**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

ANA PAULA AFONSO CAMARGO FERREIRA

**Biomarcadores de Ressonância Magnética e Performance Cognitiva
em Estenose Carotídea Assintomática**

**RIBEIRÃO PRETO
2018**

ANA PAULA AFONSO CAMARGO FERREIRA

**Biomarcadores de Ressonância Magnética e Performance Cognitiva
em Estenose Carotídea Assintomática**

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de concentração: Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Octávio Marques Pontes Neto

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Ferranti Leoni

**RIBEIRÃO PRETO
2018**

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

O exemplar original encontra-se no Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

FICHA CATALOGRÁFICA

Camargo-Ferreira, Ana Paula Afonso
Biomarcadores de ressonância magnética e performance cognitiva
em estenose carotídea assintomática. Ribeirão Preto, 2018.
142 p.: il.; 30 cm

Tese (Doutorado) apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto/USP. Área de concentração: Neurociências.

Orientador: Prof. Dr. Octávio Marques Pontes Neto
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Renata Ferranti Leoni

1. Estenose de carótida assintomática. 2. Cognição. 3. Perfusão
cerebral. 4. Substância branca. 5. Conectividade funcional

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ana Paula Afonso Camargo Ferreira

Biomarcadores de Ressonância Magnética e Performance Cognitiva em Estenose Carotídea Assintomática

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para a obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas.

Área de concentração: Neurociências

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Ao Rafael Ferreira,
Meu amado esposo e companheiro,
Tê-lo ao meu lado me faz mais forte,
Você é presente de Deus em minha vida*

*À minha mãe, Maria Aparecida,
Que dignamente me apresentou à importância da família
E ao caminho da honestidade e persistência,
Por meio de seu amor incondicional
Ser sua filha é uma grande benção*

*A doce Pipoca, sim à ela! Que despertou em mim sentimentos sublimes,
Por sua lealdade e incontáveis carinhos,
Por seu intermédio experienciei a beleza de um milagre*

Sinto-me absolutamente honrada em poder dedicar à vocês esse trabalho

AGRADECIMENTOS

*Uma frase popular diz que “a gratidão é a lembrança do coração”,
Assim, meu coração se lembra de todos aqueles que estiveram presentes
nessa intensa e saborosa jornada*

*À Deus,
Pelas incontáveis experiências que refletiram o mais sublime amor,
Pelo Seu nome, para que eu pudesse invocá-lo em todas as situações,
Por me proporcionar vigor diário, aquietar meu coração
e sustentar minha alma*

*Ao meu orientador Prof. Dr. Octávio Marques Pontes-Neto,
Pela singular capacidade de agregar, pelas incontáveis oportunidades e
pelo contagiante brilho nos olhos que tanto me motiva,
Sua capacidade em me fazer transpor obstáculos me fizeram
amadurecer enquanto pessoa,
Você tem minha admiração e plena gratidão*

*À Prof^a. Dr^a. Renata Ferranti Leoni,
Que prontamente aceitou o convite para a co-orientação desta pesquisa,
Por ter me conduzido com tanta dedicação pelos caminhos da
Ressonância Magnética,
Meu coração se enche da mais sincera gratidão,
Obrigada pelos ensinamentos, pela confiança e pela oportunidade,
Só posso acreditar que foi Deus quem te colocou em minha vida*

Ao Corpo Docente do Programa de Pós Graduação em Neurologia e Neurociências da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, por ter proporcionado modelo de busca científica

À Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, por me conferir a oportunidade de estudar em uma renomada Instituição de Ensino

*Ao querido amigo Pedro Henrique, pesquisador nato,
Que generosamente me auxiliou durante toda execução deste estudo,
Pela sua rotineira disponibilidade em me receber,
Pela paciência, carinho e ensinamentos dispensados, tão substanciais
para a execução desta pesquisa*

Aos ilustres amigos Físicos Médicos, que fazem do Laboratório Inbrain USP Ribeirão Preto, um campo fértil para a produção do conhecimento e amizade

*À Equipe de Cirurgia Vascular e Neurologia Vascular,
Sou imensamente grata pelo apoio tão substancial no recrutamento de
pacientes para este estudo*

*Aos pacientes e familiares que, voluntariamente, participaram desta
pesquisa, dividindo comigo seus pesares e esperanças,
Sou grata pela confiança depositada em meu trabalho*

*À Claudínea Arantes, amada amiga,
Por me ouvir, motivar, sorrir, discutir e acompanhar este trabalho, mas
especialmente por estar sempre solícita*

*À Catalina Cabrera, amiga e parceira de Interconsulta no HCFMRP,
Seus abraços e palavras de motivação tornaram meus dias mais leves*

*À Profa. Dra. Sonia Loureiro,
Sua compreensão e apoio foi imprescindível para a conclusão desta
pesquisa*

*Aos meus queridos colegas do laboratório de Neurologia Vascular,
Pela parceria e modelos de profissionalismo,
Realmente me sinto privilegiada pela oportunidade de compor esse time*

*A minha amada família representada pela minha irmã
Nathália Ferraz, que juntamente com meu cunhado (Kleber Ferraz),
Sofia (querida sobrinha), ao meu amado padrasto Carlos e aos meus avós,
Lourdes e Joaquim,
Por sempre me receberem com brólhos nos olhos,
Pelo aconchego de seus abraços, pelo entusiasmo com minhas conquistas,
Pelas orações, pelo amor e por depositarem em mim expectativas de
crescimento*

*Aos meus amados sogros Lourdes e Benedito Ferreira,
Pela afeto transformado em ações, pelo apoio e orações*

*À maravilhosa equipe do Serviço de Ressonância Magnética do Hospital
das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,
Pelos longos dias de trabalho conjunto na aquisição das imagens, pelos
cafés com risada e pelo profissionalismo*

À CAPES, pelo apoio financeiro

*E à todos aqueles, que direta ou indiretamente, contribuíram para a
concretização deste trabalho*

Meus sinceros agradecimentos!

Pela fé.

