conectividad funcional de la señal de EEG será evaluada a partir de la probabilidad de sincronización, medida de interdependencia estadística entre canales de EEG. Este algoritmo que está basado en amplitud y frecuencia de la señal, nos proporciona información, tanto de la parte lineal como de la no lineal de la serie temporal estudiada. (Stam CJ.,2009)

En los segmentos que serán seleccionados se calculará la probabilidad de sincronización entre los electrodos.

Considerando 2 señales de EEG provenientes de diferentes electrodos localizados sobre el cuero cabelludo como 2 simultáneas series de tiempo de registro E1 y E2, la probabilidad de sincronización (PS) o “synchronization likelihood” como se le conoce en inglés, es definida como la probabilidad condicional de que E2 está en un mismo estado en dos diferentes puntos de tiempo  $i$  y  $j$  dado que E1 está en el mismo estado, en los mismos dos puntos en el tiempo. Por tanto, PS denota cuán bien sincronizados o no están E1 y E2. (Stam et al., 2002)

Se determinarán para las cuatro bandas de frecuencia Alfa, Beta, Theta y Delta. Se tomarán como rango para el análisis de frecuencias: Alfa 8-12 Hz, Beta 13-20 Hz, Theta 4-7 Hz y Delta 1-4 Hz.

Los valores de PS están en un rango entre 1 (indicando mayor sincronización) y valores cercanos a 0 (indicando menor sincronización).

**Para la cuantificación topológica de la teoría de grafos: los parámetros que se evaluaron fueron:**

- El coeficiente de clusterización (integración local): proporción de conexiones entre los vecinos más cercanos relativos al máximo número de conexiones posibles.
- Conectividad global: conectividad global de cada canal con el resto.
- Longitud del camino medio: mínimo número de aristas que deben transcurrir de un nodo a otro. Refleja la eficiencia de comunicación en una red.
- Eficiencia local: refleja cuan conectados están los nodos vecinos (sub-red local).
- Eficiencia global: refleja cuan conectado está cualquier par de nodos.

*(Bullmore E., 2009)*

Para la realización de estos análisis se utilizará una programación implementada en Matlab R2017a.

### **Examen de las funciones cognitivas.**

Para la evaluación de las funciones ejecutivas se aplicará el Minimental Test of Folstein (**Anexo 1**).

### **Análisis estadístico:**

Para establecer las diferencias entre las matrices de sincronización de los sujetos enfermos y presintomáticos se aplicará un Test de Permutaciones implementado en Matlab. Para el análisis de las diferencias entre los grupos en relación con variables categóricas se utilizó el T-test para muestras independientes. El valor de significación se estableció  $p < 0.05$  en todos los casos.

