AUGUSTO ELIAS MAMERE

**Avaliação do dano neuronal e axonal tardio, secundário ao
traumatismo craniencefálico moderado e grave, por
técnicas quantitativas em ressonância magnética.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas.

Área de concentração: Neurologia

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos

RIBEIRÃO PRETO

2005

Folha de aprovação

Augusto Elias Mamere

Avaliação do dano neuronal e axonal tardio, secundário ao traumatismo craniencefálico moderado e grave, por técnicas quantitativas em ressonância magnética.

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo para obtenção do título de Mestre
em Ciências Médicas.
Área de concentração: Neurologia

Aprovado em:

Banca examinadora:

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatórias

À Tatiana, minha esposa, por seu amor, carinho e compreensão, e por manifestar admirável apoio durante a elaboração deste trabalho.

À Esther, minha filha, fonte das minhas alegrias e energias, que me encorajam a vencer as dificuldades e os desafios.

Aos meus pais e irmãos, que me incentivaram e tornaram possível a minha formação profissional, e que, também, sempre me dedicaram carinho e amparo.

Agradecimento especial

Ao **Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos**, por sua amizade, paciência e ensinamentos, que tornaram possível a conclusão deste trabalho, e por seu espírito científico e inovador, que me incentivaram a desenvolver o meu conhecimento em pesquisa. Por tudo isto, gostaria de exprimir minha imensa gratidão e estima.

Agradecimentos

A

Abigail Martins de Oliveira;

Antônio Adilton O. Carneiro;

Aparecida Elisabete Gomes Sartori;

Crisleine Aparecida Gonçalves;

Luciano Albuquerque Lima Saraiva;

Reginaldo Ferreira Chagas;

Rita de Fátima Approbato;

Sandra Mara Moroti e

Wélton de Sousa Lima.

Manifesto a todos o meu sincero reconhecimento e a minha gratidão pelo auxílio e apoio dedicados, sem os quais não seria possível a execução deste trabalho.

Agradecimentos

Aos professores e amigos do Centro das Ciências das Imagens e Física Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, a quem devo a minha formação profissional.

Profa. Dra. Ângela Delete Bellucci;

Prof. Dr. Clóvis Simão Trad;

Prof. Dr. Jorge Elias Júnior;

Prof. Dr. Paulo Mazzoncini de Azevedo Marques e

Prof. Dr. Valdair Francisco Muglia.

Sumário

Resumo

Abstract

Lista de siglas e abreviaturas

Índice das figuras

Índice das tabelas

1. Introdução e revisão bibliográfica.....	20
1.1. Volumetria e Índices ventrículo-cerebrais.....	25
1.2. Transferência de magnetização (MT).....	29
1.3. Relaxometria.....	33
1.4. Seqüência ponderada em difusão.....	36
1.5. Espectroscopia de prótons por ressonância magnética.....	40
2. Objetivo.....	49
3. Material.....	51
3.1. Critérios de inclusão de pacientes (grupo teste).....	52
3.2. Critérios de exclusão de pacientes (grupo teste).....	52
3.3. Critérios de exclusão do grupo controle.....	54
3.4. Descrição demográfica da amostra.....	55
4. Métodos.....	58
4.1. Protocolo das aquisições das seqüências e imagens por RM.....	59
4.1.1. Seqüência FLAIR.....	59
4.1.2. Seqüências para cálculo do MTR.....	60
4.1.3. Seqüência para a relaxometria.....	60
4.1.4. Seqüência ponderada em difusão.....	60
4.1.5. Seqüência para espectroscopia de prótons.....	61

4.2.	Protocolo de pós-processamento.....	62
4.2.1.	Índices ventrículo-cerebrais.....	62
4.2.2.	Espectroscopia e índices metabólicos.....	64
4.2.3.	Tempo de relaxação T2 (relaxometria).....	66
4.2.4.	Mapa do coeficiente de difusão aparente.....	68
4.2.5.	Índice de transferência de magnetização.....	69
5.	Análise Estatística.....	71
6.	Resultados.....	73
6.1.	Avaliação qualitativa das imagens convencionais de RM.....	74
6.2.	Índices ventrículo-cerebrais.....	76
6.3.	Tempo de relaxação T2 (relaxometria).....	77
6.4.	Coeficiente de difusão aparente (ADC).....	79
6.5.	Índice de transferência de magnetização (MTR).....	80
6.6.	Índice metabólico NAA/Cre.....	82
6.7.	Índice metabólico Cho/Cre.....	83
7.	Discussão.....	85
7.1.	Índices ventrículo-cerebrais.....	87
7.2.	Relaxometria T2.....	89
7.3.	Índice de transferência de magnetização (MTR).....	90
7.4.	Coeficiente de difusão aparente (ADC).....	92
7.5.	Espectroscopia e índices metabólicos NAA/Cre e Cho/Cre.....	94
8.	Conclusões.....	100
	Referências.....	103
	Glossário.....	117
	Anexos.....	119

Resumo

MAMERE, A. E. **Avaliação do dano neuronal e axonal tardio, secundário ao traumatismo craniencefálico moderado e grave, por técnicas quantitativas em ressonância magnética.** 2005. 130 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

O traumatismo craniencefálico (TCE) fechado é, classicamente, um modelo de lesão neuronal e axonal monofásica, onde a destruição do parênquima, incluindo neurônios e células gliais, ocorre principalmente no momento do trauma, seguida pela degeneração Walleriana anterógrada e retrógrada nos dias subseqüentes. Há evidências de progressão da perda neuronal e axonal na fase tardia após o trauma, observada principalmente pela evolução da atrofia cerebral, secundária a vários fatores, incluindo a apoptose neuronal. Com o objetivo de testar a hipótese de que as técnicas quantitativas em ressonância magnética (RM) permitem identificar, de modo não invasivo, as variáveis biológicas que estimam a perda neuronal e axonal no cérebro relacionadas ao TCE moderado e grave e à lesão axonal difusa, na fase tardia, foram avaliados 9 pacientes, sendo 5 do sexo masculino e 4 do sexo feminino, com idades variando de 11 a 28 anos (média de 21,1 anos), que foram vítimas de TCE moderado ou grave (Escala de Coma de Glasgow menor que 12 na admissão hospitalar após o TCE) e que tiveram boa recuperação. O tempo médio entre o trauma e o exame de ressonância magnética foi de 3,1 anos ($\pm$ 0,5 anos). Foram utilizados os índices ventrículo-cerebrais bifrontal (IVC_F) e bicaudado (IVC_C), a medida do tempo de relaxação T2, o índice de transferência de magnetização (MTR), o coeficiente de difusão aparente (ADC) e a espectroscopia de prótons *multi-voxel*, com o cálculo dos índices metabólicos N-acetilaspártato/creatina (NAA/Cre) e colina/creatina (Cho/Cre). Foram estudados a substância branca (SB) frontal e parietal bilateralmente, o joelho e o esplênio do corpo caloso (CC) e a substância cinzenta (SC). As médias dos valores medidos foram comparadas às de um grupo controle formado por 9 pessoas sadias, pareadas pela idade e sexo. Observou-se aumento estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$) do IVC_F e do IVC_C nos pacientes,

devido ao aumento ventricular secundário à atrofia subcortical; aumento no tempo de relaxação T2 na SB e no CC, que reflete o aumento da concentração de água por provável perda axonal e gliose; aumento do ADC e redução do MTR na SB e no CC, que demonstram lesão das fibras axonais mielinizadas, e redução do índice NAA/Cre no CC, indicando perda axonal. Não houve diferença estatisticamente significativa nas medidas realizadas na SC e nem no índice Cho/Cre ($p > 0,05$). Os resultados encontrados mostram que as técnicas quantitativas em RM foram capazes de detectar, de modo não invasivo, o dano neuronal e axonal na substância branca e no corpo caloso de cérebros humanos, secundário ao TCE moderado e grave.

Palavras-chave: trauma craniocerebral, lesão axonal difusa, ressonância magnética.

Abstract

MAMERE, A. E. Evaluation of delayed neuronal and axonal damage, secondary to moderate and severe traumatic brain injury, using quantitative magnetic resonance techniques. 2005. 130 f. Dissertation (Mastership) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

Closed traumatic brain injury (TBI) is a classic model of monophasic neuronal and axonal injury, where tissue damage mainly occurs at the moment of trauma, followed by anterograde and retrograde Wallerian degeneration in the subsequent days. There are some evidences of delayed progression of the neuronal and axonal loss after TBI, mainly shown by gradual development of cerebral atrophy, due to many factors, including neuronal apoptosis. For the purpose of testing the hypothesis that quantitative magnetic resonance techniques are able to assess the biological variables which estimate neuronal and axonal loss in brain, related to moderate or severe TBI and diffuse axonal injury, nine patients (age range 11 – 28 years; mean age 21,1 years; 5 male and 4 female), who sustained a moderate or severe TBI (initial Glasgow Coma Scale less than 12), with good recovery, were evaluated in a mean of 3,1 years after trauma ($\pm 0,5$ year). The following techniques were applied: bicaudate (CVI_C) and bifrontal (CVI_F) cerebroventricular indexes; T2 relaxation time measurement (T2 relaxometry); magnetization transfer ratio (MTR); apparent diffusion coefficient (ADC); multivoxel proton magnetic resonance spectroscopy, using N-acetylaspartate/creatine (NAA/Cre) and choline/creatine (Cho/Cre) ratios; measured in the frontal and parietal white matter (WM) of both cerebral hemispheres, in the genu and splenium of the corpus callosum (CC) and in the gray matter (GM). The results were compared with those of a control group constituted by 9 healthy volunteers with a matched age and sex distribution. The CVI_C and CVI_F mean values were significantly increased ($p \leq 0,05$) in patients due to ventricular enlargement secondary to subcortical atrophy; an increase in T2 relaxation time was observed in the WM and CC, reflecting an enhancement in water concentration, probably secondary to axonal loss and gliosis; increased ADC mean values and reduced MTR

mean values were found in the WM and CC, showing damage in the myelinated axonal fibers; and decreased NAA/Cre ratio mean values in the CC, indicating axonal loss. No significant differences were observed in the mean values measured at the GM or in the Cho/Cre ratio mean values ($p > 0,05$). These quantitative magnetic resonance techniques were able to non-invasively demonstrate the neuronal and axonal damage in the WM and CC of human brains, secondary to moderate or severe TBI.

Key words: craniocerebral trauma, diffuse axonal injury, magnetic resonance.

Lista de siglas e abreviaturas

ADC – Coeficiente de difusão aparente.

ADP – Adenosina difosfato.

ATP – Adenosina trifosfato.

b – Fator de sensibilidade da difusão ou valor do gradiente da difusão.

Cho – Colina.

Cho/Cre – Índice metabólico colina/creatina.

CHESS – “Chemical shift selective saturation”.

Cre – Creatina.

dMRI – Ressonância magnética ponderada em difusão.

D – Direita.

DICOM – “Digital Imaging and Communications in Medicine”.

DP – Desvio padrão.

E – Esquerda.

ECG – Escala de coma de Glasgow.

EPG – Escala de prognóstico de Glasgow.

FLAIR – “Fluid attenuation inversion recovery”.

HCRP – Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

Hz – Hertz.

IVC_F – Índice ventrículo-cerebral bifrontal.

IVC_C – Índice ventrículo-cerebral bicaudado.

LAD – Lesão axonal difusa.

M₀ – Intensidade de sinal da seqüência sem pulso de saturação por transferência de magnetização.

M_S – Intensidade de sinal da seqüência com pulso de saturação por transferência de magnetização.

MRS – Espectroscopia por ressonância magnética.

MT – Transferência de magnetização.

MTR – Índice de transferência de magnetização.

ms – Milissegundos.

n – Tamanho da amostra.

NAA – N-acetilaspartato.

NAA/Cho – Índice metabólico N-acetilaspartato/colina.

NAA/Cre – Índice metabólico N-acetilaspartato/creatina.

p – Valor da probabilidade estatística do erro tipo 1 (α).

ppm – Partes por milhão.

PRESS – “Point resolved surface-coil spectroscopy”.

RM – Ressonância magnética.

ROI – Região de interesse.

SB – Substância branca.

SC – Substância cinzenta.

SD – Densidade de prótons em precessão.

SI – Intensidade de sinal.

STEAM – “Stimulated echo acquisition mode”.

T1 – Tempo de relaxação longitudinal.

T2 – Tempo de relaxação transversal.

TC – Tomografia computadorizada.

TCE – Trauma craniencefálico.

TE – Tempo de eco.

TR – Tempo de repetição.

TSE – “Turbo spin echo”.

VOI – Volume de interesse.

Índice das figuras

Figura 1 – Exemplo de gráfico da espectroscopia (TE=270 ms), em um exame controle normal, mostrando os picos do N-acetilaspártato (NAA), da creatina (Cre) e da colina (Cho).....44

Figura 2 – Distribuição dos pacientes quanto ao valor da Escala de Coma de Glasgow (ECG) da admissão na Unidade de Emergência no dia do TCE, separados por sexo.....56

Figura 3 (A, B e C) – Posicionamento do VOI da espectroscopia utilizando as imagens FLAIR nos planos transversal (A), coronal (B) e sagital (C). Figura retirada de um exame controle normal, 22 anos, sexo masculino.....61

Figura 4 – Posicionamento das medidas para o cálculo do índice ventrículo-cerebral bifrontal. Figura retirada de um exame controle normal, 28 anos, sexo masculino.....63

Figura 5 – Posicionamento das medidas para o cálculo do índice ventrículo-cerebral bicaudado. Figura retirada de um exame controle normal, 28 anos, sexo masculino.....63

Figura 6 (A, B e C) – Mapas numéricos da concentração estimada dos metabólitos cerebrais, resultantes do cálculo da integral dos picos de N-acetilaspártato (A), creatina (B) e colina (C), voxel a voxel. Figura retirada de um exame controle normal, 26 anos, sexo feminino.....64

Figura 7 (A, B, C e D) – Conjuntos de voxel utilizados para calcular os valores médios dos índices metabólicos (NAA/Cre e Cho/Cre), separados em cinco regiões: frontais direita e esquerda (A), parietais direita e esquerda (B) e corpo caloso (C e D). Figura retirada de um exame controle normal, 22 anos, sexo masculino.....65

Figura 8 (A, B, C, D, E e F) – Regiões de interesse para avaliação dos valores do tempo de relaxação T2, do MTR e do ADC. Substância cinzenta direita e esquerda (A), joelho e esplênio do corpo caloso (B) e substância branca frontal e parietal bilateralmente (C, D, E e F). Figuras retiradas de um exame controle normal.....67

Figura 9 – Representação do mapa de ADC em escala de cinzas, formando uma imagem, através da qual foram traçadas as regiões de interesse para obtenção dos valores. Figura retirada de um exame controle normal, 18 anos, sexo masculino.....68

Figura 10 – Representação do mapa de MTR em escala de cinzas, formando uma imagem, através da qual foram traçadas as regiões de interesse para obtenção dos valores. Figura retirada de um exame controle normal, 18 anos, sexo masculino.....70

Figura 11 (A, B e C) – Imagens de RM (TSE ponderada em T2 no plano transversal (A e B) e FLAIR no plano sagital (C)) do paciente 4, 22 anos, sexo masculino, que apresentava várias áreas de ausência de sinal em todas as seqüências, correspondentes a depósitos de hemossiderina, esparsas nas regiões subcorticais bilateralmente (setas vermelhas), no joelho e no esplênio do corpo caloso (setas amarelas).....74

Figura 12 (A, B e C) – Imagens de RM da paciente 2, sexo feminino, 24 anos. Seqüências GE ponderada em T1 (A) e TSE ponderada em T2 (B) no plano transversal e seqüência FLAIR no plano coronal (C) evidenciando área de atrofia focal na região temporal esquerda (setas amarelas) correspondente a seqüela de contusão cerebral.....75

Figura 13 (A, B, C, D, E e F) – Imagens de RM. Em A e D, seqüência TSE ponderada em T2 no plano transversal; em B e E, seqüência FLAIR no plano coronal; em C e F, seqüência FLAIR no plano sagital. As figuras A, B e C são imagens do paciente 9, sexo masculino, 28 anos, vítima de TCE, que evidenciam atrofia cortical (setas amarelas em A), aumento dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo (seta vermelha em B) e redução difusa da espessura do corpo caloso (seta azul em C). As figuras D, E e F são de um controle normal, sexo masculino, 22 anos.....76

Figura 14 – Distribuição das médias dos valores dos índices ventrículo-cerebrais bifrontal e bicaudado da amostra de pacientes e do grupo controle (*→ $p \leq 0,05$)....77

Figura 15 – Distribuição das médias dos valores dos tempos de relaxação T2 (em milissegundos) nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* → $p \leq 0,05$).....78

Figura 16 – Distribuição das médias dos valores do ADC nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* → $p \leq 0,05$).....80

Figura 17 – Distribuição das médias dos valores do MTR nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* → $p \leq 0,05$).....81

Figura 18 – Distribuição das médias dos valores do índice NAA/Cre das regiões estudadas nos grupos de pacientes e de controles. Os valores das médias foram menores nos pacientes, em todas as regiões, mas apenas no corpo caloso esta diferença foi estatisticamente significativa (*).....83

Figura 19 – Distribuição das médias dos valores do índice Cho/Cre das regiões estudadas nos grupos de pacientes e de controles. Não se observou diferença estatisticamente significativa em nenhuma das regiões.....84

Índice das tabelas

Tabela 1 – Distribuição dos pacientes e dos controles de acordo com o sexo e a idade.....	55
Tabela 2 – Resultados das médias dos índices ventrículo-cerebrais.....	77
Tabela 3 – Resultados das médias dos tempos de relaxação T2 (em ms).....	78
Tabela 4 – Resultados das médias dos coeficientes de difusão aparente (ADC).....	79
Tabela 5 – Resultados das médias dos índices de transferência de magnetização (MTR).....	81
Tabela 6 – Resultados das médias do índice metabólico NAA/Cre.....	82
Tabela 7 – Resultados das médias do índice metabólico Cho/Cre.....	84

1. Introdução e revisão bibliográfica

O trauma craniencefálico (TCE) está entre as causas mais comuns de mortalidade e de morbidade neurológica, sendo mais prevalente em adultos jovens. Nos Estados Unidos, a incidência anual de TCE fechado é estimada em 130 a 150 por 100.000 habitantes (BAGLEY et al., 1999). Os sobreviventes ao TCE moderado ou grave podem ter ou não seqüelas neurológicas. Estas, quando presentes, podem variar desde sintomas neurológicos leves até um estado vegetativo persistente e, por se tratarem, geralmente, de pessoas jovens e economicamente ativas, resultam num prejuízo econômico e social destas, dos seus familiares e de toda a sociedade, pois há uma grande utilização de recursos humanos e econômicos para o tratamento e a reabilitação destes pacientes.

Os sintomas neurológicos, quando presentes, incluem cefaléia, tontura, problemas de memória ou concentração e irritabilidade, sendo que estes constituem a chamada síndrome pós-concussional. Após 6 meses do TCE, 15% a 29% dos pacientes ainda apresentam estes sintomas (HOFMAN et al., 2001).

O TCE é, classicamente, um modelo de lesão neuronal monofásica, onde a destruição do parênquima cerebral, incluindo neurônios e células gliais, decorre da ação direta da energia cinética transmitida ao tecido pelo impacto do encéfalo contra a calota craniana, seja por desaceleração ou por aceleração bruscas. A lesão do neurônio pode ocorrer sob a ação direta do impacto, causando contusão ou laceração tecidual, e também pode ocorrer pela ruptura axonal direta por um mecanismo de cisalhamento, que resulta do deslocamento relativo entre a substância branca (SB) e a substância cinzenta (SC), particularmente quando há movimento rotacional com desaceleração brusca, sendo denominada de lesão axonal difusa (LAD). A LAD é uma das patologias mais comuns nas vítimas de TCE grave. Também pode ocorrer lesão secundária do neurônio por hipertensão

intracraniana, causada pelo edema cerebral, ou por isquemia, decorrente de hipotensão arterial sistêmica ou de lesão direta em artérias cerebrais. Um ou mais destes mecanismos podem ocorrer numa mesma pessoa vítima de TCE.

É intuitivo se acreditar que as lesões neuronais se restringem às fases aguda e subaguda do trauma e que haveria um período breve de progressão da lesão por degeneração Walleriana anterógrada e retrógrada secundária à injúria inicial. Deste modo, uma vez cessado este processo, era de se esperar a estabilização da lesão neuronal. No entanto, estudos experimentais em animais demonstraram que mudanças tardias, observadas principalmente pela progressão da atrofia cerebral, ocorrem após o TCE, sugerindo dano neuronal evolutivo tardio, além daquele existente nas fases aguda e subaguda (SMITH et al., 1997; BRAMLETT et al., 1997,2002). Portanto, após o TCE, há dois tipos diferentes de lesão neuronal: uma lesão imediata e uma lesão tardia.