RESUMO

CAMARGO-FERREIRA, A.P.A. **Biomarcadores de ressonância magnética e performance cognitiva em estenose carotídea assintomática** 2018. 142 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Introdução: As doenças cerebrovasculares constituem-se um sério problema de saúde, e dados sobre sua prevalência mundial são alarmantes. A doença aterosclerótica dos vasos cervicais é um importante fator etiológico de isquêmica cerebral, por mecanismos que envolvem fenômenos embólicos e hipofluxo cerebral. Enquanto o manejo dos pacientes com estenose carotídea sintomática geralmente requer procedimentos cruentos como a endarterectomia e a angioplastia com stent carotídeo, não estão bem definidos o espectro clínico e o manejo adequado dos pacientes com estenoses carotídeas ditas assintomáticas (sem evidência de evento cerebrovascular ipsilateral). Neste contexto, é possível que a presença de déficits cognitivos e as alterações estruturais e funcionais na ressonância magnética cerebral possam ser úteis para a estratificação e o manejo destes pacientes. **Objetivos:** constitui objetivo principal do presente estudo investigar associações entre biomarcadores de ressonância magnética e desempenho cognitivo, em sujeitos com estenose carotídea assintomática unilateral. **Métodos:** foram incluídos na pesquisa 13 voluntários, com diagnóstico de doença aterosclerótica assintomática unilateral com comprometimento $\geq 70\%$ da luz do vaso, recrutados nos ambulatórios de neurologia e cirurgia vascular, do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – FMRP/ USP. Participaram do grupo controle 13 voluntários, sem antecedentes de doenças cerebrovasculares. A avaliação neuropsicológica consistiu na aplicação do Subteste Dígitos (WAIS); *Trail Making Test*; *Stroop Test*; Teste das Figuras Complexas de Rey; provas de fluência verbal fonêmica e categoria semântica; e o Mini Exame do Estado Mental, edições 1 e 2. Para a composição da avaliação de neuroimagem por ressonância magnética, foram inclusas: (1) imagens FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*) para avaliação de carga de lesão de substância branca; (2) imagens de ASL (*arterial spin labeling*), ponderadas em perfusão sanguínea, para quantificação do fluxo sanguíneo cerebral; e (3) imagens baseadas no contraste BOLD (*blood oxygenation level dependent*), em repouso, para avaliação da conectividade funcional. Análises estatísticas foram realizadas pelo Stata 15.1, em que as variáveis foram testadas para normalidade usando o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*. O teste t de amostras independentes e o teste U de Mann-Whitney foram utilizados para analisar as diferenças entre os grupos. As diferenças hemisféricas na carga de WMH foram testadas pelo teste t pareado, ou Wilcoxon. Testes Chi-squared ou Teste Exato de Fisher foram utilizados na análise de variáveis categóricas. Os coeficientes de

correlação de Pearson ou Spearman foram utilizados para explorar correlações entre escores cognitivos, volume de substância branca, carga de WMH, CBF e conectividade funcional. **Resultados:** O volume de substância branca (SB) em pacientes com estenose carotídea assintomática mostrou-se marcadamente reduzido, enquanto hiperintensidade de sinal em SB esteve significativamente aumentada em relação a indivíduos controles ($p < 0,01$). O hemisfério ipsilateral à estenose assintomática grave apresentou carga mais expressiva de lesão em SB ($p = 0,01$). Neste contexto, a presença de estenose assintomática esteve independentemente associada à hiperintensidade de SB. Análises de CBF não revelaram diferenças entre os grupos clínicos e controle, embora o CBF tenha sido associado ao desempenho das funções cognitivas em todos os domínios avaliados por este estudo. Não foram identificadas diferenças de fluxo sanguíneo global em territórios das artérias cerebrais anterior, média e posterior, entre sujeitos com estenose de artéria carótida assintomática e controles. Pacientes apresentaram prejuízos de conectividade em redes cerebrais de repouso (RSBNs), especialmente frontotemporal, saliência e rede atencional dorsal, em relação aos controles ($p\text{-FDR} < 0,01$). A performance cognitiva de pacientes com estenose carotídea foi inferior ao grupo controle, para todas as medidas, com diferenças significativas em domínios mnemônicos, atencionais e funções executivas ($p < 0,05$), estes relacionados com RSBNs. **Conclusões:** Nós identificamos anormalidades pré-clínicas no volume de SB, CBF, conectividade funcional e no desempenho cognitivo de pacientes com estenose carotídea assintomática. Biomarcadores de neuroimagem na RM, combinados à avaliação cognitiva têm um grande potencial para identificação de pacientes com estenose carotídea assintomática sob risco elevado de AVC e declínio cognitivo.

Palavras-chave: estenose carotídea assintomática; avaliação cognitiva; hiperintensidade de substância branca; neuroimagem funcional; fluxo sanguíneo cerebral.

ABSTRACT

CAMARGO-FERREIRA, A.P.A. **Magnetic resonance biomarkers and cognitive performance in asymptomatic carotid stenosis.** 2018. 142 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Background: Cerebrovascular diseases are an important health problem worldwide with high prevalence, mortality and morbidity. Among its etiological subtypes, atherosclerotic disease involving the carotid artery is strongly associated with ischemic stroke due to arterial embolism and hemodynamic compromise. The management of symptomatic carotid stenosis generally requires carotid endarterectomy or stenting. Nevertheless, the management of asymptomatic carotid stenosis and patient selection for these procedures is still largely debated. It is possible that the presence of cognitive impairment, alterations on functional and structural magnetic resonance imaging (MRI) biomarkers of cerebrovascular disease could help the stratification and management of these patients. **Objectives:** to investigate the association between MRI biomarker of cerebrovascular disease and cognitive function in patient with unilateral asymptomatic carotid stenosis. **Methods:** we evaluated 13 patients with unilateral carotid stenosis $\geq 70\%$ recruited from a tertiary academic outpatient clinic in Brazil and 13 control subjects without carotid stenosis or history of cerebrovascular diseases paired by age and sex. The neuropsychological evaluation included the WAIS, *Trail Making Test*, *Stroop Test*, Rey complex figures test; verbal fluency and categorical semantic fluency; and the minimental state 1 and 2. The MRI evaluation included: (1) FLAIR evaluation of white matter (WM) burden; (2) ASL evaluation of cerebral blood flow (CBF); (3) resting-state BOLD for evaluation of functional connectivity. Statistical analyses were performed with the Stata 15.1 package. Normality of the distribution of the variables was assessed with the Shapiro-Wilk test. We also used the student t test, Mann-whitney test, Chi-squared test and Fisher exact test as appropriate for univariate analyses. Pearson and Spearman correlation coefficients were used to explore the correlations among cognitive performance scores, WM volume, burden of WM hyperintensities, CBF and brain functional connectivity. **Results:** the global WM volume was markedly reduced and the global WM hyperintensity was significantly increased within the ipsilateral hemisphere in patients with unilateral carotid stenosis, when compared to controls ($p < 0,01$). CBF evaluated by ASL was associated with cognitive function but it was not significantly different between patients and controls within the arterial territories of the major intracranial arteries. Patients with carotid stenosis showed marked compromise of the brain connectivity within the frontotemporal, attentional and salience networks when compared to controls ($p\text{-FDR} < 0,01$). The cognitive performance was inferior for patients with unilateral carotid stenosis compared to controls in several cognitive

domains including executive function, attention and mnemonic domains. **Conclusions:** patients with asymptomatic carotid stenosis have high frequency of pre-clinical abnormalities on structural and functional MRI biomarkers and cognitive impairment. Evaluation of cognitive function, structural and functional MRI biomarkers of cerebrovascular disease may have a role to improve patient stratification and selection for interventions among patients with unilateral carotid stenosis.

Keywords: asymptomatic carotid stenosis; cognitive function; white matter hyperintensities; functional neuroimaging; cerebral blood flow.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1:** (a) Técnica de marcação dos spins arteriais. As aquisições são realizadas em pares, uma imagem após a marcação dos spins presentes no sangue arterial que irriga o encéfalo, e outra na condição controle. A imagem resultante (ΔM) da subtração entre imagem marcada e imagem controle é ponderada na perfusão cerebral. (b) Devida à baixa relação sinal-ruído das imagens, as aquisições são repetidas e um mapa médio ponderado em perfusão é obtido. A partir dele, pode-se obter um mapa quantitativo de fluxo sanguíneo cerebral 26
- Figura 3.1:** Territórios cerebrais irrigados pelas artérias cerebrais anterior (ACA, em verde), média (ACM, em vermelho) e posterior (ACP, em azul). Os sombreamentos indicam as subdivisões proximal, intermediária e distal baseadas em tempos de trânsito arteriais. Figura adaptada de Mutsaerts et al. (2015) 44
- Figura 4.1.** Diferenças significativas entre grupos para o volume de hiperintensidade de sinal de substância branca (Painel A) e carga de lesão em substância branca, estratificada por hemisfério cerebral (Painel B) 54
- Figura 4.2.** Segmentação de hiperintensidade de sinal em substância branca mensurada por FLAIR, em paciente com estenose de carótida assintomática e participante controle. Em ambos os casos, HSB foi demarcada em verde, com utilização de um algoritmo automático 55

Figura 4.3: Correlação entre carga de lesão em substância branca e velocidade de processamento, obtida pelo desempenho no Teste de codificação dígito-símbolos.