### **Parámetros éticos**

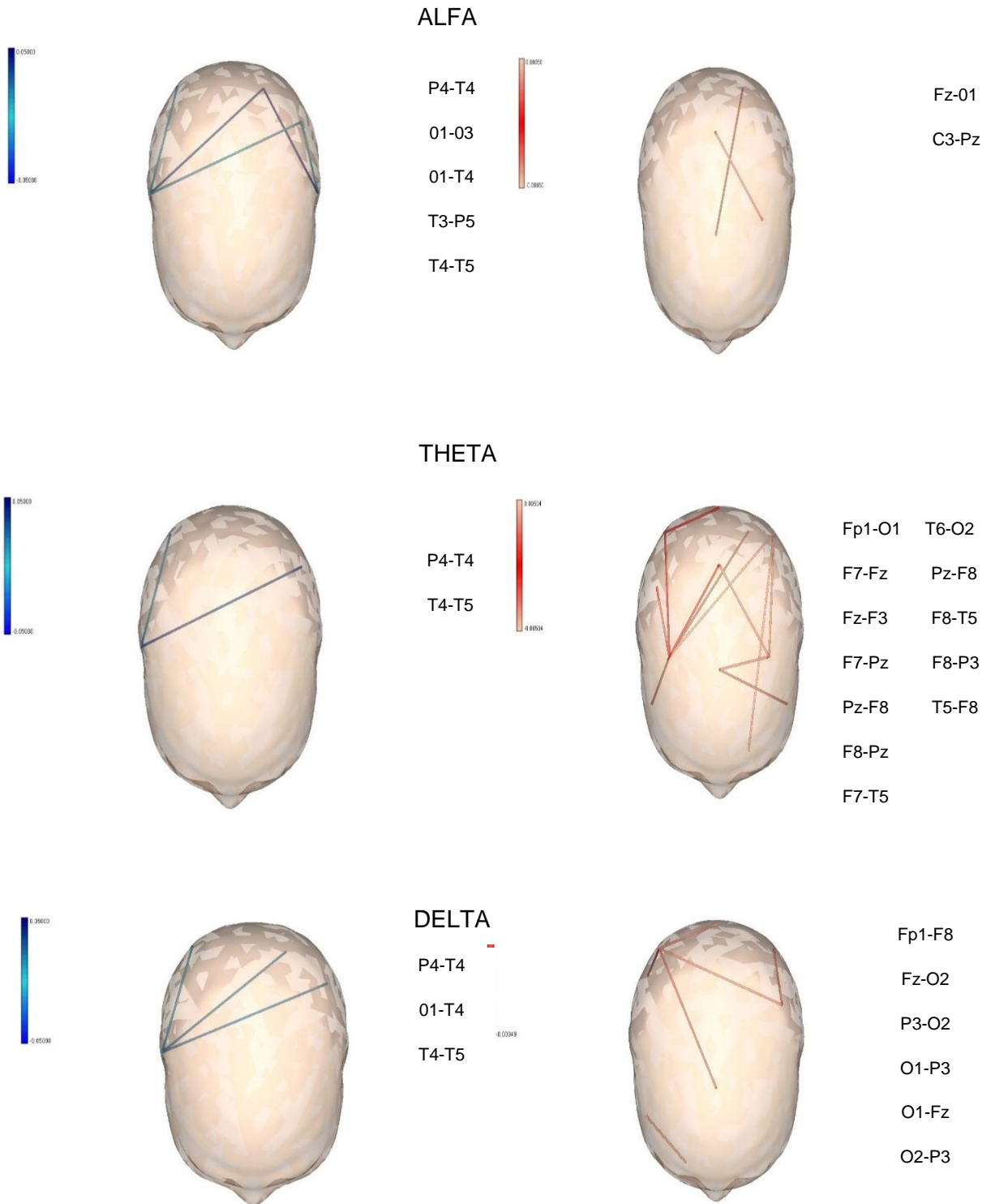
Para la realización del presente estudio, se solicitó la evaluación y aprobación del Comité de Ética del Centro para la investigación y la rehabilitación de las ataxias hereditarias (CIRAH). Así como el consentimiento informado de cada sujeto que participara en el estudio (**Anexo-2**).

**RESULTADOS PRELIMINARES:**

**Figura # 1** Conexiones estadísticamente significativas para sujetos Enfermos (**E vs P**) y presintomáticos (**P vs E**) por bandas de frecuencia.

P vs E

E vs P



La **Figura # 1** muestra la cantidad de conexiones estadísticamente significativas para los dos grupos enfermos (**E**) y presintomáticos (**P**) en las frecuencias alfa, delta y theta. La barra de colores representa los valores de significación estadística del test de permutaciones menores de 0.05.

En la misma se observa una mayor significación estadística en los valores de sincronización para la banda de frecuencia alfa en el grupo **P vs E** en las regiones parieto-temporo-occipitales, en comparación con el grupo **E vs P** y a su vez este mostró un incremento de la sincronización en las bandas más lentas delta-theta, siendo la banda theta la que presentó mayor nivel de significación estadístico, en todo el cuadrante posterior, línea media y regiones frontales. Sin conexiones estadísticamente significativas para la frecuencia beta.

En la literatura revisada no encontramos artículos que abordaran la conectividad de esta forma (derivada de EEG), en sujetos con SCA2, todos hacen referencia a la conectividad funcional derivada de la neuroimagen.

Según (*Velázquez-Perez L., 2012*) los sujetos enfermos con SCA2 pueden presentar actividad electroencefalográfica lenta tipo theta difusa poco reactiva a la apertura de los ojos, que se traduce como un índice de disfunción cerebral, posiblemente por alteraciones metabólicas y neuroquímicas, generadas por el efecto de la ataxina 2 mutada, que es mayor según el tamaño de la expansión poliglutamínica, y el tiempo de evolución de la enfermedad, lo que pudiera estar en relación con el incremento en la probabilidad de sincronización para las bandas lentas más marcado en los sujetos enfermos.