Smith et al. (1997), em pesquisa realizada em ratos, relataram que a perda de tecido cerebral que ocorria no mesmo lado da lesão, no primeiro mês após o trauma, era, em sua maior parte, conseqüente à degradação e reabsorção da área necrótica no local da contusão. Entretanto, este mecanismo primário de perda tecidual não explicaria a progressão tardia da lesão neuronal, que foi, então, atribuída, hipoteticamente, a um processo degenerativo desencadeado pelo trauma.

Shiozaki et al. (2001) demonstraram que em seres humanos também há evidência de progressão tardia da atrofia (secundária à perda neuronal), após um período de estabilização. Neste estudo, 17 pacientes com TCE grave (isto é, com Escala de Coma de Glasgow (ECG) menor ou igual a 8 na admissão) foram acompanhados com exames seriados de tomografia computadorizada (TC) por mais de um ano. Foram utilizados índices ventrículo-cerebrais para quantificar o aumento

ventricular e estimar a perda neuronal. A perda neuronal tardia foi demonstrada em 8 dos 17 pacientes pelo aparecimento de aumento ventricular em exame realizado entre 1 e 4 meses após o trauma e que também apresentaram progressão da atrofia no hemisfério ipsilateral ao do trauma nos exames subseqüentes.

A natureza do processo de perda neuronal tardia ainda não está totalmente esclarecida. Alguns estudos realizados em seres humanos sugerem a possibilidade de um processo isquêmico como um insulto secundário ao trauma (SHIOZAKI et al., 2001; HOFMAN et al., 2001). Entretanto, estudos experimentais realizados em ratos demonstram a presença de apoptose neuronal, em adição à necrose celular, na fase aguda, tanto no local da lesão traumática cerebral (RINK et al., 1995) quanto à distância, como, por exemplo, no hipocampo ipsilateral à lesão cortical traumática (COLICOS; DASH, 1996). Conti et al. (1998) demonstraram, em estudo experimental realizado em ratos, que a apoptose neuronal pode estar envolvida na morte celular tanto na fase aguda quanto na tardia, ocorrendo no hemisfério cerebral ipsilateral à lesão traumática, observada principalmente no córtex, no tálamo e em poucas áreas esparsas no hipocampo. Há, provavelmente, outras causas que poderiam levar a um dano neuronal secundário ao trauma, tais como a ação de aminoácidos excitatórios, a destruição do citoesqueleto, a toxicidade por influxo de cálcio, os radicais livres e as disfunções mitocondriais (SINSON et al., 2001).

A apoptose neuronal é considerada a manifestação morfológica e neuroquímica da morte celular programada, sendo assim, é um processo celular ativo, com mecanismos que dependem do gasto de energia, no qual as células participam na sua própria destruição e pode ser visto como o resultado final de um programa, regulado geneticamente, que induz as células a morrerem, com a mínima

liberação de material genético ou de outros constituintes intracelulares. Ela difere da necrose, pois esta é um processo passivo de desintegração celular.

Recentemente, Nathoo et al. (2004) estudaram amostras de cérebro humanos retiradas da 'zona peri-isquêmica' de contusões traumáticas supratentoriais, durante o ato cirúrgico, em 29 pacientes com TCE e comparou-as com amostras de tecido cerebral ressecado em pacientes com epilepsia, utilizadas como controle, analisando proteínas (bax, bcl2 e p53) e protease (caspase-3) relacionadas à apoptose celular. Eles comprovaram, neste estudo, a presença da apoptose como uma importante forma de morte celular na 'zona peri-isquêmica' das contusões traumáticas em cérebros humanos, na fase aguda, e que esta pode influenciar no prognóstico neurológico após o TCE.

A expressão alterada de genes específicos, após o trauma, pode desencadear a cascata de morte celular programada que resulta na apoptose. Portanto, o processo de perda neuronal tardio é bastante complexo e, inclusive, outros fatores podem estar envolvidos. Já foi demonstrada, em estudos de cérebros de pacientes vítimas de TCE, a existência de depósitos de proteína beta-amilóide difusamente nos neurônios corticais, na fase aguda, independente da idade do paciente, sugerindo que estes depósitos podem estar ligados ao estresse secundário ao trauma (ROBERTS et al., 1991; GRAHAM et al., 1995) e também podem estar implicados na patogênese da Doença de Alzheimer (ROBERTS et al., 1994).

De qualquer maneira, esta perda neuronal tardia se assemelha a outros processos neurodegenerativos. Há estudos clínicos demonstrando a associação do TCE com a ocorrência tardia de doenças degenerativas, principalmente a Doença de

Alzheimer (MORTIMER et al., 1991; MAYEUX et al., 1993; SCHOFIELD et al., 1997; FLEMINGER et al., 2003).

Assim sendo, a avaliação da presença e a quantificação desta perda neuronal tardia nas pessoas que sofreram TCE teria um papel importante no seguimento clínico destes pacientes.

Atualmente, a ressonância magnética (RM) tem sido considerada como um método não invasivo promissor para avaliação indireta do dano axonal e neuronal através da utilização de seqüências e de técnicas especiais de aquisição que permitem uma análise quantitativa no pós-processamento. Dentre estas técnicas, estão as medidas volumétricas e os índices ventrículo-cerebrais, a transferência de magnetização, a relaxometria, as imagens ponderadas em difusão e a espectroscopia de prótons (ou de hidrogênio).

1.1. Volumetria e Índices ventrículo-cerebrais.

A principal consequência da perda neuronal e axonal é a redução volumétrica do parênquima cerebral, isto é, a atrofia. Pode-se detectar a presença de atrofia cerebral simplesmente através da avaliação visual de imagens de RM, mas esta avaliação, dita qualitativa, é subjetiva, sujeita a grande variação de análise interobservador e pequenas reduções volumétricas podem deixar de ser detectadas.

Porém, a atrofia pode ser quantificada através de cálculo volumétrico do encéfalo ou de alguma subestrutura anatômica, em milímetros cúbicos, aplicando as segmentações manual, automática ou semi-automática nas imagens obtidas, ou pode ser quantificada por medidas lineares dos ventrículos, com a utilização dos

índices ventrículo-cerebrais, que são calculados pela razão entre a distância dos ventrículos laterais (em diferentes regiões) e a distância das superfícies internas das calotas cranianas ou das superfícies dos hemisférios cerebrais. Este último método é uma avaliação indireta e apenas estima a presença de atrofia subcortical, não sendo um método de medida real como a volumetria, mas que é de mais fácil execução e dispensa o uso de programas de pós-processamento para segmentação, necessários para o cálculo volumétrico. Os valores dos índices ventrículo-cerebrais, portanto, representam apenas a presença ou não do aumento ventricular. Sendo assim, a atrofia cerebral difusa deve ser diferenciada das hidrocefalias. Na atrofia supratentorial difusa, o aumento ventricular está associado a alargamento dos sulcos corticais e, na hidrocefalia, os sulcos corticais estão reduzidos ou apagados (VAN DONGEN; BRAAKMAN, 1980).

São claras as vantagens das medidas quantitativas, que excluem a subjetividade da análise, permitem cálculos estatísticos mais precisos e aumentam a sensibilidade na detecção das atrofias mais sutis, que podem passar despercebidas pela observação puramente visual.

Estudos realizados em humanos com TC e RM, utilizando apenas a observação visual do alargamento ventricular e comparando com exames de pessoas normais da mesma idade (controles), já demonstraram a atrofia cerebral tardia após o TCE (VAN DONGEN; BRAAKMAN, 1980; WILSON et al., 1988). Wilson et al. (1988) comprovaram, inclusive, que o alargamento ventricular tardio estava, particularmente, associado a um mau prognóstico neuropsicológico.

Bigler et al. (1992) demonstraram o aparecimento de dilatação ventricular após o TCE em um paciente de 28 anos de idade, que havia realizado uma RM de encéfalo, três meses antes do trauma, para investigação de cefaléia. Este paciente

foi vítima de TCE grave (ECG menor que 8), sendo, então, acompanhado com exames de RM realizados 6 semanas e 10 meses após o trauma. Foram utilizados índices ventrículo-cerebrais em três regiões do sistema ventricular lateral (corpo, corno anterior e corno temporal), com medidas lineares realizadas nas imagens coronais. Foram comparados os exames realizados antes e após o trauma e ficou demonstrado o aumento significativo do volume ventricular, que foi considerado uma estimativa do grau de lesão axonal difusa. Estes autores afirmaram que os efeitos degenerativos induzidos pelo trauma estavam quase completamente estabelecidos em 6 semanas (isto é, no primeiro exame após o trauma, quando foi detectado o aumento ventricular) e que apenas pequena progressão do aumento ventricular ocorreu entre 6 semanas e 10 meses (quando foi realizado o segundo e último exame).

Reider-Groswasser et al. (1993) realizaram estudo para verificar o grau de correlação entre a atrofia cerebral observada em exames de TC após TCE grave e o estado neuropsicológico tardio destes pacientes. Os exames de TC foram realizados 3 a 4 meses após o trauma e foram calculados 14 índices lineares supra e infratentoriais para estimar a atrofia cerebral. Estes índices foram correlacionados com as seqüelas cognitivas e de comportamento dos pacientes, avaliadas um ano após o trauma. Eles encontraram, além da atrofia difusa nestes pacientes, uma alta correlação entre a largura do terceiro ventrículo e o prognóstico neurocognitivo tardio. Anderson e Bigler (1995) também avaliaram o aumento ventricular e atrofia cerebral após TCE, utilizando imagens de RM de 38 pacientes e comparando-as com o exame de tomografia computadorizada (TC) realizado no dia do trauma. Eles observaram que o grupo de maior aumento ventricular tinha a menor pontuação nos

testes de avaliação de memória, mas não apresentava alteração significativa nos testes de funcionamento intelectual.

Shiozaki et al. (2001) também utilizaram índices ventrículo-cerebrais lineares para demonstrar a progressão tardia da atrofia após TCE em exames de TC.

Estudos mais recentes têm utilizado a volumetria como método quantitativo para avaliar a atrofia, difusa ou focal, com medidas do volume total do cérebro ou de compartimentos e estruturas anatômicas, isoladamente, tais como o espaço liquórico subaracnóideo, os ventrículos laterais e seus cornos, o terceiro e o quarto ventrículo, a substância branca, a substância cinzenta, o corpo caloso, o hipotálamo, os núcleos da base e outras subestruturas supra e infratentoriais. Alguns destes estudos demonstraram a correlação entre a alteração das medidas volumétricas e o prognóstico cognitivo e neuropsicológico dos pacientes após o TCE (BLATTER et al., 1997; BIGLER; JOHNSON; BLATTER, 1999; HOFMAN et al., 2001).

Bigler (2001) afirmou que o TCE leve, tipicamente, não resulta em redução significativa do volume cerebral ou em aumento do sistema ventricular, mas Hofman et al. (2001), estudando apenas pacientes com TCE leve (ECG na admissão de 14 ou 15), descreveram a presença de atrofia cerebral em exame de RM realizado 6 meses após o trauma nos pacientes cujo exame inicial de RM revelava alguma lesão na fase aguda. Esta foi a primeira descrição de atrofia cerebral tardia em pacientes com TCE leve.

Como já comentado, há vários índices lineares descritos para avaliação de aumento ventricular (REIDER-GROSWASSER et al., 1993). Dentre estes, os mais utilizados são os índices ventrículo-cerebrais bifrontal (IVC_F) e bicaudado (IVC_C). O IVC_F é a razão entre o diâmetro bifrontal máximo (que é medido ao longo de uma linha imaginária que liga as duas extremidades dos cornos frontais dos ventrículos

laterais) e a distância, sobre a mesma linha, entre a superfície interna da calota craniana. O IVC_c é medido de maneira semelhante, só que o numerador desta razão é o diâmetro bicaudado máximo (que é a distância entre a porção média dos corpos dos núcleos caudados). Estes índices derivam do índice ventrículo-cerebral descrito por Evans, em 1942, que era medido em pneumoencefalografias e foi, posteriormente, modificado para a utilização em exames de TC e RM (BIGLER et al., 1992; BIGLER, 2001; SHIOZAKI et al., 2001).

1.2. Transferência de magnetização (MT).

As imagens em RM com transferência de magnetização, atualmente realizadas, são baseadas em técnica de saturação por reações de troca química, descritas por Forsen e Hoffman (1963). A primeira descrição de sua aplicação *in vivo* foi feita por Wolff e Balaban (1989).

A imagem convencional de RM detecta o sinal apenas dos prótons com maior mobilidade, isto é, prótons que têm o tempo de relaxação T_2 maior que 10 milissegundos (ms). Os prótons que são menos móveis, isto é, que estão associados a macromoléculas e a membranas nos tecidos biológicos, apresentam T_2 muito curto (menor que 1 ms) para serem detectados diretamente durante o exame de RM, sendo, portanto, invisíveis nos exames convencionais. A proximidade entre os prótons das macromoléculas e os prótons livres permite que os estados de precessão deles sejam influenciados entre si através do processo de troca química. É possível saturar, de modo preferencial, os prótons ligados a macromoléculas usando um pulso de radiofrequência dito fora de ressonância. Esta saturação pode

ser transferida para os prótons livres, dependendo de taxa de troca entre eles (HENKELMAN; STANISZ; GRAHAM, 2001).

Apesar do próton ligado à macromolécula ser invisível nas imagens de RM, a aplicação deste pulso de saturação direcionado para a sua frequência de precessão produz uma transferência de energia para as moléculas de água livre vizinhas, que são visíveis nas imagens, saturando-as parcialmente e reduzindo o sinal.

Esta técnica é muito utilizada na prática clínica para aumentar e melhorar o contraste em exames de angiorressonância e em imagens realizadas após a administração endovenosa de contraste paramagnético, de modo qualitativo.

A segunda maior aplicação da MT é na caracterização de doenças da substância branca cerebral, principalmente na esclerose múltipla (HENKELMAN; STANISZ; GRAHAM, 2001), de modo quantitativo.

A medida absoluta da quantidade de magnetização transferida é de difícil execução, com cálculos matemáticos complexos, exigindo a quantificação dos tempos de relaxação T1 e T2 do componente ligado à macromolécula e do componente livre, bem como a fração molecular destes e a taxa de transferência entre os dois, além da inhomogeneidade do campo magnético principal e da bobina receptora. Por esta razão, uma medida indireta da taxa de transferência de magnetização tem sido muito utilizada em pesquisa, denominada de **índice de transferência de magnetização (MTR)**, introduzido por Dousset et al. (1992).

O MTR é baseado na obtenção de duas seqüências idênticas, exceto pela aplicação do pulso de radiofrequência de saturação por MT em uma delas. Deste modo, tem-se uma seqüência sem o pulso de saturação (M_0) e uma seqüência com o pulso (M_S). Em seguida, faz-se o cálculo da porcentagem da diferença entre as duas seqüências, '*pixel*' a '*pixel*', expresso pela seguinte fórmula:

$$\text{MTR} = \frac{(M_0 - M_s)}{M_0} \times 100$$

Desta maneira, anula-se, teoricamente, o efeito de todos os parâmetros repetidos das duas seqüências, restando apenas o efeito da transferência de magnetização, formando um mapa onde os valores dos *'pixels'* representam a porcentagem da perda de sinal provocada pela transferência de magnetização. Uma vez gerado este mapa, pode-se obter o valor do MTR das diferentes regiões do encéfalo com a utilização de programas de visualização para traçar as regiões de interesse (ROI) (BERRY et al., 1999; McGOWAN et al., 2000; KUMAR et al., 2003b) ou através de programas de segmentação (BAGLEY et al., 1999, 2000; McGOWAN et al., 2000).

No encéfalo, as principais macromoléculas são representadas por proteínas e esfingolípides de membranas axonais e da mielina. Como o MTR reflete a eficiência da troca de magnetização entre os prótons ligados a estas macromoléculas e os prótons relativamente livres no tecido cerebral, quando há desorganização do tecido encefálico devido a desmielinização ou a perda axonal, o valor do MTR diminui (ROVARIS et al., 2003).

Estudo realizado em seres humanos com a análise de histogramas de mapas de MTR da SB cerebral segmentada comprovou que este método é sensível para a avaliação de mudanças que ocorrem na SB, tanto fisiológicas quanto patológicas, que há diferença da média do MTR entre homens e mulheres e que o MTR reduz o seu valor com o aumento da idade dos indivíduos (HOFMAN et al., 1999). Isto demonstra a necessidade de se correlacionar idade e sexo das pessoas quando for avaliar o MTR.

Nos últimos 10 anos, estudos utilizando MTR também trouxeram importantes contribuições para o entendimento da fisiopatologia do TCE e para avaliação do dano axonal resultante deste. Estudos realizados em modelos experimentais de lesão axonal difusa em porcos compararam a medida do MTR na SB cerebral antes de promover a lesão e 7 dias após e concluíram que esta medida tem potencial para demonstrar o dano axonal na fase subaguda do trauma, mesmo quando as imagens convencionais ponderadas em T2 não mostram as lesões, pois foi observada a redução do valor do MTR em regiões de SB aparentemente normais ao exame convencional, mas que apresentavam lesão axonal na avaliação histológica (KIMURA et al., 1996; McGOWAN et al., 1999).

Também já foi demonstrado, em seres humanos, que o MTR pode detectar anormalidades na SB aparentemente normal após o TCE leve, moderado ou grave, tanto na fase precoce quanto na tardia (McGOWAN et al., 2000; BAGLEY et al., 2000; SINSON et al., 2001), e, também, na substância cinzenta aparentemente normal (KUMAR et al., 2003a).

Há controvérsia na literatura quanto à correlação entre a alteração do valor do MTR e o prognóstico do paciente após o TCE, sendo que Bagley et al. (2000) afirmaram que a detecção de redução do MTR na SB aparentemente normal pode prever um mau prognóstico do paciente e McGowan et al. (2000), estudando 13 vítimas de TCE leve, verificaram uma correlação significativa dos valores regionais do MTR com a performance em testes neuropsicológicos. Entretanto, Sinson et al. (2001) identificaram alteração do MTR na SB aparentemente normal em 20% dos 30 pacientes com TCE estudados, mas a presença desta alteração não teve correlação significativa com o prognóstico.

Concluindo, o MTR é uma ferramenta sensível para a avaliação da integridade ou do dano axonal cerebral, mesmo quando a SB se apresenta aparentemente normal em imagens convencionais de RM, mas seu valor não necessariamente se correlaciona com o prognóstico ou com alterações neurocognitivas.

1.3. Relaxometria.

As imagens convencionais de RM são baseadas nos tempos de relaxação longitudinal (T1) e transversal (T2) das diversas substâncias que compõem os tecidos orgânicos. Dependendo dos parâmetros utilizados na sequência de aquisição da imagem, os sinais adquiridos para compor a imagem podem estar predominantemente ponderados em T1 ou em T2. Visualmente, observam-se diferenças nos sinais dos diversos tecidos, dependendo da concentração e do tipo das moléculas orgânicas presentes. Estas diferenças nos sinais dos tecidos é que produz o contraste na imagem, permitindo a avaliação das diversas estruturas do corpo humano e o diagnóstico de várias patologias, sendo que esta avaliação é puramente qualitativa e influenciada pela regulação do brilho, do contraste e da janela na escala de cinzas. Aos olhos humanos, pequenas diferenças na intensidade do sinal nos diversos tecidos passam despercebidas. Uma opção para se detectar e quantificar estas pequenas diferenças é a utilização de ferramentas para medir a intensidade do sinal em uma região de interesse (ROI), presente em quase todos os programas de visualização de imagens médicas.

Porém, duas regiões com diferenças nas suas composições e concentrações moleculares, inclusive com tempos de relaxação T1 e T2 diferentes, podem ter intensidade de sinal muito semelhante numa determinada seqüência de aquisição de imagem e esta diferença pode não ser detectada apenas com a medida da intensidade de sinal.

Um método em RM que pode detectar esta sutil diferença e quantificá-la com maior precisão é a relaxometria, que faz uma estimativa dos tempos de relaxação T1 ou T2 de uma determinada região do tecido. Por exemplo, é possível se determinar variações significativas no tempo de relaxação T2 da substância cinzenta nas diferentes regiões cerebrais de uma mesma pessoa normal e estas variações não são percebidas nas imagens convencionais de RM (GEORGIADES et al., 2001).