HSB, hiperintensidade de substância branca 57

Figura 4.4: Correlação entre carga de lesão em substância branca e desempenho no mini exame do estado mental 1. HSB, hiperintensidade de substância branca 58

Figura 4.5: Correlação entre carga de lesão em substância branca e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente a cognição. HSB, hiperintensidade de substância branca; CCV, comprometimento cognitivo vascular 59

Figura 4.6. Diferenças do volume de substância branca (Painel A) e de hiperintensidade de sinal em substância branca (Painel B) estratificada por hemisfério ipsi e contralateral à estenose de carótida assintomática 61

Figura 4.7. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais, em participantes controles. FSC, fluxo sanguíneo cerebral; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ 67

Figura 4.8. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais, em sujeitos com estenose de carótida assintomática. CBF, do inglês cerebral blood flow; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior; FSC, fluxo sanguíneo cerebral. * $p < 0,05$ 68

Figura 4.9. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais ipsilateral e contralateral, em sujeitos com estenose de carótida assintomática esquerda. FSC, fluxo sanguíneo cerebral; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ 69

Figura 4.10. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais ipsilateral e contralateral, em sujeitos com estenose de carótida assintomática direita. CBF, do inglês cerebral blood flow; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior..... 70

Figura 4.11. Mapas quantitativos de fluxo sanguíneo cerebral (CBF) em sujeitos representativos dos grupos avaliados: (A) controle, (B) pacientes com estenose de artéria carótida interna (ACI) esquerda e (C) paciente com estenose de ACI direita. As barras de cores representam os valores de CBF em mL/100 g de tecido/min 71

Figura 4.12. Correlações entre fluxo sanguíneo cerebral (CBF) e cognição global, correspondente aos resultados do MEEM-2 72

Figura 4.13. Correlações entre fluxo sanguíneo cerebral (CBF) e velocidade de processamento, obtida pelo desempenho no Teste de codificação dígito-símbolos ... 73

Figura 4.14. Correlação entre CBF total e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente a cognição. HSB, hiperintensidade de substância branca; CCV, comprometimento cognitivo vascular; Eca, estenose de carótida assintomática 77

Figura 4.15. Conectividade funcional de redes cerebrais de repouso, entre sujeitos com estenose de artéria carótida direita e controles. ACI, artéria carótida interna; D, direita; E, esquerda. * p-FDR < 0,05 84

Figura 4.16. Conectividade funcional de redes cerebrais de repouso, entre sujeitos com estenose de artéria carótida esquerda e controles. ACI, artéria carótida interna; D, direita; E, esquerda. * p-FDR < 0,05 85

Figura 4.17. Correlações entre o desempenho em fluência verbal semântica e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (redes frontoparietal) com a ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerda 86

Figura 4.18. Correlações entre o desempenho em memória visual de evocação tardia e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior direita (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito 87

Figura 4.19. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo 88

Figura 4.20. Correlações entre funções executivas, pelo Stroop test 2 e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) com ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo .. 88

Figura 4.21. Correlações entre funções executivas, pelo Stroop test 3 (tempo) e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo 89

Figura 4.22. Correlações entre funções executivas, pelo Stroop test 3 (variável erros) e

conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo 89

Figura 4.23. Correlações entre funções executivas, pelo Stroop test 3 e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e região sensório-motora lateral esquerda, em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerda 90

Figura 4.24. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do giro supramarginal direito (rede saliência) e sulco intraparietal direito (rede atenção dorsal), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. GSM, Giro supramarginal; SIP, Sulco intraparietal; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo 91

Figura 4.25. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do giro supramarginal direito (rede saliência) e sulco intraparietal direito (rede atenção dorsal), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. GSM, Giro supramarginal; SIP, Sulco intraparietal; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo 92

Figura 4.26. Correlação entre conectividade das redes frontoparietal direita (córtex

parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda) e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente à cognição. CCV, comprometimento cognitivo vascular; Eca, estenose de carótida assintomática 93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Motivos da exclusão de 15 casos não elegíveis para o estudo	35
Tabela 4.1. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes controles	50
Tabela 4.2. Volume de substância branca e carga de lesão (hiperintensidade de sinal) em substância branca mensurada por FLAIR, em pacientes com estenose carotídea assintomática e controles	53
Tabela 4.3. Coeficiente de correlação e <i>p-value</i> do modelo de regressão, para identificação de preditor de desempenho cognitivo	58
Tabela 4.4. Coeficiente de correlação e <i>p-value</i> do modelo de regressão, para identificação de preditor de hiperintensidade de sinal em substância branca	60
Tabela 4.5. Volume de substância branca e carga de hiperintensidade de sinal em substância branca estratificada por hemisférios, em sujeitos com estenose carotídea assintomática	61

Tabela 4.6. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose carotídea assintomática e participantes controles 63

Tabela 4.7. Fluxo sanguíneo normalizado nos territórios das artérias cerebrais anterior, média e posterior, mensurado em sujeitos com estenose carotídea assintomática e participantes do grupo controle 66

Tabela 4.8. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de fluxo sanguíneo cerebral em substância cinzenta 71

Tabela 4.9. Correlações significativas entre desempenho cognitivo e fluxo sanguíneo cerebral em artéria cerebral anterior, média e posterior, nos segmentos proximal, intermediário e distal, em estenose carotídea direita, esquerda e participantes controles 74

Tabela 4.10. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes controles 78

Tabela 4.11. Dados demográficos de sujeitos com estenose de carótida assintomática à direita, à esquerda e participantes controles 82

Tabela 4.12. Diferenças de conectividade funcional de redes cerebrais de repouso entre participantes com estenose de carótida esquerda, direita e controles 83

Tabela 4.13. Coeficiente de correlação e p-value do modelo de regressão, para identificação de preditor de conectividade funcional entre as redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda) 94

Tabela 4.14. Coeficiente de correlação e p-value do modelo de regressão, para identificação de preditor de conectividade funcional entre as redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita) 94