El enlentecimiento del ritmo básico posterior es un patrón frecuente en la enfermedades neurodegenerativas, pero no es específico de ninguna de ellas (*Pijnenburg y col., 2004*), las causas que provocan este enlentecimiento, que varían según la enfermedad, pudieran ser las mismas que repercuten sobre los patrones de conectividad funcional que presentan ambos grupos y en el caso de los presintomáticos pudiera estar en relación con cambios degenerativos precoces,

debido al efecto acumulativo de la ataxina 2 expandida a nivel de la corteza cerebral.

En los mapas de actividad eléctrica cerebral (QEEG) se observa un incremento del poder absoluto y relativo para la banda theta, mientras que hay una reducción estadísticamente significativa del poder relativo alfa, con una disminución de la frecuencia media total (Velázquez-Perez L., 2012, estos resultados sirven de base para una posible explicación a nuestros hallazgos en ambos grupos.

**Tabla # 2:** Propiedades de redes según teoría de Grafos en enfermos y presintomáticos de la SCA2. CIRAH Junio 2018.

Propiedades de redes	P (n= 6)	E (n= 6)
	p-value	
Longitud del Camino Alfa		0.085
Clusterización Alfa		0.780
Conectividad Global Alfa		0.094
Eficiencia Local Alfa		0.582
Eficiencia Global Alfa		0.009
Longitud del Camino Beta		0.290
Clusterización Beta		0.513
Conectividad Global Beta		0.068
Eficiencia Local Beta		0.235
Eficiencia Global Beta		0.963
Longitud del Camino Theta		0.003
Clusterización Theta		0.000
Conectividad Global Theta		0.001
Eficiencia Local Theta		0.406
Eficiencia Global Theta		0.002
Longitud del Camino Delta		0.019
Clusterización Delta		0.027
Conectividad Global Delta		0.013

<b>Eficiencia Global Delta</b>	<b>0.023</b>
<b>Eficiencia Local Delta</b>	<b>0.176</b>

### T-test for Independent Samples

La **tabla 2** nos muestra las propiedades topológicas de redes según la teoría de grafos, en la misma se puede apreciar que existieron diferencias significativas para la longitud del camino, clusterización, conectividad global, y eficiencia global en la frecuencia theta.

Para la frecuencia delta también se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros excepto en la eficiencia local. En las frecuencias restantes no existieron diferencias significativas estadísticamente.

La interpretación que daría la teoría de grafo a este resultado es que existen conexiones entre los vecinos más cercanos (regiones más cercanas), que se encuentran bien conectados los nodos vecinos (sub-red local), y que lo hacen mediante conexiones muy eficientes, (*Bullmore E., 2009*), hasta la fecha no existen reporte de que la actividad lenta en un individuo sano en estado de reposo sea normal, lo que nos sugiere que estas características topológicas que son diferentes para cada grupo puede ser el resultado del proceso neurodegenerativo subyacente.

La teoría de redes es especialmente adecuada para el estudio de la función cerebral, puesto que nuestro cerebro contiene cerca de  $10^{14}$  sinapsis neuronales, y esta enorme cantidad de conexiones proporciona un entorno ideal para que distintos grupos de neuronas se sincronicen transitoria o permanentemente y provoquen la aparición de funciones cognitivas, como la percepción, el aprendizaje, la memoria, el lenguaje o el pensamiento. (*Stam C.J., 2012*)

Los diferentes procesos cognitivos se rigen por un conjunto de redes funcionales que conllevan a la interacción entre diferentes regiones cerebrales, y que la alteración de estas conexiones conllevaría al mal funcionamiento de estos procesos cognitivos, y a otras alteraciones secundarias (*Hernández-Castillo., 2015*).



En los pacientes enfermos y presintomáticos de la SCA2, se ha demostrado la existencia de alteraciones cognitivas que incluyen déficits tempranos de las funciones fronto-ejecutivas y de la memoria visual, lo que sugiere una degeneración temprana de regiones prefrontales específicas. (Rodríguez-Labrada y col., 2014; Velázquez-Pérez y col., 2003). Por otro lado, los estudios de neuroimagen funcional y electrofisiológicos han identificado una red compleja de regiones cerebrales involucradas en la generación de las antisácadas, que se ven afectada en estos pacientes desde estadios preclínicos, estas redes incluyen la corteza prefrontal y parietal, el tallo cerebral y el tálamo. En el caso de los presintomáticos, dichas anomalías cognitivas son una evidencia de manifestaciones tempranas de la mutación SCA2, por lo tanto estas alteraciones en las propiedades topológicas de redes pudieran ser evidencia de ese daño precoz que se produce en estos pacientes.