O cálculo dos valores reais dos tempos de relaxação é muito difícil de ser realizado, envolvendo muitas variáveis e cálculos matemáticos complexos. O tempo de relaxação transversal (T2) pode ser estimado fazendo uma seqüência com tempo de repetição (TR) fixo e adquirir o sinal em dois ou mais tempos de eco (TE) nesta mesma seqüência. Portanto, em uma determinada região ou '*pixel*', para cada TE, teremos uma intensidade de sinal diferente, que varia de acordo com o seu tempo de relaxação transversal. Colocando-se estas variáveis em um gráfico onde o eixo 'x' é o TE e o eixo 'y' é a intensidade de sinal, consegue-se estimar uma curva aproximada da relaxação transversal através da união dos pontos no gráfico. Quanto maior o número de TE utilizado, mais semelhantes ficam a curva estimada e a curva real. Através da curva resultante, é possível se estimar o tempo de relaxação T2 '*pixel*' a '*pixel*', formando um mapa.

Quando se utilizam apenas dois TE, o tempo de relaxação T2 é estimado pela equação:
$$T2 = \frac{(TE_2 - TE_1)}{\ln(SI_1 / SI_2)}$$
, onde TE_1 e TE_2 são o primeiro e o segundo tempos

de eco, S_1 e S_2 são as intensidades de sinal das imagens adquiridas no primeiro e no segundo eco, respectivamente (KUMAR et al., 2003a).

O aumento do tempo de relaxação T2 reflete um aumento da concentração de água nos tecidos que, no sistema nervoso central, pode ser resultante de processo inflamatório, edema, desmielinização, gliose ou perda neuronal (BARNES et al., 1988; LARSSON et al., 1989; ARMSPACH et al., 1991; BERNASCONI et al., 2000; BOUILLERET et al., 2000; PAPANIKOLAOU et al., 2004).

Kumar et al. (2003a) estudaram 51 pacientes com TCE, medindo o tempo de relaxação T2 (que foi calculado utilizando seqüência de duplo eco) e o MTR das substâncias branca e cinzenta da região de atrofia focal secundária ao trauma e da região adjacente à atrofia de aspecto aparentemente normal nas imagens convencionais, comparando com o hemisfério cerebral contra-lateral normal e com o encéfalo de 10 controles normais. Os autores observaram o aumento do tempo de relaxação T2 e a redução do MTR na substância cinzenta no local da atrofia e na região adjacente à atrofia, que era aparentemente normal nas imagens convencionais de RM. Na substância branca, não houve diferença significativa destas variáveis. Eles demonstraram que a área cerebral afetada pela lesão traumática é maior do que a observada apenas com a avaliação qualitativa das imagens de RM e que as medidas do tempo de relaxação T2 e do MTR podem detectar estas áreas com neurodegeneração e gliose, que não são aparentes nas imagens convencionais.

1.4. Seqüência ponderada em difusão.

A seqüência de ressonância magnética ponderada em difusão (dMRI) gera um contraste de imagem que é diferente das demais técnicas de RM convencionais. Este contraste de imagem é dependente da movimentação molecular da água nos tecidos, a qual pode estar alterada em certas doenças e lesões do sistema nervoso central.

O processo pelo qual as moléculas de água se difundem randomicamente no meio em que ocupam é denominado de movimento Browniano, que resulta da dissipação térmica da energia.

As imagens ponderadas em difusão são obtidas com uma seqüência ecoplanar ponderada em T2, que consiste de um pulso de 90° seguido de um pulso de 180°, com a aplicação de dois pulsos de gradiente de fase extras, de mesma magnitude, mas de direções opostas (pulsos de difusão), sendo um antes e um depois do pulso de 180°. Só é possível medir o movimento das moléculas de água em uma direção por vez. Deste modo, quando se faz a seqüência numa determinada direção, por exemplo, no eixo 'x', uma molécula que não apresenta nenhuma movimentação neste eixo, os dois pulsos opostos de difusão se anulam e a intensidade de sinal resultante é teoricamente a mesma da que seria obtida se estes pulsos de difusão não tivessem sido aplicados. E, em outra situação, quando a molécula se move na direção do eixo 'x' (não importando o sentido), ela muda de posição dentro do gradiente de fase e os pulso opostos da difusão não se anulam completamente, promovendo uma redução do sinal emitido. Esta redução do sinal é proporcional à distância percorrida pela molécula na direção do eixo 'x'. Portanto,

quanto maior a restrição à movimentação das moléculas de água numa determinada direção, maior o sinal adquirido.

De acordo com a lei de Fick, a difusão real é o resultado da movimentação das moléculas devido ao gradiente de concentração. Na dMRI, a movimentação molecular devido ao gradiente de concentração não pode ser diferenciada da movimentação decorrente do gradiente térmico, do gradiente de pressão ou das interações iônicas. Sendo assim, quando estamos medindo a movimentação da água na RM, apenas o coeficiente de difusão aparente (ADC) pode ser calculado (SCHAEFER; GRANT; GONZALES, 2000).

Na dMRI, os gradientes de difusão são aplicados em uma seqüência ecoplanar com TR muito alto produzindo imagens fortemente ponderadas em T2. A intensidade de sinal (SI) desta seqüência é resultante da equação:

$SI = K (SD) e^{-TE / T2} e^{-b \times ADC}$, onde 'K' é uma constante, 'SD' é a densidade de prótons em precessão, 'e' é o número neperiano ou de Euler, 'TE' é o tempo de eco, 'T2' é o tempo de relaxação T2 e 'b' é o fator de sensibilidade da difusão ou valor do gradiente da difusão (quanto maior o valor de 'b', mais ponderada em difusão é a imagem obtida).

Por esta equação, podemos concluir que a imagem resultante não depende apenas do coeficiente de atenuação aparente, mas também do tempo de relaxação T2 do tecido. Portanto, um aumento do sinal na imagem ponderada em difusão pode ser devido à diminuição do ADC (por restrição da movimentação da água), ao aumento do tempo de relaxação T2 ou a ambos. Assim, quando temos uma área de alto sinal em uma imagem ponderada em difusão, não é possível afirmar se é resultante da restrição à movimentação molecular da água ou se é o aumento do

brilho, secundário ao aumento do tempo de relaxação T2 do tecido, sobreposto na imagem.

Uma das alternativas para resolver este problema é criar um mapa de ADC, que é uma imagem cuja intensidade do sinal é igual à magnitude do ADC. Este é gerado pela combinação das informações obtidas das imagens da dMRI adquiridas com diferentes gradientes de difusão e, através de cálculos matemáticos, obtém-se os valores do ADC, '*pixel*' a '*pixel*', formando o mapa. Quando há uma região de restrição à movimentação das moléculas de água, ela aparece com alto sinal nas imagens ponderadas em difusão e com baixo sinal no mapa de ADC. Os valores dos *pixels* deste mapa estimam, portanto, a difusão aparente nos tecidos.

Num meio completamente homogêneo, as moléculas de água se movimentam em todas as direções com a mesma probabilidade, sendo que este tipo de difusão é chamado de isotrópica. No encéfalo, entretanto, a difusão não é isotrópica (mesmo valor em todas as direções) e sim, anisotrópica, isto é, as moléculas de água se movem mais facilmente em algumas direções, particularmente na substância branca (SCHAEFER; GRANT; GONZALES, 2000).

Na substância branca, a água tem difusão anisotrópica no interior das fibras axonais mielinizadas, onde é mais fácil o movimento das moléculas de água na direção paralela à das fibras do que no sentido transversal, através do citoesqueleto e da bainha de mielina, que promovem restrição à movimentação (BARBORIAK, 2003).

Então, quando são feitas as imagens do encéfalo ponderadas em difusão com diferentes direções, cada região da substância branca apresentará intensidade de sinal diferente em cada uma das imagens realizadas, pois a intensidade de sinal irá depender da orientação espacial dos feixes de fibras axonais em relação à direção

da seqüência que está sendo adquirida. Estas imagens são chamadas de anisotrópicas. Desta forma, fica muito difícil avaliar a difusão de maneira global e tridimensional em cada região. Por isto, as aquisições da dMRI são realizadas em várias direções (no mínimo 3), dispostas nas três dimensões espaciais e, geralmente, ortogonais. As imagens resultantes são então combinadas no pós-processamento, para formar apenas uma imagem que é denominada isotrópica. Esta imagem é resultante da raiz enésima do produto das imagens anisotrópicas, isto é, se foram realizadas três aquisições ortogonais, a imagem final será a raiz cúbica do produto das três imagens adquiridas (SCHAEFER; GRANT; GONZALES, 2000). A partir destas imagens isotrópicas, pode-se calcular o mapa de ADC isotrópico e, deste modo, consegue-se saber o valor do ADC de uma região, não importando a direção preferencial da movimentação das moléculas de água nesta. Quando estes valores são correlacionados à direção da aquisição das imagens, têm-se, então, as imagens de tensor de difusão, que associa a avaliação do valor do ADC com a avaliação da anisotropia (normalmente calculada pela anisotropia fracionada).

O valor do ADC já foi utilizado por estudos realizados em modelos experimentais em animais (VORISEK et al., 2002) e em seres humanos (LIU et al., 1999; HUISMAN et al., 2003, 2004) após TCE, nas fases aguda e subaguda, demonstrando que há redução do valor do ADC em áreas de contusão e de LAD e, também, em regiões distantes ao local do trauma, resultante do aumento da restrição à movimentação das moléculas de água, provavelmente secundário ao edema citotóxico, ao sangramento, à mudança na composição da matriz extracelular e à alteração na estrutura celular e no número de células. Ficou demonstrado também que a redução do valor do ADC, além de ocorrer em áreas de lesão

traumática que eram visíveis nas imagens convencionais de RM, também era detectada em regiões aparentemente normais às imagens convencionais, podendo, portanto, ser utilizado como um método coadjuvante na detecção de lesões traumáticas nas fases aguda e subaguda.

Alguns estudos recentes demonstraram a correlação entre a alteração do valor do ADC, nas fases aguda e subaguda após TCE, e o prognóstico, o grau de disfunção neuronal, a gravidade da lesão tecidual e a ECG (HUISMAN et al., 2004; SCHAEFER et al., 2004; SHANMUGANATHAN et al., 2004; GOETZ et al., 2004).

Quando há lesão axonal ou desmielinização das fibras axonais na substância branca cerebral, ocorre a quebra da barreira da bainha de mielina e do citoesqueleto, com redução da restrição à movimentação das moléculas de água, resultando em aumento do ADC e redução da anisotropia (ARFANAKIS et al., 2002; TIEVSKY; PTAK; FARKAS, 1999; GOETZ et al., 2004; MASCALCHI et al., 2005). A redução da anisotropia, decorrente da lesão axonal após TCE, já foi demonstrada tanto na fase aguda (ARFANAKIS et al., 2002) quanto na fase tardia (RUGG-GUNN et al., 2001).

1.5. Espectroscopia de prótons por ressonância magnética.

Espectroscopia por ressonância magnética (MRS) é uma técnica não invasiva que permite o estudo de alguns poucos metabólitos, estimando a concentração destes em uma amostra de tecido, através de um gráfico (espectro). Ela se baseia no fato de que a frequência de precessão do núcleo atômico é influenciada pelo meio químico em que ele se encontra, causando pequena mudança na frequência

de ressonância deste núcleo. Este fenômeno é denominado 'desvio químico' ("chemical shift"). A expressão deste 'desvio químico' depende do tipo e número de átomos e da estrutura molecular adjacentes. Por essas diferenças entre as moléculas, há pequena diferença na frequência de precessão dos núcleos atômicos nos diversos metabólitos, sendo possível diferenciá-los.

O núcleo atômico mais comumente utilizado é o hidrogênio (^1H) por causa de sua abundância nos tecidos orgânicos e por sua alta sensibilidade nuclear magnética, quando comparado aos outros núcleos atômicos, sendo assim denominada espectroscopia de prótons.

A concentração da água é cerca de 100.000 vezes maior que os demais metabólitos que se quer estudar pela espectroscopia de prótons. Por isso, é necessária a redução do sinal dos prótons da água para se conseguir adequada relação sinal/ruído para a detecção dos outros metabólitos de menor concentração. O método mais frequentemente utilizado para a supressão de água é denominado CHESS ("chemical shift selective saturation"). Esta técnica usa uma série de pulsos de 90° seletivos para reduzir o sinal da água (SMITH; CASTILLO; KWOCK, 2003).

O grande avanço tecnológico da MRS *in vivo* foi a capacidade de se localizar espacialmente a amostra do tecido que está sendo analisado, sendo então possível a associação com a imagem convencional da RM, permitindo estudar porções bem definidas dos tecidos. Estas porções ou amostras definidas espacialmente dentro do tecido a ser estudado são denominadas de volumes de interesse (VOI). Já foram descritas algumas técnicas que utilizam os gradientes para localizar um VOI e as mais utilizadas são a STEAM ("stimulated echo acquisition mode") e a PRESS ("point resolved surface-coil spectroscopy"). Ambas estimulam um VOI com mínima interferência do restante do tecido ao redor. Ambas as técnicas têm vantagens e

desvantagens. Com PRESS, obtém-se uma melhor relação sinal/ruído, porém uma menor resolução espacial, com maior ‘contaminação’ do VOI pelo sinal do tecido circunjacente. Com STEAM, a relação sinal/ruído é menor, mas o VOI é mais preciso e é possível utilizar tempos de eco (TE) mais curtos.

O termo ‘voxel’ em MRS refere a um volume de tecido que está sendo amostrado. É possível realizar a MRS usando um único ‘voxel’ (“*single-voxel*”) ou subdividir o VOI em vários ‘voxels’ (“*multi-voxel*”).

Após a realização da seqüência de espectroscopia, os sinais adquiridos são apresentados em um gráfico, onde o eixo ‘x’ é uma escala de freqüências em ‘partes por milhão’ (ppm) e o eixo ‘y’ é uma escala de intensidade de sinal, que representa a concentração molar dos metabólitos. Cada metabólito tem uma posição característica na escala de freqüência (eixo ‘x’), independente da intensidade do campo magnético do aparelho de RM, que é expressa em ppm, permitindo a identificação destes metabólitos. O tetrametilsilano [$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$] foi padronizado como a molécula cujo desvio químico é 0 (zero) ppm. Devido à baixa eletronegatividade do silício, a blindagem dos prótons desta molécula é maior que a da maioria dos metabólitos orgânicos e, por isso, ela tem a menor freqüência de ressonância. Portanto, a partir do tetrametilsilano, foi possível se determinar o ppm dos demais metabólitos e padronizou-se que: 1 ppm = 42,58 Hz / Tesla. Os valores de ppm estão dispostos em ordem decrescente no eixo ‘x’, isto é, os maiores valores estão à esquerda.

Deste modo, a partir do eixo ‘x’, pode-se identificar os picos dos metabólitos e medir a altura destes picos ou calcular a área sob estes (cálculo da integral) para estimar a quantidade de cada metabólito presente.

A aparência do espectro e o número de picos de metabólitos visíveis são influenciados pelo TE utilizado. Nas seqüências com TE longo (que no encéfalo foi padronizado em 270 ms ou 135 ms), os metabólitos com tempo de relaxação curto não são representados no gráfico porque se relaxam completamente antes da obtenção do sinal. Nas seqüências com TE curto (30, 20 ou 10 ms), mais picos de metabólitos são representados, isto é, mais tipos de metabólitos diferentes podem ser detectados. Mas, quanto maior o número de metabólitos detectados, maior será a sobreposição dos picos, dificultando a individualização e a quantificação destes, além de gerar uma linha de base mais irregular.

Na espectroscopia de prótons do encéfalo normal (figura 1), os principais metabólitos são:

- N-acetilaspartato (NAA) – cujo pico está em 2,01 ppm. É um marcador neuronal e axonal e sua concentração reduz em lesões cerebrais que causam a perda neuronal ou axonal;

- Creatina (Cre) e fosfocreatina – cujo pico está em 3,03 ppm. A creatina serve de reserva de fosfatos de alta energia e também atua como um tampão em depósitos de ATP/ADP. Ela pode estar aumentada em estados hipometabólicos ou reduzida em estados hipermetabólicos. Mas, geralmente, a sua concentração permanece constante na maioria dos processos patológicos e é utilizada como um valor de referência para tornar possível a comparação dos demais metabólitos. Assim, são realizados índices com os diversos metabólitos, todos tendo, como denominador comum, o valor da creatinina dos espectros correspondentes, como, por exemplo, NAA/Cre e Cho/Cre, que são chamados de índices metabólicos.

- Colina (Cho) e fosfocolina – cujo pico está em 3,2 ppm. A colina é um constituinte de fosfolípide de membranas celulares e é um precursor da acetilcolina e da fosfatidilcolina. Seu aumento reflete o aumento na síntese de membranas celulares ou o aumento do número de células.

Figura 1 – Exemplo de gráfico da espectroscopia (TE=270 ms), em um exame controle normal, mostrando os picos do N-acetilaspártato (NAA), da creatina (Cre) e da colina (Cho).

Outros metabólitos podem ser identificados em algumas situações patológicas, tais como lactato e lipídeos livres. Quando se utiliza TE curto, além destes metabólitos descritos acima, podem ser identificados outros picos, tais como a glicina, o mio-inositol, o glutamato e a alanina.

A detecção e a quantificação destes metabólitos são utilizadas rotineiramente, na prática clínica, no auxílio diagnóstico e também em estudos experimentais em animais e em seres humanos para o entendimento da fisiopatologia de diversas alterações encefálicas, inclusive as que ocorrem após o TCE.

Rango et al. (1995) realizaram estudo experimental em animais, onde uma lesão axonal focal era induzida por estiramento do nervo óptico e, então, alguns destes animais foram sacrificados no terceiro dia e outros no sétimo dia, quando foram retirados os corpos geniculados laterais e os colículos superiores, sendo, então, realizada a espectroscopia *in vitro* destas amostras. Os índices NAA/Cre das amostras foram calculados e comparados aos do grupo controle, sendo observado que, nos animais sacrificados no terceiro dia, havia uma redução estatisticamente significativa no índice NAA/Cre e, nos que foram sacrificados no sétimo dia, não houve diferença em relação ao grupo controle. Os autores concluíram que a lesão axonal no sistema nervoso central causa redução dos níveis de NAA, que pode ser detectada pela espectroscopia, e que esta redução, na fase aguda, deve ser devida à alteração no metabolismo do NAA causada pela inatividade funcional dos neurônios (que pode ser reversível), mais do que pela perda ou lesão neuronal propriamente dita. Esta redução transitória do valor do índice NAA/Cre também foi observada por Gasparovic et al. (2001), em regiões distantes do trauma, no mesmo hemisfério cerebral lesado, através de um modelo experimental em ratos, que eram submetidos a lesão por queda de peso na região sensitivo-motora cortical e, após 2 dias e 6 dias, os ratos foram sacrificados e foi medido o índice NAA/Cre em região fora da área do trauma, onde não havia indícios histológicos de lesão neuronal. Foi verificada uma queda de 14% na média dos valores deste índice no segundo dia após o trauma, em comparação com o grupo controle, e, no sexto dia, a diferença

era de apenas 7%, mostrando a recuperação parcial dos valores do índice. Estes autores então concluíram que há pelo menos um componente reversível responsável pela redução transitória do NAA, podendo corresponder a depressão metabólica, que também ocorre em regiões onde não há lesão ou morte neuronal.

A redução do índice NAA/Cre após lesão axonal induzida por trauma também foi demonstrada por Cecil et al. (1998a), que utilizaram modelo experimental de lesão axonal difusa em porcos, com comprovação histológica. Foram realizadas imagens convencionais de RM e espectroscopia nestes animais, *in vivo*, antes e após a lesão (1 hora e 7 dias após). O VOI da espectroscopia foi posicionado nas regiões hipocampus bilateralmente. Foi observada a redução, estatisticamente significativa, do índice NAA/Cre após o trauma, de até 30%. Eles concluíram que a MRS (utilizando o índice NAA/Cre) tem alta sensibilidade em diagnosticar patologia microscópica após lesão cerebral difusa na fase aguda, mesmo quando as imagens convencionais de RM não mostram lesão.

A primeira pesquisa descrita na literatura que utiliza a espectroscopia de prótons para avaliar índices metabólicos em pacientes com TCE fechado foi realizada por Choe et al. (1995), que analisaram 10 pacientes com TCE e 10 controles normais submetidos a MRS com um único 'voxel', posicionado na SB fronto-parietal à esquerda, sendo que o exame foi realizado entre 2 semanas e 2 meses após o trauma. Observou-se redução do índice NAA/Cre nos pacientes, em comparação ao grupo controle, que sugeria uma perda ou disfunção neuronal após o TCE, mas não houve diferença estatisticamente significativa do índice Cho/Cre. Após este, alguns outros estudos em seres humanos foram realizados utilizando a espectroscopia de prótons para a avaliação cerebral após TCE, tanto leve quanto moderado ou grave, nas fases agudas, subagudas e crônicas, através da análise

das concentrações do NAA, da creatina e da colina ou utilizando índices metabólicos, tais como NAA/Cre, NAA/Cho e Cho/Cre, e comparando-os com grupos controles normais. Nestes estudos, um achado comum a todos é a redução estatisticamente significativa da concentração de NAA, do índice NAA/Cho e do índice NAA/Cre em amostras na substância branca cerebral (ROSS et al., 1998; FRIEDMAN et al., 1998, 1999; BROOKS et al., 2000; GARNETT et al., 2000a, 2000b; GOVINDARAJU et al., 2004), no corpo caloso (CECIL et al., 1998b; SINSON et al., 2001), na substância cinzenta cerebral (RICCI et al., 1997; ROSS et al., 1998; FRIEDMAN et al., 1999; BROOKS et al., 2000), no tálamo (UZAN et al., 2003), no hipocampo e nos núcleos da base (ARIZA et al., 2004).