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Grupo Clínico ... 123

ANEXO B. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Grupo Controle 127

LISTA DE SIGLAS

ACA	Artéria Cerebral Anterior
ACI	Artéria Carótida Interna
ACM	Artéria Cerebral Média
ACP	Artéria Cerebral Posterior
AIT	Ataque Isquêmico Transitório
ASL	<i>Arterial Spin Labeling</i>
AVC	Acidente Vascular Cerebral
BOLD	<i>Blood Oxygenation Level Dependent</i>
CAPS	<i>Carotid Atherosclerosis Progression Study</i>
CBF	<i>Cerebral Blood Flow</i>
CHS	<i>Cardiovascular Health Study</i>
DCV	Doença Cerebrovascular
EC	Estenose Carotídea
ECa	Estenose de Carótida Assintomática
EPI	<i>Echo Plannar Imaging</i>
FDR	<i>False Discovery Rate</i>
FLAIR	<i>Fluid Attenuated Inversion Recovery</i>
FOV	<i>Field of View</i>
FSC	Fluxo Sanguíneo Cerebral
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
HSB	Hiperintensidade de Substância Branca
IRM	Imagem de Ressonância Magnética
IRMf	Imagem de Ressonância Magnética funcional
MDCS	<i>Malmö Diet and Cancer Study</i>
MEEM	Mini Exame do Estado Mental
OMS	Organização Mundial de Saúde
pCASL	<i>Peseudocontinuous Arterial Spin Labeling</i>
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>

PLD	<i>Post-Labeling Delay</i>
RF	Radiofrequência
RM	Ressonância Magnética
ROI	<i>Region Of Interest</i>
SB	Substância Branca
SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
TE	Tempo ao Eco
TI	Tempo de Inversão
TMT	<i>Trail Making Test</i>
TOF	<i>Time Of Flight</i>
TR	Tempo de Relaxação
VE	Versão expandida

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1 Doença aterosclerótica de carótidas	20
1.2 Neuroimagem por ressonância magnética	22
1.2.1 Hiperintensidade de substância branca por FLAIR	22
1.2.2 Perfusão sanguínea cerebral por ASL	24
1.2.3 Conectividade funcional por BOLD-IRMf	27
1.3 Desempenho cognitivo	28
2. OBJETIVOS	33
2.1 Geral	33
2.2 Específicos	33
3. CASUÍSTICA E MÉTODOS	34
3.1 Seleção da amostra	34
3.2 Avaliação clínica	36
3.2.1 Caracterização da amostra	36
3.2.2 Avaliação neuropsicológica	37
3.3 Avaliação por neuroimagem	40
3.3.1 FLAIR	40
3.3.1.1 Parâmetros para aquisição das imagens	41
3.3.1.2 Pré-processamento e análise das imagens	41
3.3.2 ASL	42
3.3.2.1 Parâmetros para aquisição das imagens	42
3.3.2.2 Pré-processamento e análise das imagens	43

3.3.3 IRMf em repouso	44
3.3.3.1 Parâmetros para aquisição das imagens	45
3.3.3.2 Pré-processamento e análise das imagens	45
3.4 Análises estatísticas	46
3.5 Aspectos éticos	47
4. RESULTADOS	49
4.1 Análise de substância branca por FLAIR	49
4.1.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle	49
4.1.2 Achados de neuroimagem: volume de substância branca (SB) e carga de lesão em SB	53
4.1.3 Correlações entre desempenho cognitivo, volume total de substância branca e carga de lesão global	56
4.1.4 Análise de preditores independentes de hiperintensidade de sinal em substância branca global	59
4.1.5 Volume de substância branca e carga de lesão: análise de diferenças hemisféricas, em estenose de carótida assintomática	60
4.2 Análise de perfusão sanguínea cerebral por pCASL	62
4.2.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle	62
4.2.2 Quantificação do fluxo sanguíneo cerebral em sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle	65

4.2.3 Fluxo sanguíneo cerebral em território ipsi e contralateral à estenose de carótida	68
4.2.4 Preditores independentes de CBF total em substância cinzenta	71
4.2.5 Correlações entre desempenho cognitivo e fluxo sanguíneo cerebral	72
4.3 Conectividade funcional	77
4.3.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle	77
4.3.2 Análise de conectividade funcional de redes cerebrais de repouso em estenose assintomática de carótida e participantes controles	81
4.3.3 Correlações entre desempenho cognitivo e conectividade funcional	85
4.3.4 Preditores independentes de conectividade funcional	93
5. DISCUSSÃO.....	95
6. CONCLUSÕES.....	110
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
ANEXOS.....	123

1 Introdução

As doenças cerebrovasculares (DCVs) são um sério problema de saúde pública, com elevados índices de mortalidade em todo o mundo. Quantitativamente estes índices correspondem 9,7% dos óbitos anuais, atribuindo às DCVs o segundo lugar no ranking das principais causas de morte no mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2008). Estimativas da *World Health Organization* (2008) indicam provável acentuação deste índice, atingindo 12,1% de óbitos anuais na população mundial, até 2030. No Brasil, o mesmo índice é elevado a 14,2% dos óbitos anuais, o que lhe confere a posição de segunda causa de mortalidade, com mais de 100.000 óbitos/ ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

Somada às expressivas taxas de mortalidade, doenças como o acidente vascular cerebral (AVC) constituem-se causas de incapacidade funcional com severidade variada, àqueles que sobrevivem à injúria. Compondo o principal subgrupo de doenças cerebrovasculares, o AVC é definido pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como um “déficit neurológico focal (ou global), de início súbito, que persiste por mais de 24 horas (ou conduz à morte antes desse tempo), de provável origem vascular” (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2005; OMS, 2006). O déficit neurológico de caráter transitório ou definitivo, em região encefálica, secundário à lesão por comprometimento da irrigação sanguínea cerebral, tem tipologia determinada de acordo com o mecanismo que o originou, tal qual, isquemia ou hemorragia (ABE, 2010).

A doença aterosclerótica que acomete os vasos cervicais como as artérias carótidas internas (ACI) é responsável pela etiologia do AVC isquêmico em aproximadamente 20% dos casos. Configura-se por um processo degenerativo localizado na camada íntima da artéria, caracterizado pelo de acúmulo de lipoproteínas (SACCO et al. 1995; WITYK et al. 1996; FUKUJIMA E GABBAI, 1999). Esse acúmulo induz o estreitamento da luz vascular e a redução do fluxo sanguíneo, o que caracteriza a estenose carotídea (EC).

1.1 Doença aterosclerótica de carótidas

Tendo em vista a fisiopatologia da doença, partículas de lipoproteínas colaboram para a facilitação da migração de monócitos para a parede do vaso, que por sua vez transformam-se em macrófagos ou células esponjosas, responsáveis pelo aumento do acúmulo de lipoproteínas. Neste processo, células musculares lisas migram da camada média, para a camada íntima da artéria e se proliferam. Dado este processo, a aglomeração dos lipídeos extracelulares em um núcleo envolto de uma camada de tecido conectivo forma a placa aterosclerótica. O crescimento contínuo desta placa induz o estreitamento da luz vascular e a redução do fluxo sanguíneo, o que caracteriza a estenose carotídea (EC). Complicações inerentes a este processo podem resultar em trombose e embolização distal (GARCIA E HO, 1996; LIBBY E THEROUX 2005).

Neste ínterim, a estenose carotídea pode ser classificada em sintomática e assintomática, e a atribuição desta classificação está relacionada a presença ou

ausência, respectivamente, de eventos neurológicos associados, tais como AVC isquêmico, ou ataque isquêmico transitório (AIT).