## **CONCIUSIONES:**

- Los pacientes presintomáticos de la Ataxia Espinocerebelosa tipo 2 muestran patrones de conectividad funcional general más débiles para la frecuencia alfa y más fuerte para la theta y delta que los pacientes enfermos.
- Las propiedades intrínsecas de las redes funcionales evaluadas mostraron patrones diferentes entre ambos grupos en las bandas más lentas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Auburger GW. Spinocerebellar ataxia type 2. *Handb Clin Neurol* (2012) 103:423–36. doi:10.1016/B978-0-444-51892-7.00026-7
- Brown, M.R., Vilis, T., & Everling, S., 2007. Frontoparietal activation with preparation for antisaccades. *Journal of Neurophysiology*, 98(3), 1751-1762.
- Bullmore E. aSO. Complex brain networks: graph theoretical analysis of structural and functional systems. . *Nature reviews Neuroscience*. 2009;10: 186-98.
- Niso G., Bruña R., Pereda E., Gutiérrez R., Bajo R., Maestú F., et al: HERMES: towards an integrated toolbox to characterize functional and effective brain connectivity. *Neuroinformatics* 2013; 11: pp. 405-4
- Pijnenburg, Y. vd Madeb, A.M. van Cappellen van Walsumb, D.L. Knol, Ph. Scheltensa, C.J. Stam. EEG synchronization likelihood in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease during a working memory task. *Clinical Neurophysiology* 115 (2004) 1332–1339.
- Hernandez-Castillo CR, Galvez V, Mercadillo RE, Díaz R, Yescas P, Martinez L, et al. Functional connectivity changes related to cognitive and motor performance in spinocerebellar ataxia type 2. *Mov Disord* (2015) 30(10):1391–9. doi:10.1002/mds.26320
- Rodríguez-Labrada R, Velázquez-Perez L, Seifried-Oberschmidt C et al. Executive deficit in spinocerebellar ataxia type 2 is related to expanded CAG repeats: evidence from antisaccadic eye movements. *Brain Cogn* (2014) 91:28–34. doi: 10.1016/j.bandc.2014.07.007.

- Stam C.J., and van Dijk B.W.: Synchronization likelihood: an unbiased measure of generalized synchronization in multivariate data sets. *Phys D* 2002; 163: pp. 236-251
- Stam C.J., E.C.W. van Straaten. The organization of physiological brain networks. *Clinical Neurophysiology* 123 (2012) 1067–1087
- S. B. Inferring complex networks from time series of dynamical systems: pitfalls, misinterpretations, and possible solutions. PhD Thesis arXiv 2012(1208.0800.).
- Sánchez-Cruz G. Caracterización clínico-epidemiológica de enfermos y descendientes con riesgo de ataxia Espinocerebelosa tipo 2 en Cuba [Tesis]. Santiago de Cuba: Universidad Médica de Santiago de Cuba; 2012.
- Velázquez L, Sánchez G et al. *Rest Neur Neurosc* 21 (6), 273, (Abstract) (2003).
- Velazquez-Perez L, Cruz GS, Santos Falcon N, et al. Molecular epidemiology of spinocerebellar ataxias in Cuba: insights into SCA2 founder effect in Holguin. *Neurosci Lett* (2009) 454(2):157–60. doi: 10.1016/j.neulet.2009.03.015
- Velázquez-Perez L, Rodríguez-Labrada R, Canales-Ochoa N, et al. Progression markers of Spinocerebellar ataxia 2. A twenty years neurophysiological follow up study. *J Neurol Sci.* 2010; 290:22-6.
- Velázquez-Pérez L, Voss U, Rodríguez-Labrada R, Auburger G, Canales Ochoa N, Sánchez Cruz G y col. Sleep Disorders in Spinocerebellar Ataxia Type 2 Patients. *Neurodegener Dis.* 2011; 8:447-54