Alguns destes estudos mostraram aumento do índice Cho/Cre na substância branca (RICCI et al., 1997; GARNETT et al., 2000a, 2000b; GOVINDARAJU et al., 2004), aumento da concentração de colina na substância cinzenta (FRIEDMAN et al., 1998, 1999) e na substância branca (BROOKS et al., 2000), sugerindo que possa haver processo inflamatório ou alteração do metabolismo de membranas secundários ao trauma.

Além da redução dos valores da concentração do NAA e dos índices NAA/Cho e NAA/Cre, verificados após o TCE, existem evidências da correlação entre estes valores e o prognóstico dos pacientes, que foram avaliados através de testes neuropsicológicos ou de escalas de prognóstico (CHOE et al., 1995; RICCI et al., 1997; FRIEDMAN et al., 1998, 1999; BROOKS et al., 2000; GARNETT et al., 2000b; SINSON et al., 2001; UZAN et al., 2003; ARIZA et al., 2004).

Estes métodos quantitativos de RM descritos têm potencial para avaliar o dano neuronal e axonal do cérebro secundário a vários diferentes insultos, inclusive após o TCE, com diferentes enfoques, através da medida do aumento ventricular (que reflete a atrofia cerebral subcortical), da relaxometria (com a estimativa do tempo de relaxação T2, cuja elevação pode estimar o aumento da concentração de água secundária à perda neuronal e à gliose), do MTR (como um indicador de lesão axonal, desmielinização e destruição tecidual), do ADC (que reflete a destruição da bainha de mielina e lesão microestrutural das fibras axonais) e da espectroscopia de prótons (como um indicador da perda e da disfunção neuronal e axonal).

A maioria dos estudos mostra que as alterações após o TCE ocorrem principalmente na substância branca cerebral, tanto nas fases aguda e subaguda quanto na fase tardia.

Poucos estudos avaliaram o dano cerebral tardio, após o TCE, utilizando RM e pouco se conhece sobre a fisiopatologia da progressão tardia da lesão neuronal e sobre as seqüelas resultantes deste insulto. Blatter et al. (1997) observaram que, após o TCE, há uma subsequente redução progressiva do volume cerebral em uma taxa maior que na observada em pessoas normais da mesma idade, até 3 anos após o trauma.

2. Objetivo

Testar a hipótese de que técnicas quantitativas em ressonância magnética (índices ventrículo-cerebrais, relaxometria T2, índice de transferência de magnetização (MTR), coeficiente de difusão aparente (ADC) e espectroscopia de prótons) permitem identificar, de modo não invasivo, as variáveis biológicas, que estimam a perda neuronal e axonal tardia no cérebro, relacionadas ao traumatismo craniencefálico moderado e grave e à lesão axonal difusa.

3. Material

Entre setembro de 2002 e janeiro de 2005, foram estudados nove (9) pacientes que foram vítimas de TCE moderado ou grave, há pelo menos dois anos. Todos foram atendidos, na época do trauma, na Unidade de Emergência do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Inicialmente, foi realizado o levantamento e a revisão dos prontuários das vítimas de TCE, para se obter dados da época do trauma, e também a seleção dos prontuários que se enquadravam no protocolo da pesquisa. Após a seleção dos prontuários, os pacientes foram contatados para participarem do estudo. Através dos dados da revisão dos prontuários e da entrevista realizada previamente pelo pesquisador com os pacientes, foi avaliada a possibilidade da participação destes, considerando-se os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

3.1. Critérios de inclusão de pacientes (grupo teste):

- vítima de TCE fechado moderado (ECG na admissão de 8 a 11) ou grave (ECG na admissão de 3 a 7) (CHOE et al., 1995), com tempo de perda da consciência maior do que 30 minutos (KUMAR et al., 2003);
- tempo entre o dia do TCE e o dia do exame de RM maior que dois anos;
- idade entre 10 e 40 anos;
- qualquer raça, sexo ou grau de instrução;
- boa recuperação após o TCE.

3.2. Critérios de exclusão de pacientes (grupo teste):

- tempo do trauma menor que 2 anos;
- TCE leve (ECG na admissão de 12 a 15);
- idade menor que 10 e maior que 40 anos na data do exame;
- tempo de internação menor que 3 dias;

- mais de uma ocorrência de TCE;
- história de qualquer doença que acometa primariamente o sistema nervoso central anterior ao trauma, incluindo doenças neurodegenerativas, epilepsia e distúrbios psiquiátricos;
- antecedente de doenças sistêmicas que possam afetar secundariamente o sistema nervoso central, incluindo diabetes, hipertensão, nefropatia, hepatopatia e doenças auto-imunes;
- história de alcoolismo ou de uso de drogas ilícitas;
- pacientes em estado vegetativo persistente ou que não tiveram boa recuperação após o TCE;
- qualquer contra-indicação formal para a realização de exame de RM (portadores de marca-passo, clipe cirúrgico de aneurisma cerebral, prótese valvar cardíaca metálica, implantes metálicos oculares ou otológicos e presença de qualquer corpo estranho metálico);
- gestante;
- qualquer situação que possa ter impedido a realização adequada do exame de RM, incluindo pacientes claustrofóbicos;

Nove (9) pessoas sadias participaram voluntariamente do estudo para formar o grupo controle normal, pareados com os pacientes quanto ao sexo e à idade, considerando-se os seguintes critérios de exclusão:

3.3. Critérios de exclusão do grupo controle:

- antecedente de TCE;
- história de qualquer doença que acometa primariamente o sistema nervoso central, incluindo doenças neurodegenerativas, epilepsia e distúrbios psiquiátricos;
- antecedente de doenças sistêmicas que possam afetar secundariamente o sistema nervoso central, incluindo diabetes, hipertensão, nefropatia, hepatopatia e doenças auto-imunes;
- história de alcoolismo ou de uso de drogas ilícitas;
- qualquer contra-indicação formal para a realização de exame de RM (portadores de marca-passo, clipe cirúrgico de aneurisma cerebral, prótese valvar cardíaca metálica, implantes metálicos oculares ou otológicos e presença de qualquer corpo estranho metálico);
- gestante;
- qualquer situação que possa ter impedido a realização adequada do exame de RM, incluindo pacientes claustrofóbicos;

Os pacientes e os controles considerados adequados, pelos critérios acima descritos, para participarem do estudo foram devidamente informados a respeito do protocolo e sobre os procedimentos que seriam realizados através da folha de esclarecimentos (anexo A). Todos os pacientes e os controles (ou seus responsáveis) assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (anexo B). O projeto deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo,

em sua 144ª Reunião Ordinária realizada em 18 de novembro de 2002, de acordo com o Processo HCRP número 7609/2002 (anexo C).

3.4. Descrição demográfica da amostra.

A amostra foi composta de nove pacientes, sendo cinco (55,6%) do sexo masculino e quatro (44,4%) do sexo feminino, com média de idade, na data do exame de RM, de $21,1 \pm 5,0$ anos (idade mínima de 11 anos e máxima de 28 anos). O grupo controle normal era formado por nove pessoas pareadas quanto ao sexo e à idade, com idade média de $21,8 \pm 4,8$ anos (idade mínima de 13 anos e máxima de 28 anos). Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de idade dos dois grupos ($p > 0,05$) (tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição dos pacientes e dos controles de acordo com o sexo e a idade.

	<u>Sexo</u>	n	%	<u>Idade média $\pm$ DP (em anos)</u>
<u>Pacientes</u>	Masculino	5	55,6	$23,6 \pm 3,78$
	Feminino	4	44,4	$20,2 \pm 6,39$
	Total	9	100,0	$21,1 \pm 5,06$
<u>Controles</u>	Masculino	5	55,6	$23,4 \pm 4,09$
	Feminino	4	44,4	$20,0 \pm 5,47$
	Total	9	100,0	$21,8 \pm 4,78$

A idade média dos pacientes na data do TCE foi de 19,1 anos (20,2 anos no sexo masculino e 17,7 anos no sexo feminino), com idade mínima de 9 anos e máxima de 25 anos.

O tempo médio de intervalo entre a data do TCE e o exame de RM deste estudo foi de $3,1 \pm 0,5$ anos, com intervalo mínimo de 2 anos e 6 meses e máximo de 4 anos e 5 meses.

As causas do TCE foram: acidente automobilístico em 3 pacientes (33,3%), atropelamento por automóvel em 2 pacientes (22,2%), espancamento em 2 pacientes (22,2%), queda de bicicleta em movimento em 1 paciente (11,1%) e queda da carroceria de um caminhão em movimento em 1 paciente (11,1%).

O valor da Escala de Coma de Glasgow na admissão variou de 4 a 11, sendo que o TCE foi classificado em moderado (ECG na admissão de 8 a 11) em 6 pacientes (66,7%) e grave (ECG na admissão de 3 a 7) em 3 pacientes (33,3%) (figura 2).

Figura 2 – Distribuição dos pacientes quanto ao valor da Escala de Coma de Glasgow (ECG) da admissão na Unidade de Emergência no dia do TCE, separados por sexo.

O tempo de internação após o TCE foi de, no mínimo, 5 dias e, no máximo, 53 dias com uma média de 17,2 dias.

Os exames de tomografia computadorizada realizados no dia do trauma mostravam imagens que sugeriam lesão axonal difusa (LAD) em 5 pacientes, áreas de contusão em 3 pacientes, edema cerebral em 2 pacientes, hematoma subdural em 1 paciente e hemorragia intraventricular com hidrocefalia em 1 paciente. Dois pacientes tiveram uma avaliação clínica na época do trauma que sugeria LAD, apesar dos exames de TC não terem uma imagem típica. Portanto, sete pacientes (77,8%) apresentavam sinais clínicos e/ou imagens na TC que sugeriam LAD. O paciente com hematoma subdural foi submetido a cirurgia para drenagem e, no paciente que apresentava hemorragia intraventricular com hidrocefalia aguda, foi colocado um cateter de derivação ventricular externa.

A descrição detalhada de cada paciente pode ser consultada no anexo D e a descrição dos controles está no anexo E.

Nenhum destes pacientes fez seguimento médico regular no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto.

4. Métodos

Os exames de RM foram realizados em equipamento supercondutor com campo magnético de 1,5 Tesla (modelo *Magnetom Vision - Siemens*[®], Erlangen, Alemanha), com amplitude de gradiente de 25 mT/m e tempo de ascensão do gradiente de 24 $\mu\text{s.mT}^{-1}.\text{m}^{-1}$, instalado no Centro de Ciência das Imagens e Física Médica do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, utilizando bobina emissora e receptora de radiofrequência para cabeça, com polarização circular, disponível comercialmente.

O pós-processamento das imagens foi realizado em uma estação de trabalho *SUN Spark*[®], acoplada ao equipamento de RM, em uma estação de trabalho *SGI* modelo *O2*[®], e em computadores com sistemas operacionais *Linux* e *Windows*[®].

Antes da realização do exame, os pacientes e os controles foram submetidos a um questionário para excluir qualquer contra-indicação para a realização da RM e foram dadas as explicações sobre o procedimento a que seriam submetidos.

4.1. Protocolo das aquisições das seqüências e imagens por RM.

4.1.1. Seqüência FLAIR (“fluid attenuation inversion recovery”).

Imagens ponderadas em T2 com atenuação do sinal da água livre pelo método de inversão e recuperação, nos planos transversal, sagital e coronal, que foram utilizadas para o posicionamento do VOI da espectroscopia e para a avaliação morfológica qualitativa. As imagens coronais foram utilizadas no cálculo dos índices ventrículo-cerebrais.

Seqüência TSE (“turbo spin echo”), TR de 7.700 ms, TE de 119 ms, tempo de inversão de 2.200 ms, FOV de 230 mm, matriz de 112 x 256, uma aquisição, com espessura do corte de 5 mm e com espaçamento entre os cortes de 1 mm.

4.1.2. Seqüências para cálculo do índice de transferência de magnetização.

Foram realizadas duas seqüências seguidas, ponderadas em T1, no plano transversal, gradiente-eco 3D, com TR de 34 ms, TE de 11 ms, ângulo de ntação de 30°, FOV de 256 mm, matriz de 175 x 256, uma aquisição, com espessura do corte de 3 mm e sem espaçamento entre os cortes. Apenas na segunda seqüência foi aplicado o pulso de saturação fora de ressonância para transferência de magnetização (MT).

4.1.3. Seqüência para a relaxometria.

Seqüência TSE (“turbo spin echo”) com duplo eco, no plano transversal, com TR de 2.700 ms, TE de 17 ms e 102 ms, FOV de 240 mm, matriz de 140 x 256, duas aquisições, com espessura do corte de 3 mm e sem espaçamento entre os cortes.

4.1.4. Seqüência ponderada em difusão (dMRI).

Seqüência ecoplanar para imagens ponderadas em difusão isotrópicas, com TR de 5.100 ms, TE de 137 ms, FOV de 240 mm, matriz de 96 x 128, três planos ortogonais de aquisição, com espessura do corte de 5 mm e com espaçamento entre os cortes de 1,5 mm, quatro aquisições ($b = 0$; $b = 50$; $b = 500$ e $b = 1000$ s/mm²).

4.1.5. Seqüência para espectroscopia (MRS).

Seqüência '*multi-voxel*' PRESS, com TR de 1.500 ms, TE de 270 ms, matriz 16 x 16, duas aquisições. Antes da aquisição, foram realizados ajustes automatizados dos gradientes e das freqüências de emissão e recepção do equipamento (aparelho e bobina), e o cálculo da freqüência do pulso para supressão da água. O volume de interesse foi posicionado ao nível do corpo caloso, logo acima dos ventrículos laterais, utilizando as imagens da seqüência FLAIR (figura 3), medindo cerca de 80 x 100 mm e com espessura de 20 mm, estendendo-se desde a região frontal até a região parietal, bilateralmente. O VOI estava subdividido em 80 '*voxels*' que mediam cada um 10 x 10 x 20 mm, com volume de 2,0 cm³.

Figura 3 – Posicionamento do VOI da espectroscopia utilizando as imagens FLAIR nos planos transversal (A), coronal (B) e sagital (C). Figura retirada de um exame controle normal, 22 anos, sexo masculino.

4.2. Protocolo de pós-processamento das seqüências e imagens adquiridas e medidas dos índices e coeficientes.

Após a aquisição das imagens em formato DICOM (“Digital Imaging and Communications in Medicine”), estas eram transferidas para as estações de trabalho, onde eram armazenadas. Através de um programa de conversão (utilizado em sistema operacional *Linux*), cada seqüência de imagens DICOM era convertida em um único arquivo de imagem chamado ‘*minc*’ (cujo formato era ***.mnc*). Assim sendo, cada arquivo ‘*minc*’ continha todas as imagens de uma mesma seqüência agrupadas. Para a visualização das imagens ‘*minc*’, foi utilizado um programa denominado ‘*xdisp*’. Este programa, além da visualização com ajustes de brilho e do contraste, permitia medir a intensidade do sinal através de ROI e fazer medidas de distâncias. As imagens nos formatos DICOM e ‘*minc*’ foram então usadas nas estações de trabalho para fazer as medidas descritas abaixo.

4.2.1. Índices ventrículo-cerebrais.

Foram calculados os índices ventrículo-cerebrais bifrontal (IVC_F) e bicaudado (IVC_C) utilizando as imagens FLAIR no plano coronal.

O IVC_F foi calculado através da razão entre a maior distância entre os cornos frontais dos ventrículos laterais e a maior distância entre as superfícies corticais de ambos os hemisférios cerebrais no mesmo corte. O corte em que foram realizadas as medidas é o que estava no nível dos forames de Monro (figura 4).

Figura 4 – Posicionamento das medidas para o cálculo do índice ventrículo-cerebral bifrontal. Figura retirada de um exame controle normal, 28 anos, sexo masculino.

Figura 5 – Posicionamento das medidas para o cálculo do índice ventrículo-cerebral bicaudado. Figura retirada de um exame controle normal, 28 anos, sexo masculino.

O IVC_C foi calculado através da razão entre a distância da porção média dos núcleos caudados e a maior distância entre as superfícies corticais de ambos os hemisférios cerebrais no mesmo corte. Para esta medida, foi utilizado o primeiro corte anterior ao que foi usado para a medida do IVC_F (figura 5).

4.2.2. Espectroscopia e índices metabólicos (NAA/Cre e Cho/Cre).

Logo após a aquisição da sequência, o cálculo das curvas espectrais era realizado na estação de trabalho acoplada ao aparelho de RM, com programa computacional da *Siemens*[®], que processa os sinais adquiridos com a utilização de transformada de Fourier, apodização, filtro ‘*Gaussiano*’, supressão da água residual e correção polinomial da linha de base e da fase.

Figura 6 – Mapas numéricos da concentração estimada dos metabólitos cerebrais, resultantes do cálculo da integral dos picos de N-acetilaspártato (A), creatina (B) e colina (C), *voxel a voxel*. Figura retirada de um exame controle normal, 26 anos, sexo feminino.

Para cada ‘*voxel*’, foram calculados os valores das integrais dos picos de NAA, colina e creatina, estimando a concentração destes metabólitos, realizados

automaticamente pelo programa da estação de trabalho através método de ajustamento de curvas, formando mapas numéricos dos metabólitos no VOI (figura 6).

A partir destes mapas numéricos, foram calculados os índices NAA/Cre e Cho/Cre de cada 'voxel'. O VOI foi dividido em cinco regiões: regiões frontais direita e esquerda, parietais direita e esquerda e corpo caloso (figura 7). Em cada região, foi feito o cálculo da média dos valores dos oito 'voxels' para cada índice metabólico.

Figura 7 – Conjuntos de voxel utilizados para calcular os valores médios dos índices metabólicos (NAA/Cre e Cho/Cre), separados em cinco regiões: frontais direita e esquerda (A), parietais direita e esquerda (B) e corpo caloso (C e D). Figura retirada de um exame controle normal, 22 anos, sexo masculino.

4.2.3. Tempo de relaxação T2 (relaxometria).

As imagens de duplo eco em formato DICOM, arquivadas em estação de trabalho com sistema operacional *Windows*[®], foram utilizadas em programa para cálculo da relaxometria T2 desenvolvido pelo Departamento de Física e Matemática da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, a partir do programa *MatLab*[®], capaz de fornecer o tempo de relaxação T2 para as regiões de interesse (ROI) traçadas sobre a imagem. Este programa já havia sido previamente validado com estudos em grupos controles.

As regiões de interesse foram divididas em substância branca frontal direita e esquerda, substância branca parietal direita e esquerda, substância cinzenta direita e esquerda (no giro do cíngulo), joelho e esplênio do corpo caloso (figura 8).

Pelo menos três medidas foram feitas em cada região de interesse e depois foi calculada a média dos valores para cada região. Esta média foi então considerada como o valor do tempo de relaxação T2 de cada região de interesse.

Para a substância branca, foram realizadas pelo menos três medidas nas regiões de interesse de cada corte que estava no mesmo nível do VOI da espectroscopia, considerando toda a sua espessura. Como o VOI tinha uma espessura de 20 mm e o cortes da relaxometria tinham 3 mm cada, as medidas foram realizadas em 7 cortes e depois realizada a média para chegar no valor final de cada região de interesse na substância branca.

Figura 8 – Regiões de interesse para avaliação dos valores do tempo de relaxação T2, do MTR e do ADC. Substância cinzenta direita e esquerda (A), joelho e esplênio do corpo caloso (B) e substância branca frontal e parietal bilateralmente (C, D, E e F). Figuras retiradas de um exame controle normal.

4.2.4. Mapa do coeficiente de difusão aparente (ADC).

Junto com a aquisição das imagens isotrópicas ponderadas em difusão, era montado o mapa de ADC, cujo cálculo dos valores foi realizado pelo próprio programa do aparelho de RM (figura 9).

Figura 9 – Representação do mapa de ADC em escala de cinzas, formando uma imagem, através da qual foram traçadas as regiões de interesse para obtenção dos valores. Figura retirada de um exame controle normal, 18 anos, sexo masculino.