Quanto a prevalência da estenose de artéria carótida assintomática na população geral, resultados de uma meta-análise que reuniu dados de 23.706 participantes, baseados em quatro estudos de base populacional [*Tromsø Study*; *Malmö Diet and Cancer Study (MDCS)*; *Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS)*; e *Cardiovascular Health Study (CHS)*] e demonstrou que a prevalência de estenose moderada difere entre os gêneros. Assim, acomete cerca de 0,5% de homens e 0,3% de mulheres antes dos 50 anos de idade, bem como 5,7% dos homens e 4,5% das mulheres com idade igual ou superior a 80 anos. A apresentação grave da doença, ou seja, acima de 70% de acometimento da luz do vaso, variou de 0,1% em homens abaixo de 50 anos e 1,7% igual ou acima de 80 anos em homens, e 0,9% em mulheres. Em síntese, a prevalência de estenose de carótida assintomática (ECa) na população geral corresponde a 1,6% (WEERD et al., 2010).

Dentre os fatores de risco que corroboram para a prevalência dessa patologia, um reconhecido estudo de base populacional em epidemiologia cardiovascular (*Tromsø Study*), incluindo homens e mulheres indicou como preditores de estenose carotídea: idade, sexo masculino, hipertensão arterial, colesterol total, colesterol HDL, tabagismo e fibrinogênio (MATHIESEN et al., 2001). Adicionalmente, a presença de diabetes, que é reconhecido como um importante fator de risco para AVC (JANGHORBANI et al., 2007), também apresenta-se associado a prevalência de estenose carotídea assintomática, com odds ratio de 3.152 (DE ANGELIS et al., 2003).

O processo de estreitamento arterial, decorrente da estenose carotídea, pode induzir a diminuição da perfusão sanguínea em regiões cerebrais ipsilaterais, que em condições agudas serão supridas por um mecanismo autorregulatório de vasodilatação, a fim de que o fluxo sanguíneo seja mantido em condições normais (WEBSTER et al., 1995; SILVESTRINI et al., 1996). Tal feito, denominado reatividade vascular cerebral, configura-se uma característica fisiológica encefálica, que permite a alteração do calibre das artérias, em resposta a um estímulo vasoativo (SCHWERTFEGER et al., 2006). Entretanto, a persistência da hipoperfusão cerebral resulta em esgotamento da reserva hemodinâmica, tornando o organismo significativamente mais suscetível ao AVC isquêmico ou ataque isquêmico transitório (AIT) (WEBSTER et al., 1995; SILVESTRINI et al., 1996; SILVESTRINI, et al., 2000; MARKUS E CULLINANE, 2001).

1.2 Neuroimagem por ressonância magnética

As neuroimagens se tornaram ferramentas importantes no estudo e diagnóstico de doenças cerebrovasculares e suas aplicações assumem uma curva ascendente. Neste contexto, as imagens por ressonância magnética (IRM) têm grande relevância por serem não invasivas e flexíveis, ou seja, avaliam diferentes aspectos do encéfalo, incluindo estrutura, perfusão cerebral (LEONI et al., 2012) e conectividade funcional.

1.2.1 Hiperintensidade de substância branca por FLAIR

Sabidamente, indivíduos com estenose de artéria carótida são sujeitos ao comprometimento da microvasculatura cerebral, incluindo lesões da substância branca (BOTS et al., 1993; MARKUS et al., 2010; MORONI et al., 2016), também denominadas leucoaraioses (HACHINSKI et al., 1987). Neste contexto, imagens de Ressonância Magnética, especialmente sequências T2 e FLAIR (do inglês, *Fluid attenuated inversion recovery*), fornecem subsídios para identificação e quantificação dessas lesões.

De acordo com Valk, Barkhof e Scheltens (2002) tais imagens refletem lesões distribuídas no centro semioval ou, ainda, na região periventricular evidenciando, em alguns casos, um halo de alta intensidade contornando os ventrículos. Adicionalmente podem ocorrer extensas hiperintensidades de substância branca (HSB) periventricular e lobar, cujas quais podem ou não estar associadas a lesões hiperintensas em núcleos da base.

Controvérsias ainda permeiam a fisiopatologia da leucoaraiose, uma vez que as discussões dividem hipóteses que presumem dano por hipoperfusão crônica da substância branca (PANTONI, 1997; O'SULLIVAN et al., 2002) e associações com eventos microembólicos (MARKUS et al., 2010; AMMIRATI et al., 2017).

Ademais, achados de uma meta-análise demonstrou que HSB foi preditor independente de AVC, declínio cognitivo, demência e morte (DEBETTE E MARKUS, 2010). Assim, considerando que estudos prévios demonstraram associações entre lesões em substância branca e severidade da estenose carotídea assintomática (AMMIRATI et al., 2017), análises adicionais que contemplem medidas cognitivas pode

fornecer dados relevantes para a diferenciação de pacientes com estenose de carótida assintomática.

1.2.2 Perfusão sanguínea cerebral por ASL

A técnica de marcação dos spins arteriais (ASL, *arterial spin labeling*) utiliza a água presente no sangue arterial como agente de contraste endógeno difusível (BARBIER et al., 2001) para avaliação da perfusão sanguínea cerebral. Além disso, se apresenta como um método quantitativo para medir o fluxo sanguíneo cerebral (CBF, *Cerebral Blood Flow*), que é superior em resoluções temporal e espacial quando comparado a outros métodos como Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT, *Single Photon Emission Computed Tomography*) e Tomografia por Emissão de Pósitrons (PET, *Positron Emission Tomography*) (WINTERMARK et al., 2005), sendo validada extensivamente contra métodos que utilizam agentes de contraste exógenos, como ^{15}O -PET (XU et al., 2009).

O conceito fundamental da ASL é a manipulação da magnetização longitudinal da água presente no sangue arterial para que ela se diferencie da magnetização do tecido estático. À medida que os *spins* intravasculares magneticamente marcados atingem os capilares e realizam trocas com o tecido cerebral pela barreira hemato-encefálica, a magnetização do tecido é alterada e torna-se possível obter imagens cujo contraste é proporcional à perfusão cerebral (DETRE et al., 2009).

As aquisições das imagens de ASL são realizadas em pares, uma após a marcação e outra sem marcação (controle). As imagens resultantes de ambas possuem o mesmo sinal dos tecidos estáticos, porém apresentam uma pequena diferença de magnetização devido ao fluxo de sangue que contém os spins marcados. A marcação é realizada utilizando um pulso de radiofrequência (RF) que inverte ou satura os prótons da água contida no sangue em grandes artérias que irrigam o encéfalo. Após a marcação, há um tempo de espera para a realização da aquisição da imagem, a fim de o sangue marcado chegar aos capilares que irrigam as regiões de interesse. Dependendo do método de ASL usado, esse tempo de espera é chamado de tempo de inversão (TI) ou atraso pós-marcação (PLD, *post-labeling delay*). A imagem resultante da subtração entre a imagem marcada e a imagem controle, que elimina o sinal do tecido estático, é ponderada na perfusão cerebral e, portanto, proporcional ao CBF (Figura 1.1) (CALAMANTE et al., 1999).

Entre os métodos de marcação, a ASL pseudocontínua (pCASL) é a recomendada para utilização clínica (ALSOP et al., 2015), pois apresenta relação contraste-ruído e eficiência de marcação altas com menos demanda de *hardware* como em métodos anteriormente utilizados (ASL contínua e pulsada) (TANCREDI et al., 2012). Em pCASL, um trem de pulsos curtos de RF (aproximadamente 1 ms) e gradientes de campo sincronizados são usados para inverter os *spins* do sangue fluindo através do plano de marcação. Pulsos seletivos são aplicados com igual espaçamento, e um estado de equilíbrio pode ser atingido. Como os pulsos são curtos em comparação com os tempos de relaxação do sangue arterial, as perturbações causadas pelo trem de pulsos são essencialmente as mesmas que as causadas por

um único pulso longo (WONG, 2013). Além disso, pCASL fornece menor deposição de potência e efeitos de transferência de magnetização se comparada com método contínuo, por exemplo (WU et al., 2007). No entanto, pode ser suscetível a não homogeneidades do campo magnético estático (PETCHARUNPAISAN et al., 2010).