- Velazquez-Perez L. Ataxia Espinocerebelosa tipo 2. Diagnóstico, pronóstico y evolución. 3ed-La Habana: editorial Ciencia Médicas 2012a. pág. 94-95.
- Velázquez-Pérez LC, Rodríguez-Labrada R and Fernandez-Ruiz J (2017) Spinocerebellar Ataxia Type 2: Clinicogenetic Aspects, Mechanistic Insights, and Management Approaches. *Front. Neurol.* 8:472. doi: 10.3389/fneur.2017.00472
- Zhou J, Gennatas ED, Kramer JH, Miller BL, Seeley WW. Predicting regional neurodegeneration from the healthy brain functional connectome. *Neuron.* (2012); 73:1216–1227.
- Quiroga R.Q., Kraskov A., Kreuz T., and Grassberger P.: Performance of different synchronization measures in real data: A case study on electroencephalographic signals. *Phys Rev E* 2002; 65: pp. 1-14
- Dierssen M.: El cerebro en cifras. In Dierssen M. (eds): Viaje al universo neuronal. Madrid: Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, 2007. pp. 12-18.
- Zhou J, Gennatas ED, Kramer JH, Miller BL, Seeley WW. Predicting regional neurodegeneration from the healthy brain functional connectome. *Neuron.* (2012); 73:1216–1227.

## Anexo 1

### Mini Mental State Examination de Folstein (MMSE)

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Fecha nacimiento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Fecha del estudio: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_

Grado escolar: \_\_\_\_\_

ocupación: \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_

<b>Orientación temporal: ___/5 puntos</b>				
¿En qué año estamos? 0_ 1_		¿En qué estación estamos? 0_ 1_		
¿En qué día estamos? (fecha) 0_ 1_		¿En qué mes estamos? 0_ 1_		
¿En qué día de la semana estamos? 0_ 1_				
<b>Orientación espacial: ___/5 puntos</b>				
¿En qué hospital (lugar) estamos? 0_ 1_		¿En qué sala estamos? 0_ 1_		
¿En qué pueblo o ciudad estamos? 0_ 1_		¿En qué provincia estamos? 0_ 1_		
¿En qué país estamos? 0_ 1_				
<b>Fijación-Recuerdo inmediato <sup>1</sup>: ___/3 puntos</b>				
Peseta 0_ 1_		Caballo 0_ 1_		Manzana 0_ 1_
<b>Atención-Cálculo <sup>2</sup>: ___/5 puntos</b>				
30 (O) 0_ 1_	27 (D) 0_ 1_	24 (N) 0_ 1_	21 (U) 0_ 1_	18 (M) 0_ 1_
<b>Recuerdo diferido <sup>3</sup>: ___/3 puntos</b>				
Peseta 0_ 1_		Caballo 0_ 1_		Manzana 0_ 1_
<b>Lenguaje: ___/9 puntos</b>				
Denominar <sup>4</sup> : Lápiz 0_ 1_		Denominar <sup>4</sup> : Reloj 0_ 1_		Repetición <sup>5</sup> 0_ 1_ 178
Orden <sup>6</sup> : coger un papel con la mano derecha 0_ 1_		Orden <sup>6</sup> : doblarlo por la mitad 0_ 1_		Orden <sup>6</sup> : ponerlo en el piso 0_ 1_
Lectura <sup>7</sup> 0_ 1_		Escritura <sup>8</sup> 0_ 1_		Copia de dibujo <sup>9</sup> 0_ 1_
<b>TOTAL: ___/30 PUNTOS</b>				
<b>Orientación temporal: ___/5 puntos</b>				
¿En qué año estamos? 0_ 1_		¿En qué estación estamos? 0_ 1_		

¿En qué día estamos? (fecha) 0_ 1_		¿En qué mes estamos? 0_ 1_	
¿En qué día de la semana estamos? 0_ 1_			
<b>Orientación espacial: ___/5 puntos</b>			
¿En qué hospital (lugar) estamos? 0_ 1_		¿En qué sala estamos? 0_ 1_	
¿En qué pueblo o ciudad estamos? 0_ 1_		¿En qué provincia estamos? 0_ 1_	
¿En qué país estamos? 0_ 1_			
<b>Fijación-Recuerdo inmediato <sup>1</sup>: ___/3 puntos</b>			
Peseta 0_ 1_	Caballo 0_ 1_	Manzana 0_ 1_	
<b>Atención-Cálculo <sup>2</sup>: ___/5 puntos</b>			
30 (O) 0_ 1_	27 (D) 0_ 1_	24 (N) 0_ 1_	21 (U) 0_ 1_
			18 (M) 0_ 1_
<b>Recuerdo diferido <sup>3</sup>: ___/3 puntos</b>			
Peseta 0_ 1_	Caballo 0_ 1_	Manzana 0_ 1_	
<b>Lenguaje: ___/9 puntos</b>			
Denominar <sup>4</sup> : Lápiz 0_ 1_	Denominar <sup>4</sup> : Reloj 0_ 1_	Repetición <sup>5</sup> 0_ 1_	
Orden <sup>6</sup> : coger un papel con la mano derecha 0_ 1_	Orden <sup>6</sup> : doblarlo por la mitad 0_ 1_	Orden <sup>6</sup> : ponerlo en el piso 0_ 1_	
Lectura <sup>7</sup> 0_ 1_	Escritura <sup>8</sup> 0_ 1_	Copia de dibujo <sup>9</sup> 0_ 1_	
<b>TOTAL: ___/30 PUNTOS</b>			