As regiões de interesse (ROI) foram traçadas para a obtenção dos valores do ADC, na estação de trabalho do próprio aparelho, com auxílio das imagens ponderadas em T1 e em T2 para a diferenciação das substâncias branca e cinzenta, pois no mapa de ADC esta diferenciação não é possível. Estas regiões de interesse foram as mesmas descritas na relaxometria (figura 8). A única diferença é que, como

a espessura de cada corte nesta seqüência foi de 5 mm, para a medida dos valores de cada região de interesse da substância branca, foram utilizados 4 cortes no mesmo nível do VOI da espectroscopia (que tinha 20 mm de espessura) e depois foi calculada a média dos valores de cada região.

4.2.5. Índice de transferência de magnetização (MTR).

O MTR foi calculado a partir do sinal das imagens gradiente eco-3D ponderadas em T1 sem o pulso de supressão por MT (M_0) e com o pulso (M_S), arquivadas em formato '*minc*'. O cálculo foi realizado '*pixel*' a '*pixel*' através da fórmula:

$$MTR = [(M_0 - M_S) / M_0] \times 100$$

Só foram utilizados os sinais dos '*pixels*' que estivessem acima do nível do ruído, que foi definido pela média entre o maior valor do sinal 'de fundo' (isto é, o ruído do ar que circunda o crânio) e o menor valor do sinal do líquido no interior dos ventrículos laterais ao nível do forame de Monro. Todo este cálculo foi feito através de um programa na estação de trabalho, em sistema operacional *Linux*, resultando em um mapa de MTR (figura 10). A partir deste mapa, foram calculadas as médias dos valores do MTR para cada região de interesse, sendo que as regiões de interesse e a maneira de se obter estes valores foram as mesmas da relaxometria (figura 8).

Figura 10 – Representação do mapa de MTR em escala de cinzas, formando uma imagem, através da qual foram traçadas as regiões de interesse para obtenção dos valores. Figura retirada de um exame controle normal, 18 anos, sexo masculino.

5. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS® para Windows® (SPSS Inc., Chicago, IL).

As variáveis dependentes eram contínuas e, através do teste de Kolmogorov-Smirnov, ficou demonstrado que todas apresentavam distribuição normal.

Foram calculados a média e o desvio padrão de todas as variáveis, em cada região de interesse. Para comparar as variáveis 'tempo de relaxação T2', 'ADC', 'MTR', índices metabólicos 'NAA/Cre' e 'Cho/Cre' dos pacientes e dos controles, medidas em cada região de interesse (SB frontal direita e esquerda, SB parietal direita e esquerda, SC direita e esquerda, joelho e esplênio do corpo caloso), bem como para comparar os índices ventrículo-cerebrais, foi utilizado o teste *t* de *Student* para duas amostras, assumindo variâncias iguais (análise univariada).

As variáveis medidas nas regiões de interesse foram agrupadas em SB das regiões frontais (frontal direita com frontal esquerda), SB das regiões parietais (parietal direita com parietal esquerda), SB global (frontais direita e esquerda com parietais direita e esquerda), SC bilateral (SC direita e esquerda) e corpo caloso (joelho e esplênio). Para cada uma destas regiões agrupadas foram também calculados a média e o desvio padrão. Para a comparação das variáveis entre os pacientes e os controles nestas regiões agrupadas, foi utilizada a análise de variância multivariada (MANOVA).

O valor da probabilidade do erro tipo 1 (α) menor que ou igual a 5% ($p \leq 0,05$) foi considerado estatisticamente significativo.

6. Resultados

6.1. Avaliação qualitativa das imagens convencionais de RM.

Um paciente apresentava várias áreas de ausência de sinal esparsas no corpo caloso e na substância branca cerebral subcortical bilateralmente (figura 11), que provavelmente correspondiam a depósitos de hemossiderina, pois havia laudo de TC realizada no dia do trauma no prontuário que descrevia a presença de algumas pequenas áreas hemorrágicas em ambos os hemisférios cerebrais, subcorticais, e no corpo caloso. Estas áreas de ausência do sinal foram evitadas nas medidas dos valores das variáveis nas regiões de interesse.

Figura 11 – Imagens de RM (TSE ponderada em T2 no plano transversal (A e B) e FLAIR no plano sagital (C)) do paciente 4, 22 anos, sexo masculino, que apresentava várias áreas de ausência de sinal em todas as seqüências, correspondentes a depósitos de hemossiderina, esparsas nas regiões subcorticais bilateralmente (setas vermelhas), no joelho e no esplênio do corpo caloso (setas amarelas).

Em dois pacientes (22,2%), foi observada pequena área de atrofia focal associada a sinais de gliose na região temporal esquerda em ambos (figura 12), devendo corresponder a seqüela de contusão, que foi descrita na TC realizada no dia do trauma.

Figura 12 – Imagens de RM da paciente 2, sexo feminino, 24 anos. Seqüências GE ponderada em T1 (A) e TSE ponderada em T2 (B) no plano transversal e seqüência FLAIR no plano coronal (C) evidenciando área de atrofia focal na região temporal esquerda (setas amarelas) correspondente a seqüela de contusão cerebral.

O alargamento dos sulcos e fissuras cerebrais (isto é, atrofia cortical) foi observado em sete pacientes (77,8%), sendo mais acentuado em quatro pacientes (44,4%) que também apresentavam redução difusa da espessura do corpo caloso (figura 13).

Figura 13 – Imagens de RM. Em A e D, seqüência TSE ponderada em T2 no plano transversal; em B e E, seqüência FLAIR no plano coronal; em C e F, seqüência FLAIR no plano sagital. As figuras A, B e C são imagens do paciente 9, sexo masculino, 28 anos, vítima de TCE, que evidenciam atrofia cortical (setas amarelas em A), aumento dos ventrículos laterais e do terceiro ventrículo (seta vermelha em B) e redução difusa da espessura do corpo caloso (seta azul em C). As figuras D, E e F são de um controle normal, sexo masculino, 22 anos.

Sinusopatia foi observada em quatro pacientes e um paciente apresentava cistos de plexo coróide, bilaterais e simétricos.

6.2. Índices ventrículo-cerebrais.

A análise dos índices ventrículo-cerebrais bifrontal (IVC_F) e bicaudado (IVC_C) mostrou que a média dos valores de ambos foi maior na amostra de pacientes do que no grupo controle e esta diferença foi estatisticamente significativa nos dois índices (tabela 2 e figura 14).

Tabela 2 – Resultados das médias dos índices ventrículo-cerebrais.

<u>Índice</u>	<u>n</u>	<u>Pacientes</u> média $\pm$ DP (%)	<u>Controles</u> média $\pm$ DP (%)	<u>p</u>
IVC bifrontal	9	28,2 $\pm$ 2,9 (%)	21,8 $\pm$ 2,5 (%)	0,0001
IVC bicaudado	9	18,2 $\pm$ 2,7 (%)	11,1 $\pm$ 1,2 (%)	< 0,0001

Figura 14 – Distribuição das médias dos valores dos índices ventrículo-cerebrais bifrontal e bicaudado da amostra de pacientes e do grupo controle (* $\rightarrow p \leq 0,05$).

6.3. Tempo de relaxação T2 (relaxometria).

As médias dos valores do tempo de relaxação T2 foram maiores nos pacientes do que no grupo controle em todas as regiões de interesse que estavam posicionadas na substância branca e no corpo caloso, com diferença estatisticamente significativa (tabela 3 e figura 15). Não houve diferença significativa nos valores das médias das ROI's posicionadas na substância cinzenta.

Figura 15 – Distribuição das médias dos valores dos tempos de relaxação T2 (em milissegundos) nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* $\rightarrow p \leq 0,05$).

Tabela 3 – Resultados das médias dos **tempos de relaxação T2** (em milissegundos).

<u>Regiões de interesse</u>	<u>Pacientes</u> média $\pm$ DP (ms)	<u>Controles</u> média $\pm$ DP (ms)	<i>p</i>
SB frontal D	101,9 $\pm$ 4,1	94,7 $\pm$ 2,5	0,0004*
SB frontal E	101,1 $\pm$ 3,7	93,6 $\pm$ 2,1	0,0001*
SB regiões frontais (D+E)	101,5 $\pm$ 3,8	94,2 $\pm$ 2,1	0,0005*
SB parietal D	111,5 $\pm$ 5,2	103,0 $\pm$ 3,0	0,0006*
SB parietal E	110,6 $\pm$ 3,5	101,0 $\pm$ 2,1	0,0001*
SB regiões parietais (D+E)	111,1 $\pm$ 4,2	102,0 $\pm$ 2,3	<0,0001*
SB global (frontais+parietais)	106,3 $\pm$ 2,1	98,1 $\pm$ 2,0	<0,0001*
Joelho do corpo caloso	91,2 $\pm$ 3,2	87,9 $\pm$ 2,7	0,0320*
Esplênio do corpo caloso	102,9 $\pm$ 3,9	92,9 $\pm$ 6,0	0,0008*
Corpo caloso (joelho+esplênio)	94,7 $\pm$ 2,5	89,4 $\pm$ 2,0	0,0004*
SC direita	125,9 $\pm$ 6,0	123,7 $\pm$ 4,5	0,3886
SC esquerda	121,8 $\pm$ 6,4	122,7 $\pm$ 5,3	0,7534
SC bilateral (D+E)	123,9 $\pm$ 5,9	123,2 $\pm$ 4,3	0,3214

* $\rightarrow p \leq 0,05$

6.4. Coefficiente de difusão aparente (ADC).

As médias dos valores do ADC foram maiores nos pacientes do que no grupo controle em todas as regiões de interesse que estavam na topografia da substância branca e do corpo caloso, com diferença estatisticamente significativa. Os valores das médias das ROI's posicionadas na topografia da substância cinzenta também foram um pouco maiores nos pacientes, mas esta diferença não foi estatisticamente significativa (tabela 4 e figura 16).

Tabela 4 – Resultados das médias dos coeficientes de difusão aparente (ADC).

<u>Regiões de interesse</u>	<u>Pacientes</u> média ± DP (x 10⁻⁹ m²/s)	<u>Controles</u> média ± DP (x 10⁻⁹ m²/s)	<i>p</i>
SB frontal D	96,7 ± 11,7	83,2 ± 8,8	0,0143*
SB frontal E	100,6 ± 12,2	90,3 ± 5,8	0,0367*
SB regiões frontais (D+E)	98,7 ± 11,1	86,7 ± 7,0	0,0497*
SB parietal D	104,3 ± 9,6	87,6 ± 5,4	0,0004*
SB parietal E	98,0 ± 9,8	80,6 ± 6,9	0,0005*
SB regiões parietais (D+E)	101,1 ± 9,1	84,1 ± 6,0	0,0015*
SB global (frontais+parietais)	99,9 ± 6,4	85,4 ± 6,4	0,0061*
Joelho do corpo caloso	99,0 ± 17,7	81,9 ± 2,4	0,0233*
Esplênio do corpo caloso	104,2 ± 13,0	78,9 ± 3,7	0,0009*
Corpo caloso (joelho+esplênio)	100,7 ± 10,7	80,9 ± 2,2	<0,0001*
SC direita	86,3 ± 6,5	82,3 ± 4,1	0,1334
SC esquerda	88,9 ± 7,3	83,7 ± 5,0	0,0960
SC bilateral (D+E)	87,6 ± 6,5	83,0 ± 3,7	0,2301

* → $p \leq 0,05$

Figura 16 – Distribuição das médias dos valores do ADC nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* → $p \leq 0,05$).

6.5. Índice de transferência de magnetização (MTR).

As médias dos valores do MTR foram menores nos pacientes do que no grupo controle em todas as regiões de interesse que estavam posicionadas na substância branca e no corpo caloso, com diferença estatisticamente significativa (tabela 5 e figura 17). Não houve diferença significativa nos valores das médias das ROI's posicionadas na substância cinzenta.

Tabela 5 – Resultados das médias dos índices de transferência de magnetização (MTR).

<u>Regiões de interesse</u>	<u>Pacientes</u> média ± DP (%)	<u>Controles</u> média ± DP (%)	<i>p</i>
SB frontal D	27,5 ± 1,3	29,1 ± 0,9	0,0092*
SB frontal E	27,2 ± 1,5	29,0 ± 0,9	0,0102*
SB regiões frontais (D+E)	27,4 ± 1,4	29,0 ± 0,8	0,0295*
SB parietal D	26,7 ± 1,3	28,6 ± 0,5	0,0064*
SB parietal E	26,4 ± 1,3	28,3 ± 1,0	0,0030*
SB regiões parietais (D+E)	26,5 ± 1,2	28,4 ± 0,6	0,0044*
SB global (frontais+parietais)	26,9 ± 1,2	28,8 ± 0,7	0,0358*
Joelho do corpo caloso	28,8 ± 1,0	30,6 ± 1,4	0,0077*
Esplênio do corpo caloso	27,3 ± 1,5	29,5 ± 1,0	0,0033*
Corpo caloso (joelho+esplênio)	28,1 ± 1,2	30,1 ± 1,1	0,0118*
SC direita	21,3 ± 1,4	21,1 ± 1,7	0,8589
SC esquerda	20,0 ± 1,7	20,3 ± 1,0	0,5887
SC bilateral (D+E)	20,6 ± 1,4	20,7 ± 1,2	0,7254

* → $p \leq 0,05$ **Figura 17** – Distribuição das médias dos valores do MTR nas regiões de interesse da amostra de pacientes e do grupo controle (* → $p \leq 0,05$).

6.6. Índice metabólico NAA/Cre.

As médias dos valores do índice metabólico NAA/Cre foram menores nos pacientes, quando comparadas às dos controles, em todos os grupos de 'voxels' das regiões estudadas (frontais direito e esquerdo, parietais direito e esquerdo e corpo caloso), mas a diferença foi estatisticamente significativa apenas no corpo caloso, onde a média dos pacientes foi $1,82 \pm 0,2$ e a média dos controles foi $2,21 \pm 0,2$ (tabela 6 e figura 18). Nas demais regiões, esta diferença não foi significativa ($p > 0,05$).

Tabela 6 – Resultados das médias do índice metabólico NAA/Cre.

<u>Regiões de interesse</u>	<u>Pacientes</u> média $\pm$ DP	<u>Controles</u> média $\pm$ DP	<i>p</i>
Frontal D	2,36 $\pm$ 0,18	2,49 $\pm$ 0,38	0,3625
Frontal E	2,19 $\pm$ 0,22	2,36 $\pm$ 0,24	0,1361
Regiões frontais (D+E)	2,27 $\pm$ 0,17	2,43 $\pm$ 0,20	0,2344
Parietal D	2,30 $\pm$ 0,32	2,55 $\pm$ 0,27	0,0915
Parietal E	2,26 $\pm$ 0,25	2,30 $\pm$ 0,22	0,7147
Regiões parietais (D+E)	2,28 $\pm$ 0,23	2,43 $\pm$ 0,19	0,2523
Regiões frontais + parietais	2,28 $\pm$ 0,07	2,43 $\pm$ 0,11	0,2750
Corpo caloso	1,81 $\pm$ 0,20	2,21 $\pm$ 0,26	0,0027*

* $\rightarrow p \leq 0,05$

Figura 18 – Distribuição das médias dos valores do índice NAA/Cre das regiões estudadas nos grupos de pacientes e de controles. Os valores das médias foram menores nos pacientes, em todas as regiões, mas apenas no corpo caloso esta diferença foi estatisticamente significativa (*).

6.7. Índice metabólico Cho/Cre.

Não foi observada diferença estatisticamente significativa nas médias dos valores do índice metabólico Cho/Cre entre os grupos de pacientes e de controles em todas as regiões estudadas (frontais direito e esquerdo, parietais direito e esquerdo e corpo caloso), apesar de ter sido notado que as médias foram um pouco menores nos pacientes em quase todas as regiões, exceto, apenas, na região parietal esquerda (tabela 7 e figura 19).

Tabela 7 – Resultados das médias do índice metabólico **Cho/Cre**.

<u>Regiões de interesse</u>	<u>Pacientes</u> média $\pm$ DP	<u>Controles</u> média $\pm$ DP	<i>p</i>
Frontal D	1,02 $\pm$ 0,12	1,09 $\pm$ 0,16	0,2982
Frontal E	0,97 $\pm$ 0,08	1,07 $\pm$ 0,12	0,0570
Regiões frontais (D+E)	0,99 $\pm$ 0,09	1,08 $\pm$ 0,08	0,1245
Parietal D	0,89 $\pm$ 0,14	1,03 $\pm$ 0,15	0,0682
Parietal E	0,99 $\pm$ 0,11	0,96 $\pm$ 0,12	0,6785
Regiões parietais (D+E)	0,94 $\pm$ 0,08	0,99 $\pm$ 0,09	0,1994
Regiões frontais + parietais	0,96 $\pm$ 0,05	1,04 $\pm$ 0,05	0,1827
Corpo caloso	0,98 $\pm$ 0,12	1,05 $\pm$ 0,24	0,4314

Figura 19 – Distribuição das médias dos valores do índice Cho/Cre das regiões estudadas nos grupos de pacientes e de controles. Não se observou diferença estatisticamente significativa em nenhuma das regiões.

7. Discussão

A ressonância magnética é, indiscutivelmente, um instrumento de grande valor na avaliação de diversas patologias do sistema nervoso central, com alta sensibilidade para a detecção de pequenas alterações e permitindo uma excelente localização topográfica das diversas estruturas e das alterações, quando presentes, podendo ser realizados vários planos de corte, com alta resolução espacial e com bom contraste. As diversas técnicas utilizadas rotineiramente nos exames diagnósticos exibem imagens chamadas convencionais e que possibilitam a caracterização dos diferentes tecidos pela diferença do comportamento do sinal nas seqüências utilizadas. Estas técnicas, que também são denominadas qualitativas, permitem a interpretação rápida e subjetiva pelo examinador e têm comprovada eficácia na determinação das alterações e no auxílio diagnóstico durante avaliação clínica ambulatorial ou hospitalar. Além disto, é um exame seguro, que não emite radiação ionizante, não é invasivo e é bem tolerado pela grande maioria das pessoas.

Algumas alterações, entretanto, podem não ter expressão nas imagens qualitativas, isto é, não são visíveis para o examinador por se tratarem de diferenças sutis do sinal entre o tecido normal e o tecido patológico. Nestes casos, a análise quantitativa do sinal das seqüências, bem como a utilização de técnicas quantitativas especiais, permitem a avaliação, de modo altamente preciso e objetivo, destas alterações, aumentando muito a sensibilidade e a acurácia do exame.

A perda neuronal e axonal no encéfalo, que ocorre nas fases aguda, subaguda e tardia após o TCE, já demonstrada em estudos experimentais, só pode ser confirmada através da análise histológica de fragmentos de tecidos cerebrais, que, obviamente, é impraticável em seres humanos. Algumas técnicas quantitativas em RM têm potencial para estimar este dano secundário ao TCE.

O dano neuronal e axonal resulta em algumas modificações microscópicas e macroscópicas, que podem ser utilizadas como variáveis biológicas para a demonstração indireta da disfunção ou da perda celular. Independente do tipo de alteração que resulte na perda neuronal e axonal, seja por lesão direta, por lesão axonal difusa, por apoptose ou por disfunção metabólica, a redução do número de células nervosas promove redução do volume do parênquima cerebral (atrofia), aumento da concentração de água no espaço extracelular, redução da quantidade dos metabólitos intracelulares, redução das macromoléculas que compõem a bainha de mielina dos axônios e destruição do citoesqueleto axonal, aumentando a difusão anisotrópica da água livre. As técnicas quantitativas realizadas neste estudo tiveram a finalidade de tentar identificar cada uma destas variáveis biológicas, resultando, portanto, numa análise multiparamétrica indireta do dano cerebral tardio secundário ao TCE.

7.1. Índices ventrículo-cerebrais.

A atrofia cerebral cortical e subcortical é a principal consequência do dano neuronal cerebral e pode ser identificada em exames de imagem pelo alargamento dos sulcos e fissuras e pelo aumento ventricular, respectivamente.

A atrofia focal e difusa secundária ao trauma já foi demonstrada por vários estudos, tanto em modelos experimentais em animais (SMITH et al., 1997; BRAMLETT et al., 1997, 2002), quanto em seres humanos (VAN DONGEN; BRAAKMAN, 1980; WILSON et al., 1988; REIDER-GROSWASSER et al., 1993; SHIOZAKI et al., 2001).

Alguns estudos demonstraram que a atrofia apresenta uma progressão lenta na fase tardia após o TCE (BIGLER et al., 1992; BLATTER et al., 1997; BIGLER 2001). Blatter et al. (1997) demonstraram que a progressão da atrofia cerebral após o TCE tem decaimento exponencial, sendo maior no primeiro ano, e notaram uma taxa de redução do volume cerebral maior que na observada em pessoas normais da mesma idade até 3 anos após o trauma. Esta progressão deve estar relacionada à apoptose neuronal desencadeada pelo trauma (CONTI et al., 1998).