Figura 1.1: (a) Técnica de marcação dos spins arteriais. As aquisições são realizadas em pares, uma imagem após a marcação dos spins presentes no sangue arterial que irriga o encéfalo, e outra na condição controle. A imagem resultante (ΔM) da subtração entre imagem marcada e imagem controle é ponderada na perfusão cerebral. (b) Devida à baixa relação sinal-ruído das imagens, as aquisições são repetidas e um mapa médio ponderado em perfusão é obtido. A partir dele, pode-se obter um mapa quantitativo de fluxo sanguíneo cerebral.

Um estudo publicado recentemente por Hartkamp e colaboradores (2017) utilizou pCASL como método, para mensurar o fluxo sanguíneo cerebral em três grupos de pacientes com estenose carotídea, divididos em assintomáticos e sintomáticos e, novamente, subdivididos em ausência e presença de oclusão de artéria carótida interna. Os achados representaram a quantificação do CBF nos territórios das artérias cerebrais anterior, média e posterior, nos hemisférios ipsi e contralateral a estenose. Assim, demonstraram que as diferenças do volume de CBF, em relação aos controles saudáveis, estiveram presentes apenas em casos de estenose carotídea assintomática com oclusão de ACI, para medidas de CBF em artéria cerebral média. Similarmente ao observado no grupo de assintomáticos, pacientes com estenose sintomática, com e sem oclusão de ACI, apresentaram redução de perfusão em artéria cerebral média e, adicionalmente, em artéria cerebral anterior, em comparação ao grupo controle.

1.2.3 Conectividade funcional por BOLD-IRMf

As IRMs têm a capacidade de medir parâmetros relacionados a funções cerebrais, sendo a técnica mais comum a IRM funcional (IRMf) baseada no contraste dependente do nível de oxigenação sanguínea (BOLD, *Blood Oxygenation Level Dependent*) (BUXTON 2012; BUXTON 2013). O princípio do sinal BOLD está na diferença de suscetibilidade magnética da hemoglobina intravascular, quando ligada ou não a uma molécula de oxigênio. Ou seja, tendo sido ligada a uma molécula de oxigênio, a hemoglobina (oxyhemoglobina) torna-se diamagnética, tendo pouca

influência no sinal de ressonância magnética (RM). Contrariamente, na ausência desta ligação, a hemoglobina apresenta características paramagnéticas, o que distorce o sinal da RM, diminuindo o brilho da imagem. Sendo assim, um aumento local de fluxo sanguíneo desproporcional ao consumo de oxigênio, diminui a concentração de deoxihemoglobina e consequentemente aumenta a intensidade do sinal local de RM (OGAWA et al., 1990). Isso ocorre em regiões próximas a grupos de neurônios ativos.

A IRMf pode ser feita durante um estímulo ou tarefa, ou no estado de repouso, em que o sujeito pode ficar de olhos fechados ou abertos, fixando ou não em um ponto. Assim, essa técnica permite o estabelecimento de medidas do nível de atividade cerebral espontânea, sob o enfoque da dependência temporal de eventos neurofisiológicos espacialmente remotos, fornecendo subsídios para a análise de conectividade funcional (MARTIJN E HILLEKE, 2010). O requinte das imagens reforça a utilização ascendente desta técnica, cuja aplicação em estenose carotídea tem sido tendenciada ao fornecimento de informações precisas, para a detecção de anormalidades funcionais da rede, ainda em estágio pré-sintomático da doença, possivelmente sinalizando alvos terapêuticos (CHENG et al., 2012; LIN et al., 2014).

1.3 Desempenho cognitivo

Além dos aspectos radiológicos, há de se considerar outros achados clínicos, especialmente na estenose carotídea assintomática, tradicionalmente conhecida como doença clinicamente silenciosa. A interdependência de fatores de

risco vascular, AVC, estenose carotídea e comprometimento cognitivo é uma questão intrigante, que tem norteado diferentes estudos.

Notoriamente, o crescente interesse pela expressão cognitiva de sujeitos com aterosclerose carotídea, tem revelado relações entre a patologia cerebrovascular e déficit cognitivo. Isso sugere que a doença aterosclerótica de carótida não se constitui apenas um fator de risco importante para eventos isquêmicos, mas um fator de risco modificável para declínio cognitivo. Entretanto, uma parcela significativa destes estudos, que correlaciona estenose carotídea e funcionamento cognitivo, inclui sujeitos sintomáticos, o que dificulta a clareza da existência de comprometimento cognitivo, bem como o mecanismo fisiopatológico do déficit, em estenose assintomática de carótida (SZTRIHAA et al., 2009; CHANG et al., 2013; WANG et al., 2017).

O termo “déficit neurológico” é caracterizado, pela neurologia clássica, como prejuízo das funções motoras e sensoriais, cujo mapeamento do dano pode ser facilitado, por intermédio do exame das funções cognitivas, uma vez que tais funções estão relacionadas a uma ampla gama de redes neurais (SZTRIHAA et al., 2009). Para este fim, a Neuropsicologia cognitiva tem desenvolvido métodos sofisticados de avaliação das funções cognitivas, possibilitando uma compreensão mais detalhada da doença neurológica.

O uso de protocolos de avaliação neuropsicológica, em sujeitos com estenose carotídea assintomática, possibilita uma análise aprimorada dos prejuízos de domínios cognitivos, a partir do uso de diferentes tarefas cognitivas, executadas por redes neurais distintas. Partindo deste princípio, estudos das últimas décadas têm contemplado a análise de diferentes domínios cognitivos nesta população, tais como:

funções executivas (incluindo medidas de flexibilidade cognitiva, tomada de decisões, categorização, atenção, controle inibitório, memória operacional e fluência verbal); atenção, memória, linguagem, percepção visual, inteligência (NAUGLE et al., 1986; BENKE et al., 1991; MATHIESEN et al., 2004; SILVESTRINI et al., 2009; BALUCANI et al., 2012; CHENG et al., 2012), fluência verbal fonêmica e semântica (SILVESTRINI et al., 2009; BALUCANI et al., 2012).

É frequente encontrar na literatura uma heterogeneidade significativa de instrumentos neuropsicológicos. Assim, como medida cautelosa para não negligenciar alterações sutis dos domínios cognitivos e assegurar a confirmação dos dados observados, estudos reconhecidos da área, com amostras compostas por sujeitos diagnosticados com estenose carotídea assintomática (NAUGLE et al., 1986; BENKE et al., 1991; MATHIESEN et al., 2004; SILVESTRINI et al., 2009; BALUCANI et al., 2012; CHENG et al., 2012), incluíram em seu protocolo a combinação de testes como: subteste *Span* de Dígitos (ordem direta e inversa) da escala WAIS (WECHSLER, 1981); Teste Blocos de Corsi (MILNER, 1971); *Trail Making Test* nas formas A e B (LEZAK, 2004); *Stroop Test* (TRENERRY et al., 1989); Teste de Figuras Complexas de Rey, cópia e recordação imediata e tardia (REY, 1999); Teste de Nomeação de Boston (KAPLAN et al., 1983); provas de fluência verbal fonêmica e fluência verbal semântica, para categoria animais (TOMBAUGH et al., 1999); e Mini Exame do Estado Mental (FOLSTEIN et al., 1975).