<sup>1</sup> Fijación-Recuerdo inmediato: el examinador repite tres palabras (peseta-caballo-manzana, o balón-bandera-árbol) a razón de una por segundo. Luego se le pide al paciente que la repita; esta primera repetición otorga la puntuación, un punto por cada palabra correcta, independientemente del orden en que las repita. Se continúa ejecutándose hasta que el paciente repita las tres palabras, con un máximo de seis intentos.

<sup>2</sup> Atención-Cálculo: se le pregunta que si tiene 30 pesos y me va dando de tres en tres, ¿cuántos le van quedando? La prueba se detiene a la quinta sustracción. Si el paciente no puede realizar la prueba se le pide que deletree la palabra MUNDO

al revés. Por cada respuesta correcta se le da un punto.

- <sup>3</sup> Recuerdo diferido: preguntarle por las tres palabras repetidas anteriormente, otorgándole un punto por cada una de ellas, independientemente del orden en que las repita.
- <sup>4</sup> Denominación: mostrarle un objeto y pedirle que lo denomine, y posteriormente se repite el examen con otro objeto común ((lápiz, reloj u otros).
- <sup>5</sup> Repetición: pedirle que repita una frase (“En un trigal habían cinco perros”, o “Ni sí, ni no, ni pero”).
- <sup>6</sup> Órdenes: se le muestra una hoja de papel y se le ordena que cumpla estrictamente la indicación suya. “Cójalo con la mano derecha, dóblelo por la mitad y póngalo en el piso”. Se le dará un punto por cada ejecución correcta.
- <sup>7</sup> Lectura: se le pide que cumpla lo que leerá en una tarjeta que se le mostrará. En la misma aparecerá escrito legiblemente “CIERRE LOS OJOS”.
- <sup>8</sup> Escritura: se le pide que escriba una frase (debe contener sujeto y predicado).
- <sup>9</sup> Copia de dibujo: se le mostrará durante 10 segundos una tarjeta con dos pentágonos interceptados. Se le pedirá que lo dibuje. Para otorgarle el punto, deberá dibujar los 10 ángulos y la intersección.

**Nota:** Para la evaluación se otorgará un punto por cada respuesta correcta. La puntuación total máxima es 30 puntos. Excluimos las preguntas que se hallan eliminado, básicamente por analfabetismo o por imposibilidad física de cumplir un ítem (por ejemplo: ceguera). Entonces calculamos la puntuación total corregida: la obtenida por regla de tres después de ajustar la puntuación total. Por ejemplo, si el paciente es ciego y no puede acceder a 4 de los 30 puntos posibles, la puntuación final se calculará sobre los 26 puntos posibles. Imaginemos que la puntuación total ha sido 20, aplicando la corrección obtenemos una puntuación  $(20 \times 30 / 26)$  de 23.07 (redondearemos al número entero más próximo, en este caso 23).



## Anexo 2.

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo \_\_\_\_\_,  
estoy de acuerdo en participar en el proyecto de investigación. Estos resultados no serán diagnósticos sino investigativos para contribuir al conocimiento de la enfermedad que padezco, los resultados serán de carácter confidencial. Por las informaciones que se me han dado, sé que las pruebas que se me realizarán no representan ningún peligro para mi salud. Los resultados de este estudio pueden ser publicados, pero no mi identidad.

Mi participación es voluntaria, si abandonó la investigación esto no repercutirá en la asistencia médica que recibo por parte de los especialistas del CIRAH.

Fecha: \_\_\_\_\_ Lugar: \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_

Participante: \_\_\_\_\_

Testigo: \_\_\_\_\_