A dilatação ventricular é um dos achados mais comuns após TCE, está relacionada com o grau de perda de substância branca cerebral e está inversamente relacionada com o prognóstico cognitivo (BIGLER, 2001).

O maior valor das médias dos índices ventrículo-cerebrais bifrontal e bicaudado no grupo de pacientes em relação ao grupo controle neste estudo reflete o aumento dos ventrículos laterais por atrofia subcortical, demonstrando o dano axonal secundário apenas ao TCE, pois nenhum destes pacientes apresentava qualquer outro fator que pudesse explicar a atrofia, isto é, todos eram jovens, sem nenhuma patologia sistêmica e sem nenhum antecedente de alcoolismo ou de uso de drogas. Apesar de não ter sido realizada nenhuma medida quantitativa para demonstrar a atrofia cortical, foi possível observar, de modo qualitativo, através da avaliação das imagens convencionais, o alargamento de sulcos e fissuras cerebrais em sete pacientes (77,8%), sendo que este achado não é esperado para pessoas normais da mesma idade, demonstrando a perda neuronal.

A atrofia cerebral tipicamente está relacionada ao TCE moderado ou grave. O aparecimento de atrofia após trauma leve é controverso na literatura, sendo que Bigler (2001) afirmou que TCE leve não resulta em redução significativa do volume cerebral ou em aumento do sistema ventricular, mas Hofman et al. (2001)

demonstraram o desenvolvimento tardio de atrofia cerebral em pacientes com trauma leve, que apresentavam alguma lesão no exame do dia do trauma.

O encontro do aumento ventricular e do alargamento dos sulcos e fissuras cerebrais no grupo de pacientes neste estudo era, portanto, esperado, pois todos os pacientes foram vítimas de trauma moderado ou grave, avaliados na fase tardia, e os índices ventrículo-cerebrais utilizados foram capazes de demonstrar o aumento ventricular por atrofia subcortical neste grupo em comparação ao grupo controle.

7.2. Relaxometria T2.

O aumento do tempo de relaxação T2 reflete um aumento da concentração de água nos tecidos. No sistema nervoso central, as principais causas que promovem este aumento da concentração de água são: processo inflamatório, edema, desmielinização, gliose ou perda neuronal (BARNES et al., 1988; LARSSON et al., 1989; ARMSPACH et al., 1991; BERNASCONI et al., 2000; BOUILLERET et al., 2000; PAPANIKOLAOU et al., 2004).

Neste estudo, foram observadas médias dos valores do tempo de relaxação T2 maiores na substância branca cerebral e no corpo caloso dos pacientes, quando comparadas às médias do grupo controle, mostrando que houve aumento da concentração de água nestas regiões. A causa deste aumento deve ser decorrente da perda axonal (com conseqüente perda da bainha de mielina) e da gliose secundárias ao TCE, pois os pacientes avaliados não tinham nenhum antecedente ou achado clínico que pudesse sugerir a presença de processo inflamatório agudo ou edema. Mesmo a presença de processo inflamatório crônico secundário ao

trauma é muito pouco provável, pois estes pacientes foram avaliados em fase muito tardia após o trauma.

Visualmente, através da análise qualitativa das imagens convencionais, não foi possível notar a diferença do tempo de relaxação T2 entre os pacientes e o grupo controle, mas, através da relaxometria, ficou demonstrada esta diferença. Portanto, na substância branca aparentemente normal, a relaxometria foi capaz de determinar o aumento do tempo de relaxação T2 secundário à perda axonal e à gliose conseqüentes ao TCE.

Na substância cinzenta, não foi observada diferença significativa no tempo de relaxação T2 entre os pacientes e o grupo controle. Isto pode ter ocorrido porque o método não foi capaz de demonstrar a perda neuronal na SC ou porque a redução do número de neurônios não foi suficiente para alterar o tempo de relaxação nesta região.

7.3. Índice de transferência de magnetização (MTR).

Nas seqüências em que se utiliza o pulso de saturação direcionado para os prótons ligados às macromoléculas nos tecidos orgânicos, para transferência de magnetização, quanto maior a concentração destas macromoléculas, maior será o índice de transferência de magnetização e maior será a queda do sinal na imagem adquirida. Sendo assim, quando há redução na concentração destas macromoléculas, espera-se uma redução no valor do MTR. Quando estamos avaliando o sistema nervoso central, as principais macromoléculas estudadas são as proteínas e os esfingolípides das membranas axonais e da mielina, presentes em

grande quantidade na substância branca e, portanto, quando há desorganização do tecido encefálico devido a desmielinização ou a perda axonal, o valor do MTR diminui (ROVARIS et al., 2003). Esta redução do valor do MTR ocorre antes do aparecimento de alterações que possam ser vistas em imagens ponderadas em T2 (SINSON et al., 2001), isto é, pode-se detectar desmielinização ou perda axonal, através da redução do MTR, mesmo quando a SB é aparentemente normal em imagens convencionais de RM. Kimura et al. (1996) e McGowan et al. (1999) demonstraram que a imagem por transferência de magnetização pode ser mais sensível que as imagens ponderadas em T2 na detecção de lesão axonal, confirmada por estudo histológico.

A perda dos axônios e da mielina na substância branca, secundária ao trauma, ocorre tanto pela morte neuronal quanto pela lesão axonal difusa. A LAD é uma das patologias mais comuns associadas ao TCE grave (KIMURA et al., 1996), e também ocorre em um número significativo de pacientes após TCE leve e moderado (GARNETT et al., 2000(b)). As regiões cerebrais que mais são afetadas pela LAD são a substância branca profunda, o corpo caloso e a junção entre as substâncias branca e cinzenta lobares (CECIL et al., 1998a; GARNETT et al., 2000b).

Em seres humanos, a redução do valor do MTR na substância branca já foi demonstrada após o TCE (BAGLEY et al., 2000; SINSON et al., 2001). Inclusive em estudo com pessoas vítimas de TCE leve, a redução do MTR no corpo caloso já foi demonstrada (McGOWAN et al., 2000).

As médias dos valores do MTR, no presente estudo, foram menores em todas as regiões de substância branca avaliadas no grupo de pacientes, inclusive no corpo caloso, quando comparadas às do grupo controle, demonstrando a perda de axônio e de mielina nestas regiões. A maioria destas regiões de SB estudadas nos

pacientes apresentava sinal aparentemente normal nas imagens convencionais. Nestes pacientes estudados, portanto, o MTR foi capaz de demonstrar, de modo indireto, a perda e a destruição microestrutural dos axônios, secundárias ao TCE, na SB aparentemente normal.

Na substância cinzenta, entretanto, não foi observada diferença significativa entre as médias dos grupos de pacientes e de controles. Isto pode ser explicado pela grande diferença de concentração de fibras axonais entre as substâncias branca e cinzenta, sendo muito menor na SC.

7.4. Coeficiente de difusão aparente (ADC).

A integridade do citoesqueleto nas fibras axonais e da bainha de mielina é uma barreira natural à difusão das moléculas de água no sistema nervoso central. Por esta razão, o estudo por RM de imagens ponderadas em difusão apresenta uma configuração anisotrópica, com o sentido da difusão da água livre predominando na direção paralela à dos feixes de fibras axonais (SCHAEFER; GRANT; GONZALES, 2000; BARBORIAK, 2003). Como há maior concentração de axônios na substância branca, é nesta região onde a anisotropia é particularmente mais evidente. Para a avaliação global da difusão, independentemente da direção em que esta ocorre, são utilizadas as imagens isotrópicas. Portanto, a restrição da movimentação das moléculas de água promovida pelas fibras axonais influi nas imagens ponderadas em difusão, tanto anisotrópicas quanto isotrópicas, que podem ser utilizadas para estudar a integridade destas fibras. A difusão isotrópica de água livre pode ser

estimada através dos valores do ADC e, quanto maior a restrição à movimentação da água, menor o seu valor.

A lesão axonal ou a desmielinização das fibras axonais na substância branca cerebral, com quebra da barreira da bainha de mielina e do citoesqueleto axonal, promovem redução desta restrição à movimentação das moléculas de água livre, resultando em aumento dos valores do ADC e redução da anisotropia (ARFANAKIS et al., 2002; TIEVSKY; PTAK; FARKAS, 1999; GOETZ et al., 2004; MASCALCHI et al., 2005).

As médias dos valores do ADC isotrópico calculadas nas regiões de SB, incluindo o corpo caloso, no grupo de pacientes vítimas de TCE avaliados neste estudo foram maiores do que as médias do grupo controle. Este aumento do ADC reflete a redução das fibras axonais mielinizadas na SB, secundária ao TCE.

O aumento do ADC, na fase tardia após o TCE (após 11 meses), já foi demonstrado em regiões da substância branca de dois pacientes estudados por Rugg-Gunn et al. (2001). Estes autores concluíram que o aumento do ADC sugeria uma expansão do espaço extracelular causado pela perda neuronal ou glial, a qual não foi identificada pelas imagens convencionais de RM. Goetz et al. (2004) estudaram pacientes nas fases aguda e subaguda após o trauma e também observaram o aumento significativo do valor do ADC na SB aparentemente normal no grupo de pacientes quando comparado ao grupo controle e que, quanto maior a gravidade do trauma, maior foi o valor do ADC.

Outra forma de avaliar a lesão axonal é através do estudo da anisotropia na SB, que não foi realizado nesta pesquisa. A redução da anisotropia secundária a lesão axonal após o TCE já foi demonstrada por alguns estudos tanto na fase aguda (ARFANAKIS et al., 2002) quanto na fase tardia (RUGG-GUNN et al., 2001).

Não foi observada diferença significativa entre as médias dos valores do ADC medidos na substância cinzenta dos pacientes e dos controles nesta pesquisa. Do mesmo modo que não foi observada diferença nas médias dos valores do MTR na SC, isto pode ter ocorrido também na medida do ADC devido à baixa concentração de fibras axonais nesta região.

7.5. Espectroscopia de prótons e índices metabólicos NAA/Cre e Cho/Cre.

A utilização da espectroscopia de prótons por RM, no auxílio diagnóstico em diversas patologias do SNC, já está estabelecida como exame complementar na avaliação clínica cotidiana, permitindo a avaliação qualitativa e quantitativa das concentrações de alguns metabólitos, que se alteram em determinadas situações patológicas. No encéfalo normal, os principais metabólitos são o N-acetilaspártato (NAA), a creatina (Cre) e a colina (Cho), cuja presença é constante e com uma concentração maior que a dos demais, permitindo que os picos destes metabólitos sejam facilmente identificados e discriminados da linha de base do espectro. A intensidade do sinal absoluta destes metabólitos, adquirida pela seqüência de espectroscopia, pode variar por influência da homogeneidade do campo magnético do aparelho, das características moleculares dos tecidos circunjacentes ao VOI e por características biológicas individuais que compõem as variações da normalidade. Esta variação do sinal absoluto ocorre entre pessoas diferentes que realizaram o exame em um mesmo aparelho e também ocorre numa mesma pessoa em diferentes posições estudadas no cérebro, mesmo que estas regiões tenham as mesmas características biológicas (como, por exemplo, a substância branca ou a

substância cinzenta) e estejam normais. Mas, no encéfalo normal, as relações ou razões entre estes metabólitos apresentam pouca variação interpessoal ou no mesmo indivíduo.

A creatina serve de reserva de fosfatos de alta energia e também como um tampão em depósitos de ATP/ADP (SMITH; CASTILLO; KWOCK, 2003) e, geralmente, a sua concentração permanece constante na maioria dos processos patológicos cerebrais. Por esta razão, ela pode ser utilizada como um valor de referência para nivelar os valores dos demais metabólitos detectados no espectro, com a finalidade de torná-los comparáveis. Para isto, são calculados os índices metabólicos, que, na grande maioria das vezes, utilizam a creatina como denominador. Como exemplo de índices metabólicos, temos o NAA/Cre e a Cho/Cre, que foram utilizados nesta pesquisa.

O NAA é um metabólito produzido exclusivamente em neurônios (CECIL et al., 1998a), sendo sintetizado pela mitocôndria a partir do L-aspartato e da acetil-CoA. É encontrado em grande quantidade no citosol neuronal e sua concentração só é menor que a do glutamato (BROOKS; FRIEDMAN; GASPAROVIC, 2001). O NAA também está presente nos axônios (CECIL et al., 1998a), fazendo parte do processo de síntese da mielina nos cérebros em desenvolvimento e, no adulto, parece que participa em processos de reparação axonal. Desta forma, o NAA é considerado um marcador neuronal e axonal e sua concentração reduz em lesões cerebrais que causam a perda neuronal ou axonal.

A redução transitória e parcialmente reversível do NAA pode ocorrer em alguns estados patológicos e reflete a depressão mitocondrial temporária de sua síntese (BROOKS; FRIEDMAN; GASPAROVIC, 2001). Esta redução transitória do NAA, que reflete uma depressão metabólica reversível, já foi demonstrada, na fase

aguda após o trauma, em modelos experimentais em animais (RANGO et al., 1995; GASPAROVIC et al., 2001).

A redução do NAA, após o TCE, já foi demonstrada na substância branca cerebral (ROSS et al., 1998; FRIEDMAN et al., 1998, 1999; BROOKS et al., 2000; GARNETT et al., 2000a, 2000b; GOVINDARAJU et al., 2004), no corpo caloso (CECIL et al., 1998b; SINSON et al., 2001), na substância cinzenta cerebral (RICCI et al., 1997; ROSS et al., 1998; FRIEDMAN et al., 1999; BROOKS et al., 2000), no tálamo (UZAN et al., 2003), no hipocampo e nos núcleos da base (ARIZA et al., 2004) e esta redução foi observada em estudos realizados tanto nas fases aguda e subaguda (ROSS et al., 1998; CECIL et al., 1998a; GARNETT et al., 2000a) como na fase tardia (CECIL et al., 1998b; FRIEDMAN et al., 1998, 1999; BROOKS et al., 2000; GOVINDARAJU et al., 2004; ARIZA et al., 2004).

Nesta pesquisa, a média dos valores do índice NAA/Cre calculada no corpo caloso dos pacientes foi menor que a do grupo controle, com diferença estatisticamente significativa. Esta redução do índice NAA/Cre demonstra a perda axonal no corpo caloso secundária ao trauma. Como os pacientes foram avaliados numa fase muito tardia após o TCE, pode-se descartar a possibilidade de depressão na síntese do NAA no interior dos neurônios, pois esta ocorre apenas na fase aguda do trauma e é reversível.

Cecil et al. (1998b) observaram a redução dos índices NAA/Cre nos corpos calosos de pacientes, avaliados entre 9 dias e vários anos após o TCE (com média de 1 ano entre o TCE e a espectroscopia), quando comparados aos índices de um grupo controle, e afirmaram que a queda dos níveis deste índice no esplênio do corpo caloso pode ser um marcador de lesão difusa secundária ao trauma.

Ao contrário dos resultados dos trabalhos revisados na literatura, que demonstraram a redução do NAA na substância branca cerebral após o TCE (ROSS et al., 1998; FRIEDMAN et al., 1998, 1999; BROOKS et al., 2000; GARNETT et al., 2000a, 2000b; GOVINDARAJU et al., 2004), não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as médias dos valores dos índices NAA/Cre dos pacientes e dos controles medidos na substância branca dos lobos frontais e parietais no presente estudo. Apesar de não ter diferença estatística, as médias no grupo de pacientes foram todas menores que as dos controles nestas regiões e o número de pacientes avaliados (nove) pode ter sido insuficiente para demonstrar esta diferença nos cálculos estatísticos. Portanto, não se pode afirmar com certeza que o índice NAA/Cre não foi capaz de detectar a lesão axonal na SB cerebral, tendo em vista os resultados obtidos nesta pesquisa, e seria necessária a avaliação de um número maior de pacientes para esclarecer esta dúvida.

A redução do NAA no corpo caloso dos pacientes deve ter sido maior do que nas demais regiões de interesse estudadas e por isto foi possível a demonstração da diferença estatisticamente significativa.

Kampfl et al. (1998) avaliaram com RM pacientes em estado vegetativo persistente após TCE fechado grave e observaram que o corpo caloso foi a área mais comumente acometida nos pacientes com lesão difusa da substância branca. Pode ser que, por esta razão, o corpo caloso apresentou uma diferença significativamente maior nos valores do índice NAA/Cre entre os pacientes e os controles, em comparação com as demais regiões estudadas.

A colina é um constituinte de fosfolípide de membranas celulares e seu aumento reflete o aumento na síntese de membranas celulares ou o aumento do número de células (como, por exemplo, em processos inflamatórios e neoplásicos).

Alguns autores descreveram, em vítimas de TCE, o aumento do índice Cho/Cre na substância branca (RICCI et al., 1997; GARNETT et al., 2000a, 2000b; GOVINDARAJU et al., 2004) e o aumento da concentração de colina na substância cinzenta (FRIEDMAN et al., 1998, 1999) e na substância branca (BROOKS et al., 2000), em comparação a grupos controles. Estes autores sugeriram que este aumento da colina possa estar relacionado a um processo inflamatório ou a alteração do metabolismo de membranas celulares, secundários ao TCE. Nestes estudos que mostraram o aumento da colina, o tempo médio entre o trauma e a realização do exame foi de, no máximo, 6 meses.

Em outros estudos, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as medidas do índice Cho/Cre dos pacientes e dos controles (CHOE et al., 1995; CECIL et al., 1998b). Nestes, as médias do tempo entre o trauma e o exame foram maiores que 6 meses.

Também não foi observada diferença estatisticamente significativa nas médias do índice Cho/Cre entre os pacientes e os controles em nenhuma das regiões avaliadas no presente estudo, sendo que o tempo médio entre o TCE e o exame foi de $3,1 \pm 0,5$ anos. Provavelmente, as causas que levam a um aumento da colina após o TCE estão presentes nos primeiros meses após o trauma e, em fase mais tardia, estas causas regridem. Estas causas devem corresponder realmente ao processo inflamatório e à reabsorção e reparação celular desencadeadas pelo TCE que, nas fases agudas e subagudas, devem ser bastante intensos e que, com o passar dos meses, vão reduzindo até não serem detectáveis ou desaparecerem.

O tamanho da amostra do grupo teste neste estudo foi pequeno (9 pacientes), pois foram utilizados critérios de inclusão e exclusão rigorosos para se obter um grupo homogêneo e para tornar mínima a possibilidade de interferência de outros

fatores, além do TCE, que pudessem interferir na integridade neuronal e axonal.

Apesar do TCE ser uma condição muito prevalente, a grande maioria é classificado como leve. Nesta pesquisa, foram selecionados apenas os pacientes com TCE moderado ou grave que tiveram boa recuperação e, deste modo, o número de pacientes elegíveis para o estudo ficou reduzido. Muitos pacientes com TCE moderado e grave morrem em consequência das complicações do TCE.

Outro fator que contribuiu para o pequeno número da amostra foi a dificuldade de localização dos pacientes, devido ao período de mais de dois anos entre o TCE e o exame, sendo que a grande maioria deles não fazia seguimento clínico no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto e, portanto, não tinham os dados atualizados para contato.

8. Conclusões

O dano neuronal e axonal decorrente do TCE moderado e grave promove alterações morfológicas e microestruturais no cérebro humano que podem ser detectadas através das técnicas quantitativas em RM.

Os índices ventrículo-cerebrais bifrontal e bicaudado demonstraram o aumento ventricular, refletindo a atrofia subcortical por redução de volume da substância branca, secundária à perda axonal e neuronal.

Com a relaxometria T2, foi possível demonstrar o aumento da concentração de água na substância branca cerebral e no corpo caloso, devido à perda axonal e à gliose. A redução do MTR e o aumento do ADC também revelaram a perda de fibras axonais mielinizadas na substância branca, incluindo o corpo caloso. Na substância cinzenta, a relaxometria T2, o MTR e o ADC não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre o grupo de pacientes e o grupo controle.

O menor valor do índice NAA/Cre no corpo caloso do grupo de pacientes demonstra a redução da concentração de NAA nesta região, secundária à perda axonal. Não foi observada diferença estatisticamente significativa nos valores do índice Cho/Cre na substância branca cerebral e no corpo caloso.

Na ausência da confirmação histológica, a correlação entre os resultados obtidos nesta pesquisa e as alterações teciduais microscópicas, secundárias à lesão neuronal e axonal, torna-se apenas uma especulação. Entretanto, tomando como base os achados histológicos de pesquisas relatadas na literatura, realizadas em modelos experimentais com animais, que mostraram a existência da lesão axonal e da perda neuronal após o TCE, os resultados deste estudo permitem afirmar que as técnicas quantitativas em RM realizadas foram capazes de demonstrar, satisfatoriamente, o dano neuronal e axonal em seres humanos, de modo não

invasivo, na substância branca e no corpo caloso, na fase tardia após o TCE moderado e grave.