Associações consistentes têm sido encontradas entre o subtipo assintomático de estenose carotídea unilateral e prejuízo cognitivo global (JOHNSTON et al., 2004; SILVESTRINI et al., 2009; EL-SERAFY et al., 2011; POPOVIC et al.,

2011), ou ainda, especificamente, relacionadas ao baixo desempenho em domínios cognitivos como memória, linguagem e funções executivas (ROMERO et al., 2009; CHENG et al., 2012). Neste contexto, a inclusão de técnicas de neuroimagem, utilizando Ressonância Magnética, não detectaram lesões cerebrais (MATHIESEN et al., 200; JOHNSTON et al., 2004; ROMERO et al., 2009), suportando o constructo de que a estenose carotídea pode ser um marcador independente de desempenho cognitivo deficitário (CHANG et al., 2013).

Dos mecanismos subjacentes ao dano cognitivo na estenose carotídea, acredita-se que a embolização e a hipoperfusão sejam fatores precipitantes do baixo desempenho das funções cognitivas (SZTRIHA et al., 2009). Das implicações deste dado tem-se que a hipoperfusão cerebral nestes pacientes pode conduzir à atrofia cerebral e consequentemente à demência vascular (MULLER et al., 2011).

Estudos recentes baseados na combinação de baterias robustas de testes neuropsicológicos e IRM direcionam a atenção para relações positivas entre conectividade cerebral e desempenho cognitivo, uma vez que prejuízos da conectividade funcional nas redes de (1) modo padrão, (2) atenção dorsal e (3) frontoparietal, em sujeitos com estenose carotídea assintomática, estiveram correlatos a comprometimento cognitivo, especialmente associado a processos atencionais e mnemônicos (CHENG et al., 2012; LIN et al., 2014; WANG et al., 2017). A consistência destes dados suporta a hipótese que defende relações entre disfunções cognitivas, desligamentos difusos de longo alcance e prejuízo hemodinâmico, em estenose carotídea assintomática (SZTRIHA et al., 2009; CHANG et al., 2013; LIN et al., 2014).

Assim, a combinação de IRM a um protocolo neuropsicológico, com variedade de instrumentos suficientemente sensíveis ao déficit cognitivo, pode preencher uma lacuna existente na literatura da estenose carotídea assintomática. Pois, embora essa patologia seja considerada um forte fator de risco para eventos isquêmicos, ainda não estão claras as variáveis que influenciam no prognóstico do paciente, o que dificulta o estabelecimento de critérios para seu tratamento (SILVESTRINI, et al., 2000). Deste modo, considerar um protocolo que contemple quantificação de carga de lesão, por FLAIR; mapeamento perfusional, por ASL; bem como avaliação da conectividade funcional no repouso, por IRMf; associadas à avaliação neuropsicológica, em pacientes com aterosclerose carotídea assintomática, parece ser uma estratégia plausível, para auxílio na elucidação de prognóstico. O mesmo justifica-se, uma vez que apresenta um papel significativo na identificação de preditor de evento isquêmico, podendo colaborar ao estabelecimento de critérios, para o tratamento da doença assintomática, que parece não ser tão “assintomática” assim.

2 *Objetivos*

2.1 Geral

Investigar a associação entre biomarcadores de neuroimagem por ressonância magnética e desempenho cognitivo em pacientes com estenose carotídea assintomática unilateral grave ($> 70\%$).

2.2 Específicos

- 2.2.1 Caracterizar os domínios cognitivos, considerando as funções executivas, e seus subdomínios, como memória operacional, controle inibitório e fluência verbal, bem como velocidade de processamento, percepção visuoespacial, atenção e memória visual, dos participantes com estenose carotídea assintomática e controles;
- 2.2.2 Investigar carga de lesão de substância branca, perfusão cerebral e conectividade funcional, em participantes com estenose assintomática de artéria carótida interna e controles, como biomarcadores de neuroimagem por ressonância magnética;
- 2.2.3 Comparar os resultados obtidos pelo grupo clínico, de neuroimagem e funcionamento cognitivo, com aqueles obtidos pelo grupo controle, sem doença aterosclerótica;
- 2.2.4 Relacionar achados de neuroimagem e funcionamento cognitivo, em sujeitos com estenose carotídea e controles.

3 *Casuística e Métodos*

Trata-se de um estudo de coorte transversal de sujeitos com estenose carotídea assintomática unilateral grave ($> 70\%$).

3.1 Seleção da amostra

A amostra do presente estudo foi composta por dois grupos: clínico e controle. Para a composição do grupo clínico, os sujeitos foram recrutados nos ambulatórios de neurologia e cirurgia vascular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP). Sendo assim, a abordagem destes pacientes para convidá-los à participação da pesquisa ficou condicionada à presença de estenose carotídea assintomática detectada pela equipe médica, geralmente diagnosticada por exame de ultrassonografia de carótidas ou angioressonância magnética.

De outro modo, o segundo grupo, denominado controle, incluiu voluntários sem diagnóstico de doença aterosclerótica das artérias carótidas, cujos quais foram recrutados na comunidade e convidados a participarem do estudo.

Assim sendo, foram recrutados inicialmente 40 participantes, submetidos ao protocolo de avaliação deste estudo, acompanhado de consentimento formal, dentre os quais 12 não preencheram critérios de elegibilidade e três foram excluídos devido à presença de artefatos do movimento, inviabilizando o uso de IRM. Os motivos da exclusão estão expostos na Tabela 1.1 em ordem decrescente de frequência.

Deste modo, a amostra estudada correspondeu à inclusão de 13 sujeitos com diagnóstico de estenose carotídea assintomática, com comprometimento unilateral $\geq 70\%$ da luz do vaso, participantes do grupo clínico; e 13 voluntários sem doença aterosclerótica das artérias carótidas, comprovada por exame angiográfico de vasos cervicais por ressonância magnética, com idades e distribuição por gênero semelhantes aos sujeitos do grupo clínico.

Tabela 1.1. Motivos da exclusão de 15 casos não elegíveis para o estudo.

Motivo da exclusão	N	%
Estenose sintomática de artéria carótida interna	5	33,3
Presença de artefatos do movimento	3	18,7
Estenose moderada de artéria carótida interna	3	18,7
Presença de estenose em artéria carótida externa ou vertebrais	2	13,3
Achados em neuroimagem - meningioma	1	6,6
Amaurose	1	6,6
Total	15	100

Para todos os voluntários desta pesquisa foram utilizados os seguintes critérios de exclusão inicial:

1. História pregressa de evento cerebrovascular, como AIT ou AVC de qualquer subtipo;
2. Presença de outras desordens neurológicas, tais como: epilepsia, esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, tumor cerebral, doença de Binswanger, demência, etc..