Referências

ANDERSON, C. V.; BIGLER, E. D. Ventricular dilation, cortical atrophy, and neuropsychological outcome following traumatic brain injury. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci**, Washington, v. 7, n. 1, p. 42-8, 1995.

ARFANAKIS, K.; HAUGHTON, V. M.; CAREW, J. D.; ROGERS, B. P.; DEMPSEY, R. J.; MEYERAND, M. E. Diffusion tensor MR imaging in diffuse axonal injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 23, n. 5, p. 794-802, mai. 2002.

ARIZA, M.; JUNQUE, C.; MATARO, M.; POCA, M. A.; BARGALLO, N.; OLONDO, M.; SAHUQUILLO, J. Neuropsychological correlates of basal ganglia and medial temporal lobe NAA/Cho reductions in traumatic brain injury. **Arch Neurol**, Chicago, v. 61, n. 4, p. 541-4, abr. 2004.

ARMSPACH, J. P.; GOUNOT, D.; RUMBACH, L.; CHAMBRON, J. In vivo determination of multiexponential T2 relaxation in the brain of patients with multiple sclerosis. **Magn Reson Imaging**, New York, v. 9, n. 1, p. 107-13, 1991.

BAGLEY, L. J.; GROSSMAN, R. I.; GALETTA, S. L.; SINSON, G. P.; KOTAPKA, M.; MCGOWAN, J. C. Characterization of white matter lesions in multiple sclerosis and traumatic brain injury as revealed by magnetization transfer contour plots. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 20, n. 6, p. 977-81, jun-jul. 1999.

BAGLEY, L. J.; MCGOWAN, J. C.; GROSSMAN, R. I.; SINSON, G.; KOTAPKA, M.; LEXA, F. J.; BERLIN, J. A.; MCINTOSH, T. K. Magnetization transfer imaging of traumatic brain injury. **J Magn Reson Imaging**, New York, v. 11, n. 1, p. 1-8, jan. 2000.

BARBORIAK, D. P. Imaging of brain tumors with diffusion-weighted and diffusion tensor MR imaging. **Magn Reson Imaging Clin N Am**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 379-401, ago. 2003.

BARNES, D.; MCDONALD, W. I.; LANDON, D.N.; JOHNSON, G. The characterization of experimental gliosis by quantitative nuclear magnetic resonance imaging. **Brain**, Oxford, v. 111, n. 1, p. 83-94, fev. 1988.

BERNASCONI, A.; BERNASCONI, N.; CARAMANOS, Z.; REUTENS, D. C.; ANDERMANN, F.; DUBEAU, F.; TAMPIERI, D.; PIKE, B. G.; ARNOLD, D. L. T2 relaxometry can lateralize mesial temporal lobe epilepsy in patients with normal MRI. **Neuroimage**, Orlando, v. 12, n. 6, p. 739-46, dez. 2000.

BERRY, I.; BARKER, G. J.; BARKHOF, F.; CAMPI, A.; DOUSSET, V.; FRANCONI, J. M.; GASS, A.; SCHREIBER, W.; MILLER, D. H.; TOFTS, P. S. A multicenter measurement of magnetization transfer ratio in normal white matter. **J Magn Reson Imaging**, New York, v. 9, n. 3, p. 441-6, mar. 1999.

BIGLER, E. D.; KURTH, S. M.; BLATTER, D.; ABILDSKOV, T. J. Degenerative changes in traumatic brain injury: post-injury magnetic resonance identified ventricular expansion compared to pre-injury levels. **Brain Res Bull**, New York, v. 28, n. 4, p. 651-3, abr. 1992.

BIGLER, E. D.; JOHNSON, S. C.; BLATTER, D. D. Head trauma and intellectual status: relation to quantitative magnetic resonance imaging findings. **Appl Neuropsychol**, Mahwah, v. 6, n. 4, p. 217-25, 1999.

BIGLER, E. D. Quantitative magnetic resonance imaging in traumatic brain injury. **J Head Trauma Rehabil**, Gaithersburg, v. 16, n. 2, p. 117-34, abr. 2001.

BLATTER, D. D.; BIGLER, E. D.; GALE, S.D.; JOHNSON, S. C.; ANDERSON C. V.; BURNETT, B. M.; RYSER, D.; MACNAMARA, S. E.; BAILEY, B. J. MR-based brain and cerebrospinal fluid measurement after traumatic brain injury: correlation with neuropsychological outcome. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 18, n. 1, p. 1-10, jan. 1997.

BOUILLERET, V.; NEHLIG, A.; MARESCAUX, C.; NAMER, I. J. Magnetic resonance imaging follow-up of progressive hippocampal changes in a mouse model of mesial temporal lobe epilepsy. **Epilepsia**, Malden, v. 41, n. 6, p. 642-50, jun. 2000.

BRAMLETT, H. M.; DIETRICH, W. D.; GREEN, E. J.; BUSTO, R. Chronic histopathological consequences of fluid-percussion brain injury in rats: effects of post-traumatic hypothermia. **Acta Neuropathol**, Berlin, v. 93, n. 2, p. 190-9, fev. 1997.

BRAMLETT, H. M.; DIETRICH, W. D. Quantitative structural changes in white and gray matter 1 year following traumatic brain injury in rats. **Acta Neuropathol**, Berlin, v. 103, n. 6, p. 607-14, jun. 2002.

BROOKS, W. M.; STIDLEY, C. A.; PETROPOULOS, H.; JUNG, R. E.; WEERS, D. C.; FRIEDMAN, S. D.; BARLOW, M. A.; SIBBITT, W. L. JR.; YEO, R. A. Metabolic and cognitive response to human traumatic brain injury: a quantitative proton magnetic resonance study. **J Neurotrauma**, New York, v. 17, n. 8, p. 629-40, ago. 2000.

BROOKS, W. M.; FRIEDMAN, S. D.; GASPAROVIC, C. Magnetic resonance spectroscopy in traumatic brain injury. **J Head Trauma Rehabil**, Gaithersburg, v. 16, n. 2, p. 149-64, abr. 2001.

CECIL, K. M.; LENKINSKI, R. E.; MEANEY, D. F.; MCINTOSH, T.K.; SMITH, D.H. High-field proton magnetic resonance spectroscopy of a swine model for axonal injury. **J Neurochem**, Oxford, v. 70, n. 5, p. 2038-44, mai. 1998(a).

CECIL, K. M.; HILLS, E. C.; SANDEL, M. E.; SMITH, D. H.; MCINTOSH, T. K.; MANNON, L. J.; SINSON, G. P.; BAGLEY, L. J.; GROSSMAN, R.I.; LENKINSKI, R. E. Proton magnetic resonance spectroscopy for detection of axonal injury in the splenium of the corpus callosum of brain-injured patients. **J Neurosurg**, Charlottesville, v. 88, n. 5, p. 795-801, mai. 1998(b).

CHOE, B. Y.; SUH, T. S.; CHOI, K. H.; SHINN, K. S.; PARK, C. K.; KANG, J. K. Neuronal dysfunction in patients with closed head injury evaluated by in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy. **Invest Radiol**, Hagerstown, v. 30, n. 8, p. 502-6, ago. 1995.

COLICOS, M. A.; DASH, P. K. Apoptotic morphology of dentate gyrus granule cells following experimental cortical impact injury in rats: possible role in spatial memory deficits. **Brain Res**, Amsterdam, v. 739, n. 1-2, p. 120-31, nov. 1996.

CONTI, A. C.; RAGHUPATHI, R.; TROJANOWSKI, J. Q.; MCINTOSH, T. K. Experimental brain injury induces regionally distinct apoptosis during the acute and delayed post-traumatic period. **J Neurosci**, Washington, v. 18, n. 15, p. 5663-72, ago. 1998.

DOUSSET, V.; GROSSMAN, R. I.; RAMER, K. N.; SCHNALL, M. D.; YOUNG, L. H.; GONZALEZ-SCARANO, F.; LAVI, E.; COHEN, J. A. Experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis: lesion characterization with magnetization transfer imaging. **Radiology**, Easton, v. 182, n. 2, p. 483-91, fev. 1992.

FLEMINGER, S.; OLIVER, D. L.; LOVESTONE, S.; RABE-HESKETH, S.; GIORA, A. Head injury as a risk factor for Alzheimer's disease: the evidence 10 years on; a partial replication. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 74, n. 7, p. 857-62, jul. 2003.

FORSEN, S.; HOFFMAN, R. Study of moderately rapid chemical exchange reactions by means of nuclear magnetic double resonance. **J Chem Phys**, New York, v. 39, p. 2892-901, 1963.

FRIEDMAN, S. D.; BROOKS, W. M.; JUNG, R. E.; HART, B. L.; YEO, R. A. Proton MR spectroscopic findings correspond to neuropsychological function in traumatic brain injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 19, n. 10, p. 1879-85, nov-dez. 1998.

FRIEDMAN, S. D.; BROOKS, W. M.; JUNG, R. E.; CHIULLI, S. J.; SLOAN, J. H.; MONTOYA, B. T.; HART, B. L.; YEO, R. A. Quantitative proton MRS predicts outcome after traumatic brain injury. **Neurology**, Hagerstown, v. 52, n. 7, p. 1384-91, abr. 22 1999.

GARNETT, M. R.; BLAMIRE, A. M.; RAJAGOPALAN, B.; STYLES, P.; CADOUX-HUDSON, T. A. Evidence for cellular damage in normal-appearing white matter correlates with injury severity in patients following traumatic brain injury: A magnetic resonance spectroscopy study. **Brain**, Oxford, v. 123, n. 7, p. 1403-9, jul. 2000(a).

GARNETT, M. R.; BLAMIRE, A. M.; CORKILL, R. G.; CADOUX-HUDSON, T. A.; RAJAGOPALAN, B.; STYLES, P. Early proton magnetic resonance spectroscopy in normal-appearing brain correlates with outcome in patients following traumatic brain injury. **Brain**, Oxford, v. 123, n. 10, p. 2046-54, out. 2000(b).

GASPAROVIC, C.; ARFAI, N.; SMID, N.; FEENEY, D. M. Decrease and recovery of N-acetylaspartate/creatine in rat brain remote from focal injury. **J Neurotrauma**, New York, v. 18, n. 3, p. 241-6, mar. 2001.

GEORGIADES, C. S.; ITOH, R.; GOLAY, X.; VAN ZIJL, P.C.; MELHEM, E. R. MR imaging of the human brain at 1.5 T: regional variations in transverse relaxation rates in the cerebral cortex. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 22, n. 9, p. 1732-7, out. 2001.

GOETZ, P.; BLAMIRE, A.; RAJAGOPALAN, B.; CADOUX-HUDSON, T.; YOUNG, D.; STYLES, P. Increase in apparent diffusion coefficient in normal appearing white matter following human traumatic brain injury correlates with injury severity. **J Neurotrauma**, New York, v. 21, n. 6, p. 645-54, jun. 2004.

GOVINDARAJU, V.; GAUGER, G. E.; MANLEY, G. T.; EBEL, A.; MEEKER, M.; MAUDSLEY, A. A. Volumetric proton spectroscopic imaging of mild traumatic brain injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 25, n. 5, p. 730-7, mai. 2004.

GRAHAM, D. I.; GENTLEMAN, S. M.; LYNCH, A.; ROBERTS, G. W. Distribution of beta-amyloid protein in the brain following severe head injury. **Neuropathol Appl Neurobiol**, Oxford, v. 21, n. 1, p. 27-34, fev. 1995.

HENKELMAN, R. M.; STANISZ, G. J.; GRAHAM, S. J. Magnetization transfer in MRI: a review. **NMR Biomed**, London, v. 14, n. 2, p. 57-64, abr. 2001.

HOFMAN, P. A.; KEMERINK, G. J.; JOLLES, J.; WILMINK, J. T. Quantitative analysis of magnetization transfer images of the brain: effect of closed head injury, age and sex on white matter. **Magn Reson Med**, New York, v. 42, n. 4, p. 803-6, out. 1999.

HOFMAN, P. A.; STAPERT, S. Z.; VAN KROONENBURGH, M. J.; JOLLES, J.; DE KRUIJK, J.; WILMINK, J. T. MR imaging, single-photon emission CT, and neurocognitive performance after mild traumatic brain injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 22, n. 3, p. 441-9, mar. 2001.

HUISMAN, T. A.; SORENSEN, A. G.; HERGAN, K.; GONZALEZ, R. G.; SCHAEFER, P. W. Diffusion-weighted imaging for the evaluation of diffuse axonal injury in closed head injury. **J Comput Assist Tomogr**, Hagerstown, v. 27, n. 1, p. 5-11, jan-fev. 2003.

HUISMAN, T. A.; SCHWAMM, L. H.; SCHAEFER, P. W.; KOROSHETZ, W. J.; SHETTY-ALVA, N.; OZSUNAR, Y.; WU, O.; SORENSEN, A. G. Diffusion tensor imaging as potential biomarker of white matter injury in diffuse axonal injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 25, n. 3, p. 370-6, mar. 2004.

KAMPFL A, FRANZ G, AICHNER F, PFAUSLER B, HARING HP, FELBER S, LUZ G, SCHOCKE M, SCHMUTZHARD E. The persistent vegetative state after closed head injury: clinical and magnetic resonance imaging findings in 42 patients. **J Neurosurg**, Charlottesville, v. 88, n. 5, p. 809-16, mai. 1998.

KIMURA, H.; MEANEY, D. F.; MCGOWAN, J. C.; GROSSMAN, R. I.; LENKINSKI, R. E.; ROSS, D. T.; MCINTOSH, T. K.; GENNARELLI, T. A.; SMITH, D. H. Magnetization transfer imaging of diffuse axonal injury following experimental brain injury in the pig: characterization by magnetization transfer ratio with histopathologic correlation. **J Comput Assist Tomogr**, Hagerstown, v. 20, n. 4, p. 540-6, jul-ago. 1996.

KUMAR, R.; GUPTA, R. K.; RAO, S. B.; CHAWLA, S.; HUSAIN, M.; RATHORE, R. K. Magnetization transfer and T2 quantitation in normal appearing cortical gray matter and white matter adjacent to focal abnormality in patients with traumatic brain injury. **Magn Reson Imaging**, New York, v. 21, n. 8, p. 893-9, out. 2003(a).

KUMAR, R.; GUPTA, R. K.; HUSAIN, M.; VATSAL, D. K.; CHAWLA, S.; RATHORE, R. K.; PRADHAN, S. Magnetization transfer MR imaging in patients with posttraumatic epilepsy. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 24, n. 2, p. 218-24, fev. 2003(b).

LARSSON, H. B.; FREDERIKSEN, J.; PETERSEN, J.; NORDENBO, A.; ZEEBERG, I.; HENRIKSEN, O.; OLESEN, J. Assessment of demyelination, edema, and gliosis by in vivo determination of T1 and T2 in the brain of patients with acute attack of multiple sclerosis. **Magn Reson Med**, New York, v. 11, n. 3, p. 337-48, set. 1989.

LIU, A. Y.; MALDJIAN, J. A.; BAGLEY, L. J.; SINSON, G. P.; GROSSMAN, R. I. Traumatic brain injury: diffusion-weighted MR imaging findings. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 20, n. 9, p. 1636-41, out. 1999.

MASCALCHI, M.; FILIPPI, M.; FLORIS, R.; FONDA, C.; GASPAROTTI, R.; VILLARI, N. Diffusion-weighted MR of the brain: methodology and clinical application. **Radiol Med**, Torino, v. 109, n. 3, p. 155-197, mar. 2005.

MAYEUX, R.; OTTMAN, R.; TANG, M. X.; NOBOA-BAUZA, L.; MARDER, K.; GURLAND, B.; STERN, Y. Genetic susceptibility and head injury as risk factors for Alzheimer's disease among community-dwelling elderly persons and their first-degree relatives. **Ann Neurol**, New York, v. 33, n. 5, p. 494-501, mai. 1993.

MCGOWAN, J. C.; MCCORMACK, T. M.; GROSSMAN, R. I.; MENDONCA, R.; CHEN, X. H.; BERLIN, J. A.; MEANEY, D. F.; XU, B. N.; CECIL, K. M.; MCINTOSH, T. K.; SMITH, D. H. Diffuse axonal pathology detected with magnetization transfer imaging following brain injury in the pig. **Magn Reson Med**, New York, v. 41, n. 4, p. 727-33, abr. 1999.

MCGOWAN, J. C.; YANG, J. H.; PLOTKIN, R. C.; GROSSMAN, R. I.; UMILE, E. M.; CECIL, K. M.; BAGLEY, L. J. Magnetization transfer imaging in the detection of injury associated with mild head trauma. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 21, n. 5, p. 875-80, mai. 2000.

MORTIMER, J. A.; VAN DUIJN, C. M.; CHANDRA, V.; FRATIGLIONI, L.; GRAVES, A. B.; HEYMAN, A.; JORM, A. F.; KOKMEN, E.; KONDO, K.; ROCCA, W. A. ET AL. Head trauma as a risk factor for Alzheimer's disease: a collaborative re-analysis of case-control studies. EURODEM Risk Factors Research Group. **Int J Epidemiol**, London, v. 20, n. 2, p. 28-35, 1991.

NATHOO, N.; NAROTAM, P. K.; AGRAWAL, D. K.; CONNOLLY, C. A.; VAN DELLEN, J. R.; BARNETT, G. H.; CHETTY, R. Influence of apoptosis on neurological outcome following traumatic cerebral contusion. **J Neurosurg**, Charlottesville, v. 101, n. 2, p. 233-40, ago. 2004.

PAPANIKOLAOU, N.; PAPADAKI, E.; KARAMPEKIOS, S.; SPILIOTI, M.; MARIS, T.; PRASSOPOULOS, P.; GOURTSOYIANNIS, N. T2 relaxation time analysis in patients with multiple sclerosis: correlation with magnetization transfer ratio. **Eur Radiol**, Berlin, v. 14, n. 1, p. 115-22, jan. 2004.

RANGO, M.; SPAGNOLI, D.; TOMEI, G.; BAMONTI, F.; SCARLATO, G.; ZETTA, L. Central nervous system trans-synaptic effects of acute axonal injury: a ¹H magnetic resonance spectroscopy study. **Magn Reson Med**, New York, v. 33, n. 5, p. 595-600, mai. 1995.

REIDER-GROSWASSER, I.; COHEN, M.; COSTEFF, H.; GROSWASSER, Z. Late CT findings in brain trauma: relationship to cognitive and behavioral sequelae and to vocational outcome. **AJR Am J Roentgenol**, Leesburg, v. 160, n. 1, p. 147-52, jan. 1993.

RICCI, R.; BARBARELLA, G.; MUSI, P.; BOLDRINI, P.; TREVISAN, C.; BASAGLIA, N. Localised proton MR spectroscopy of brain metabolism changes in vegetative patients. **Neuroradiology**, New York, v. 39, n. 5, p. 313-9, mai. 1997.

RINK, A.; FUNG, K. M.; TROJANOWSKI, J. Q.; LEE, V. M.; NEUGEBAUER, E.; MCINTOSH, T. K. Evidence of apoptotic cell death after experimental traumatic brain injury in the rat. **Am J Pathol**, Bethesda, v. 147, n. 6, p. 1575-83, dez. 1995.

ROBERTS, G. W.; GENTLEMAN, S. M.; LYNCH, A.; GRAHAM, D. I. Beta A4 amyloid protein deposition in brain after head trauma. **Lancet**, London, v. 338, n. 8780, p. 1422-3, dez. 1991.

ROBERTS, G. W.; GENTLEMAN, S. M.; LYNCH, A.; MURRAY, L.; LANDON, M.; GRAHAM, D. I. Beta amyloid protein deposition in the brain after severe head injury: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 57, n. 4, p. 419-25, abr. 1994.

ROSS, B. D.; ERNST, T.; KREIS, R.; HASELER, L. J.; BAYER, S.; DANIELSEN, E.; BLUML, S.; SHONK, T.; MANDIGO, J. C.; CATON, W.; CLARK, C.; JENSEN, S. W.; LEHMAN, N. L.; ARCINUE, E.; PUDENZ, R.; SHELDEN, C. H. 1H MRS in acute traumatic brain injury. **J Magn Reson Imaging**, New York, v. 8, n. 4, p. 829-40, jul-ago. 1998.

ROVARIS, M.; IANNUCCI, G.; CERCIGNANI, M.; SORMANI, M. P.; DE STEFANO, N.; GEREVINI, S.; COMI, G.; FILIPPI, M. Age-related changes in conventional, magnetization transfer, and diffusion-tensor MR imaging findings: study with whole-brain tissue histogram analysis. **Radiology**, Easton, v. 227, n. 3, p. 731-8, jun. 2003.

RUGG-GUNN, F. J.; SYMMS, M. R.; BARKER, G. J.; GREENWOOD, R.; DUNCAN, J. S. Diffusion imaging shows abnormalities after blunt head trauma when conventional magnetic resonance imaging is normal. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 70, n. 4, p. 530-3, abr. 2001.

SCHAEFER, P. W.; GRANT, P. E.; GONZALEZ, R. G. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. **Radiology**, Easton, v. 217, n. 2, p. 331-45, nov. 2000.

SCHAEFER, P. W.; HUISMAN, T. A.; SORENSEN, A. G.; GONZALEZ, R. G.; SCHWAMM, L. H. Diffusion-weighted MR imaging in closed head injury: high correlation with initial glasgow coma scale score and score on modified Rankin scale at discharge. **Radiology**, Easton, v. 233, n. 1, p. 58-66, out. 2004.

SCHOFIELD, P. W.; TANG, M.; MARDER, K.; BELL, K.; DOONEIEF, G.; CHUN, M.; SANO, M.; STERN, Y.; MAYEUX, R. Alzheimer's disease after remote head injury: an incidence study. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 62, n. 2, p. 119-24, fev. 1997.

SHANMUGANATHAN, K.; GULLAPALLI, R. P.; MIRVIS, S. E.; ROYS, S.; MURTHY, P. Whole-brain apparent diffusion coefficient in traumatic brain injury: correlation with Glasgow Coma Scale score. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 25, n. 4, p. 539-44, abr. 2004.

SHIOZAKI, T.; AKAI, H.; TANEDA, M.; HAYAKATA, T.; AOKI, M.; ODA, J.; TANAKA, H.; HIRAIDE, A.; SHIMAZU, T.; SUGIMOTO, H. Delayed hemispheric neuronal loss in severely head-injured patients. **J Neurotrauma**, New York, v. 18, n. 7, p. 665-74, jul. 2001.

SINSON, G.; BAGLEY, L. J.; CECIL, K. M.; TORCHIA, M.; MCGOWAN, J. C.; LENKINSKI, R. E.; MCINTOSH, T. K.; GROSSMAN, R. I. Magnetization transfer imaging and proton MR spectroscopy in the evaluation of axonal injury: correlation with clinical outcome after traumatic brain injury. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 22, n. 1, p. 143-51, jan. 2001.

SMITH, D. H.; CHEN, X. H.; PIERCE, J. E.; WOLF, J. A.; TROJANOWSKI, J. Q.; GRAHAM, D. I.; MCINTOSH, T. K. Progressive atrophy and neuron death for one year following brain trauma in the rat. **J Neurotrauma**, New York, v. 14, n. 10, p. 715-27, out. 1997.

SMITH, J. K.; CASTILLO, M.; KWOCK, L. MR spectroscopy of brain tumors. **Magn Reson Imaging Clin N Am**, Philadelphia, v. 11, n. 3, p. 415-29, ago. 2003.

TIEVSKY, A. L.; PTAK, T.; FARKAS, J. Investigation of apparent diffusion coefficient and diffusion tensor anisotropy in acute and chronic multiple sclerosis lesions. **AJNR Am J Neuroradiol**, Oak Brook, v. 20, n. 8, p. 1491-9, set. 1999.

UZAN, M.; ALBAYRAM, S.; DASHTI, S. G.; AYDIN, S.; HANCI, M.; KUDAY, C. Thalamic proton magnetic resonance spectroscopy in vegetative state induced by traumatic brain injury. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 74, n. 1, p. 33-8, jan. 2003.

VAN DONGEN, K. J.; BRAAKMAN, R. Late computed tomography in survivors of severe head injury. **Neurosurgery**, Hagerstown, v. 7, n. 1, p. 14-22, jul. 1980.

VORISEK, I.; HAJEK, M.; TINTERA, J.; NICOLAY, K.; SYKOVA, E. Water ADC, extracellular space volume, and tortuosity in the rat cortex after traumatic injury. **Magn Reson Med**, New York, v. 48, n. 6, p. 994-1003, dez. 2002.

WILSON, J. T.; WIEDMANN, K. D.; HADLEY, D. M.; CONDON, B.; TEASDALE, G.; BROOKS, D. N. Early and late magnetic resonance imaging and neuropsychological outcome after head injury. **J Neurol Neurosurg Psychiatry**, London, v. 51, n. 3, p. 391-6, mar. 1988.

WOLFF, S. D.; BALABAN, R. S. Magnetization transfer contrast (MTC) and tissue water proton relaxation in vivo. **Magn Reson Med**, New York, v. 10, n. 1, p. 135-44, abr. 1989.

Glossário

Glossário de Ressonância Magnética.

- **Ângulo de nutação** – inclinação da magnetização a partir da direção longitudinal no final de um pulso de radiofrequência.
- **CHESS (“chemical shift selective saturation”)** – técnica utilizada para a saturação do sinal da água em espectroscopia.
- **Multi-voxel** – técnica de espectroscopia por ressonância magnética onde vários volumes de interesse são adquiridos simultaneamente.
- **Pixel** – unidade bidimensional de representação espacial do sinal adquirido.
- **PRESS (“point resolved surface-coil spectroscopy”)** – para localização espacial de um volume de interesse em espectroscopia. É realizado um pulso de 90° seguido de mais dois pulsos de 180°.
- **Single-voxel** – técnica de espectroscopia por ressonância magnética onde apenas um volume de interesse é adquirido por vez.
- **STEAM (“stimulated echo acquisition mode”)** – para localização espacial de um volume de interesse em espectroscopia. É realizado um pulso de 90° seguido de mais dois pulsos de 90°.
- **Voxel** – unidade tridimensional de representação espacial do sinal adquirido.
- **Tempo de eco (TE)** – tempo entre o pulso de excitação de uma sequência e o eco resultante.
- **Tempo de relaxação longitudinal (T1)** – constante de tempo específica de cada tecido, que descreve o retorno da magnetização longitudinal em 63% do seu valor final.
- **Tempo de relaxação transversal (T2)** - constante de tempo específica de cada tecido, que descreve o decaimento da magnetização transversal. Após o tempo T2, a magnetização transversal perde 63% do seu valor original.
- **Tempo de repetição (TR)** – tempo entre dois pulsos excitatórios.

Anexos

Anexo A**Esclarecimentos ao Sujeito de Pesquisa**

Você está participando como voluntário em um estudo experimental que tem por objetivo avaliar as alterações que ocorrem no cérebro em dois ou mais anos após um acidente com traumatismo grave da cabeça seguido de coma.

Para esta avaliação será realizado um exame de Ressonância Magnética hoje e outro após um ano, para serem comparados.

A Ressonância Magnética é um exame que já é utilizado a anos na prática médica para o diagnóstico de doenças e é realizado com o paciente deitado dentro de um recipiente semi-fechado, que fica dentro de uma sala com ar condicionado, e que emite apenas alguns sons, sendo normalmente tolerado pela grande maioria das pessoas. Não causa nenhum tipo de dor, não emite radiação e nem é prejudicial à saúde. Não será injetada nenhuma medicação. Este exame deve ser evitado apenas em mulheres grávidas, nos primeiros três meses da gestação, e não pode ser realizado em pessoas que possuam marca-passo cardíaco ou que tem alguns tipos de material metálico no corpo (como, por exemplo, próteses, pinos, parafusos, cirurgia para aneurisma cerebral, projétil (“bala”) de arma de fogo, etc). Portanto, antes de iniciar o exame, será realizado um questionário para verificar se não há nenhuma destas contra-indicações.

O exame dura, em média, cerca de 50 minutos e pode ser interrompido a qualquer momento caso você não se sinta bem. Logo após o término do exame, você já será dispensado, podendo regressar para a sua casa.

Não haverá nenhum custo para quem for submetido a este exame. Os gastos com transporte serão ressarcidos, assim como os eventuais gastos com estadia, quando necessária, mediante a apresentação de nota fiscal ou comprovante de pagamento.

O resultado deste exame será comunicado apenas a você, de maneira sigilosa, caso você queira. Em nenhum momento será mostrado o seu nome em publicações ou em apresentações públicas.

É importante entender que este exame não faz parte de seu seguimento médico e que pode não trazer nenhum benefício além de informar as alterações que eventualmente possam ter ocorrido no seu cérebro após o acidente.

Anexo B**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu, _____, abaixo assinado, tendo sido devidamente esclarecido sobre todas as condições que constam do documento **“Esclarecimentos ao Sujeito de Pesquisa”** de que trata o projeto de pesquisa intitulado **“Avaliação do dano axonal tardio por traumatismo craneencefálico grave através de técnicas quantitativas em Ressonância Magnética”** que tem como pesquisador responsável o Sr. Augusto Elias Mamere, especialmente no que diz respeito ao objetivo da pesquisa, aos procedimentos que serei submetido, aos riscos e aos benefícios, declaro que tenho pleno conhecimento dos direitos e das condições que me foram assegurados, a seguir relacionados:

1. a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida a respeito dos procedimentos, riscos, benefícios e de outras situações relacionadas com a pesquisa;
2. a liberdade de retirar o meu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento;
3. a segurança de que não serei identificado e que será mantido o caráter confidencial da informação relacionada à minha privacidade;
4. o compromisso de que me será prestada informação atualizada durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade de continuar dele participando;
5. o compromisso de que serei devidamente acompanhado e assistido durante o período do exame de Ressonância Magnética e
6. o ressarcimento das despesas com transporte para a realização do exame de Ressonância Magnética, assim como de eventuais despesas com estadia, quando necessária, mediante a apresentação de nota fiscal ou comprovante de pagamento.

Declaro, ainda, que concordo inteiramente com as condições que me foram apresentadas e que, livremente, manifesto a minha vontade em participar voluntariamente do referido projeto.

Ribeirão Preto, ____ de _____ de ____.

Assinatura do participante

Anexo C**Carta de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa.**

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CAMPUS UNIVERSITÁRIO - MONTE ALEGRE
FONE: 602-1000 - FAX (016) 633-1144

Ribeirão Preto, 25 de novembro de 2002

Ofício nº 3364/2002
CEP/SPC

Prezado Doutor:

O trabalho intitulado **"AVALIAÇÃO DO DANO AXIAL TARDIO POR TRAUMATISMO CRANIOENCEFÁLICO GRAVE ATRAVÉS DE TÉCNICAS QUANTITATIVAS EM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA"**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 144ª Reunião Ordinária realizada em 18/11/2002, e enquadrado na categoria: **APROVADO**, de acordo com o Processo HCRP nº 7609/2002.

Aproveito a oportunidade para apresentar a Vossa Senhoria protestos de estima e consideração.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa do HCFMRP-USP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
DR. AUGUSTO ELIAS MAMERE
Depto. de Clínica Médica
Em mãos

Anexo D**Descrição detalhada da amostra de pacientes.**

Paciente	Sexo	Idade no TCE (anos)	Idade no exame RM (anos)	Tempo entre TCE e RM	Tipo de acidente	E. C. G. na admissão	Tempo de internação (dias)	Exame de TC da admissão	Observações
1	Fem.	23	25	2 anos e 8 meses	Acidente automobilístico.	7	5	Fraturas na face e LAD.	-----
2	Fem.	21	24	3 anos	Atropelamento por automóvel.	10	14	Contusão temporal e hematoma subdural E.	Hematoma drenado cirurgicamente.
3	Masc.	19	22	3 anos e 3 meses	Acidente automobilístico com capotamento.	9	15	Edema cerebral discreto.	Seguimento clínico sugeriu LAD.
4	Masc.	19	22	3 anos e 3 meses	Acidente automobilístico..	7	53	Pequenas áreas de sangramento no corpo caloso e SB compatível com LAD.	-----
5	Fem.	18	21	2 anos e 6 meses	Queda de bicicleta	10	5	Contusão temporal E (contragolpe) e LAD.	-----
6	Fem.	9	11	2 anos e 9 meses	Atropelamento por automóvel.	4	19	Contusão temporal D e edema cerebral.	Seguimento clínico sugeriu LAD.
7	Masc.	23	27	3 anos e 5 meses	Espancamento.	11	10	Hemorragia intraventricular e hidrocefalia global.	Derivação ventricular externa.
8	Masc.	15	19	4 anos e 5 meses	Queda da carroceria de caminhão.	10	12	LAD	Crise convulsiva após o TCE.
9	Masc.	25	28	3 anos	Espancamento.	9	22	LAD	-----

Anexo E**Descrição das pessoas do grupo controle normal.**

Controle	Sexo	Idade (anos)
1	Fem.	13
2	Masc.	18
3	Fem.	19
4	Masc.	22
5	Masc.	22
6	Fem.	22
7	Fem.	26
8	Masc.	27
9	Masc.	28

Anexo F

Tabela das médias dos valores adquiridos dos índices ventrículo-cerebrais para cada paciente e para cada controle.

	IVC bifrontal	IVC bicaudado
Pacientes		
1	0,309	0,207
2	0,305	0,193
3	0,256	0,168
4	0,315	0,229
5	0,274	0,164
6	0,233	0,148
7	0,307	0,192
8	0,256	0,152
9	0,355	0,332
Controles		
1	0,201	0,128
2	0,239	0,108
3	0,236	0,104
4	0,236	0,128
5	0,190	0,097
6	0,173	0,098
7	0,234	0,123
8	0,233	0,106
9	0,223	0,107

Anexo G

Tabela das médias dos valores adquiridos dos tempos de relaxação T2 para cada paciente e para cada controle.

	SB Frontal D	SB Frontal E	SB Parietal D	SB Parietal E	Joelho CC	Esplênio CC	SC direita	SC esquerda
Pacientes								
1	105,60	102,42	116,13	111,45	93,69	106,18	126,69	121,31
2	100,15	97,75	107,45	110,21	90,60	109,78	126,78	117,23
3	102,02	99,63	113,88	113,89	86,98	102,26	130,66	122,97
4	105,15	106,83	102,77	105,33	93,93	100,69	111,85	109,17
5	95,14	96,30	112,59	109,63	87,46	103,33	123,01	122,12
6	103,50	103,36	118,44	113,34	87,58	100,61	132,84	133,07
7	101,56	98,86	114,59	113,98	94,56	106,56	126,60	124,53
8	96,76	99,21	113,08	112,99	91,48	100,52	126,03	124,97
9	107,91	106,04	105,35	104,68	94,64	96,67	129,12	121,29
Controles								
1	96,93	92,64	108,05	101,46	91,56	85,41	126,40	119,84
2	94,82	93,09	102,67	101,68	91,00	81,37	127,39	122,23
3	95,83	93,89	100,84	101,12	85,44	94,16	125,39	121,76
4	93,53	93,55	102,92	99,47	84,30	95,89	119,48	114,43
5	96,17	96,26	102,31	98,23	87,65	96,59	119,20	124,43
6	90,47	89,93	101,29	101,20	87,26	99,64	117,43	119,40
7	91,98	92,11	99,84	98,62	85,86	92,23	125,82	121,64
8	98,60	96,78	108,22	105,47	91,43	98,89	130,91	133,14
9	94,30	94,81	101,53	101,76	86,65	92,43	121,60	127,77

Anexo H**Tabela das médias dos valores adquiridos do ADC para cada paciente e para cada controle.**

	SB Frontal D	SB Frontal E	SB Parietal D	SB Parietal E	Joelho CC	Esplênio CC	SC direita	SC esquerda
Pacientes								
1	105,68	107,33	103,68	94,55	96,40	105,40	81,83	88,30
2	75,13	86,83	117,55	112,20	93,85	113,50	83,20	76,03
3	90,60	77,95	97,80	102,53	91,50	105,10	81,97	88,37
4	97,35	101,20	111,83	95,25	95,30	132,10	80,10	83,37
5	86,13	94,35	90,95	88,88	90,85	98,00	80,47	85,80
6	111,85	104,38	115,20	114,80	92,70	97,50	95,20	92,60
7	104,30	110,33	109,68	93,68	92,40	106,40	87,50	88,97
8	92,35	106,43	97,68	94,85	92,10	92,30	89,33	94,93
9	107,03	117,20	94,33	85,90	146,10	87,90	97,83	102,23
Controles								
1	81,95	94,15	85,88	74,68	81,25	75,80	80,93	81,20
1	87,13	95,33	93,40	84,80	81,20	71,20	85,17	82,73
2	73,30	84,85	82,98	76,03	80,25	81,60	79,80	84,03
3	76,80	83,30	82,90	73,63	78,80	79,80	79,20	86,20
4	80,38	87,15	84,13	75,88	79,00	81,20	76,90	77,77
5	78,15	87,15	84,98	79,98	84,90	82,30	81,77	75,50
6	98,38	101,78	98,73	92,25	84,95	82,90	89,27	86,70
7	96,03	90,85	90,43	90,48	81,90	78,40	87,63	87,87
8	77,03	88,43	85,28	78,23	84,95	77,40	79,97	91,33
9	81,95	94,15	85,88	74,68	81,25	75,80	80,93	81,20

Anexo I

Tabela das médias dos valores adquiridos do MTR para cada paciente e para cada controle.

	SB Frontal D	SB Frontal E	SB Parietal D	SB Parietal E	Joelho CC	Esplênio CC	SC direita	SC esquerda
Pacientes								
1	27,37	25,90	26,97	24,71	29,17	27,43	19,30	16,17
2	28,36	28,49	28,94	28,00	29,70	28,90	23,57	19,67
3	27,17	27,17	26,73	26,11	29,40	26,77	21,00	19,73
4	26,83	26,91	24,86	25,91	27,30	26,67	22,33	21,37
5	29,47	29,59	28,16	27,20	29,63	27,83	22,03	21,20
6	26,60	25,79	25,36	25,31	28,00	24,53	20,10	20,10
7	25,93	26,11	25,49	25,30	28,13	26,77	20,10	19,20
8	29,61	29,47	27,69	28,74	30,53	30,20	20,73	20,13
9	26,60	25,70	26,26	26,33	27,87	27,23	22,60	22,47
Controles								
1	28,90	29,36	28,70	28,79	31,27	30,20	18,20	18,17
2	28,54	28,26	27,71	26,37	30,07	27,37	20,37	20,03
3	28,36	29,40	28,51	28,70	28,87	28,77	20,90	20,80
4	28,83	28,70	28,83	28,06	31,17	29,57	22,37	20,63
5	30,10	27,87	29,33	27,66	28,87	29,70	20,63	20,63
6	31,20	30,56	29,29	29,40	32,37	30,60	23,03	21,80
7	29,34	30,01	28,63	29,59	30,80	29,83	20,30	21,10
8	27,96	27,79	28,51	27,70	29,67	29,10	20,90	20,27
9	29,26	29,19	28,04	28,86	32,73	30,73	23,87	19,97

Anexo J

Tabela das médias dos valores adquiridos do índice NAA/Cre para cada paciente e para cada controle.

	Frontal Dir	Frontal Esq	Parietal Dir	Parietal Esq	Corpo caloso
Pacientes					
1	2,474	2,194	2,576	2,172	1,977
2	2,477	2,200	2,646	2,341	1,629
3	2,410	2,151	1,828	2,547	1,831
4	2,665	2,321	2,535	2,157	1,531
5	2,430	2,147	2,334	2,326	1,778
6	2,046	1,723	2,125	2,010	1,669
7	2,256	2,364	2,594	2,477	1,955
8	2,199	2,068	2,278	2,557	2,203
9	2,289	2,538	1,803	1,792	1,802
Controles					
1	2,018	2,759	1,962	2,120	2,790
2	2,691	2,407	2,697	2,315	1,933
3	2,630	2,614	2,632	2,356	2,099
4	2,118	2,479	2,695	2,356	2,116
5	2,060	2,177	2,808	2,178	2,172
6	2,654	2,379	2,682	2,780	2,022
7	3,081	2,362	2,438	2,136	2,132
8	2,916	2,057	2,749	2,037	2,510
9	2,306	2,032	2,326	2,484	2,174

Anexo L

Tabela das médias dos valores adquiridos do índice Cho/Cre para cada paciente e para cada controle.

	Frontal Dir	Frontal Esq	Parietal Dir	Parietal Esq	Corpo caloso
Pacientes					
1	0,940	0,942	0,908	0,824	0,915
2	1,155	1,017	1,172	0,971	0,914
3	1,292	1,119	0,810	1,099	1,204
4	0,916	0,932	0,653	1,063	1,036
5	0,958	0,929	0,924	0,906	0,850
6	0,931	0,954	0,780	0,860	0,910
7	0,931	0,967	1,026	1,026	0,870
8	1,025	0,830	0,847	1,172	1,108
9	1,025	1,050	0,885	0,993	1,047
Controles					
1	0,942	1,298	0,977	1,005	1,523
2	1,107	1,005	0,861	0,975	0,685
3	1,026	1,165	0,988	0,860	1,087
4	0,875	0,963	0,864	0,980	0,905
5	0,945	1,086	1,197	0,890	1,280
6	1,353	1,053	1,186	1,157	1,068
7	1,293	1,107	0,994	0,784	0,829
8	1,218	0,874	1,284	0,888	1,021
9	1,088	1,092	0,913	1,158	1,121