3. Antecedentes pessoais psiquiátricos, de dependência ao álcool e ou outras substâncias neurotóxicas nos últimos 12 meses;
4. Presença de estenose carotídea severa bilateralmente;
5. Lesão estrutural comprovada por ressonância magnética estrutural;
6. Transtornos na comunicação verbal;
7. Intolerância ao exame de ressonância magnética por claustrofobia;
8. Presença de prótese ou implante metálico incompatível com a ressonância (como marca-passo ou implante coclear);
9. Mulheres grávidas;
10. Não assinatura do termo de consentimento para participação voluntária no estudo.

3.2 Avaliação clínica

Aplicados os critérios de elegibilidade do estudo, a presente avaliação foi realizada no Ambulatório de Doenças Cerebrovasculares do HCFMRP-USP, com duração média de 1 hora e 30 minutos, incluindo a aplicação da anamnese, para a caracterização da amostra, combinada a avaliação neuropsicológica, conforme segue.

3.2.1 Caracterização da amostra

1) Anamnese (CAMARGO, 2012)

Foi utilizado um instrumento de triagem que inclui questões sobre dados pessoais e demográficos (sexo, idade, data de nascimento, escolaridade, dominância

verbal, naturalidade, raça, ocupação, religião, entre outros); diagnóstico e condições de saúde que influenciem na avaliação (doenças/ comorbidades, limitações, realização de cirurgias, etilismo e uso de substâncias neurotóxicas); e medicação corrente. Para os antecedentes pessoais, foram registrados diagnósticos prévios de doenças e desordens, bem como doenças presentes em história familiar. Dentre os aspectos comportamentais foram pontuados irritabilidade, agressividade, impaciência, inflexibilidade, passividade, isolamento social, ideação suicida, mudança repentina de humor, prejuízo de sono, sonolência excessiva, choro frequente, fatigabilidade, mudança de apetite, dentre outros. Também investiga prejuízos nas seguintes funções: planejamento/ organização; atenção sustentada; fala; compreensão; escrita; leitura; raciocínio lógico (cálculo/ manuseio de dinheiro); memória; praxias; orientação temporal e espacial.

3.2.2 Avaliação neuropsicológica

O protocolo de avaliação neuropsicológica examinou o desempenho em nove domínios cognitivos, correspondentes a: função executiva; memória operacional auditiva; memória visual, recente e tardia; atenção seletiva; fluência verbal fonêmica e semântica; controle inibitório; e percepção visuoespacial. A avaliação dos domínios foi realizada pelos seguintes testes:

1) *Subteste Dígitos - Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS-III) - Escala de Inteligência Wechsler para Adultos* (WECHSLER, 1981): é comumente utilizado para avaliar um componente fluído da memória operacional, denominado alça fonêmica. A

tarefa consiste em instruir o sujeito a repetir uma série de dígitos numéricos apresentados pelo examinador, da forma como ditos (ordem direta). Em segundo o examinador dita uma sequência de dígitos e orienta o examinando a evocá-los em ordem inversa.

2) *Trail Making Test (TMT) - Formas A e B* (LEZAK, 2004): avalia a capacidade de manutenção do engajamento mental, rastreamento visual, destreza motora, memória operacional, flexibilidade mental e capacidade inibitória. Está dividido em duas partes, A e B. Na parte A, é solicitado ao sujeito que desenhe linhas unindo círculos numerados de forma consecutiva, e, na parte B, sensível à avaliação da flexibilidade cognitiva, solicita-se que o examinando ligue os círculos com números e letras, intercalando-os em ordem crescente.

3) *Stroop Test* (TRENERRY et al., 1989): dividido em três partes, inicialmente, consiste em séries de retângulos coloridos, onde é solicitado ao sujeito a nomeação de cores destes retângulos; posteriormente é solicitado que se nomeie as cores em que as palavras aleatórias estão escritas; e por fim o sujeito deve nomear cores de palavras (cores) escritas, que estão impressas em cores diferentes (incongruência entre a cor da palavra e o que está escrito). Os erros podem ser atribuídos a um conflito de resposta, erro de resposta ou atenção seletiva.

4) *Fluência Verbal* – para este domínio foram utilizadas duas medidas: (1) fluência fonêmica (TOMBAUGH et al., 1999), para a qual é solicitado ao sujeito que relate o máximo de palavras que iniciem com as letras “F”, “A” e “S”, no período de um minuto para cada letra; e (2) fluência semântica (TOMBAUGH et al., 1999), que é obtida a partir do número de palavras evocadas, que pertença a categoria animal, no

período de um minuto. É contabilizado o total de palavras de cada subteste, excluindo-se erros perseverativos e não perseverativos.

5) *Teste de Figuras Complexas de Rey* (REY, 1999) – trata-se de um instrumento que permite a avaliação de três medidas, ou seja, percepção visual, memória visual imediata e tardia. O instrumento é composto de uma figura complexa, geométrica e abstrata contendo várias partes. A aplicação foi constituída por três momentos: no primeiro deles pede-se ao sujeito que copie a figura com o maior número de detalhes possíveis. Posteriormente, após três minutos pede-se ao sujeito que desenhe a mesma figura sem o estímulo, isto é, as partes que consegue lembrar do que realizou anteriormente. E, em um terceiro tempo (de 20 a 30 minutos após a cópia) solicita-se que o indivíduo reproduza a mesma figura, a fim de estabelecer medidas de reprodução tardia.

Com o intuito de viabilizar uma medida de rastreio cognitivo global foi incluído nesta avaliação o Mini Exame do Estado Mental (MEEM-1) (Folstein et al., 1975; Brucki et al., 2003).

Adicionalmente foi utilizado o Mini Exame do Estado Mental 2 (do inglês, *Mini Mental State Examination 2nd Edition* - MMSE- II) – versão expandida (FOLSTEIN et al. 2018, no prelo) normalizada para a população brasileira. Trata-se de uma medida cognitiva global que mostrou-se sensível para identificação de prejuízos do funcionamento executivo. É de nosso conhecimento que este é o primeiro estudo brasileiro a empregar o uso do MEEM-2, em uma amostra de participantes com estenose carotídea assintomática. A medida de rastreio cognitivo fornecida pelo referido instrumento incluiu a avaliação dos seguintes domínios: orientação temporal e

espacial; memória recente e tardia; atenção, cálculo, nomeação, repetição, compreensão, linguagem, praxias e velocidade de processamento.

3.3 Avaliação por neuroimagem

As imagens foram adquiridas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP), em um escâner de ressonância magnética de 3T (*Philips Achieva, The Netherlands*), utilizando uma bobina de crânio contendo 32 canais, exceto para as imagens angiográficas. Para referência anatômica, imagens estruturais foram adquiridas utilizando uma sequência do tipo gradiente eco, ponderada em T1, com os seguintes parâmetros: TR = 6,7 ms, TE = 3,1 ms, ângulo de flip = 8, matriz = 256 X 256, FOV = 256 x 256 mm², número de fatias = 180, espessura da fatia = 1 mm, tamanho do voxel = 1 x 1 x 1 mm³. Para avaliação das artérias cervicais e intracranianas, foi utilizada uma bobina de cabeça e pescoço e obtidas imagens de angioressonância por método TOF (*time of flight*) com os seguintes parâmetros: TR = 20 ms, TE = 3,5 ms, ângulo de flip = 20°, matriz = 512 x 512, FOV = 200 x 200 mm², número de fatias = 175, tamanho do voxel = 0,45 x 0,70 x 1,10 mm³.

3.3.1 FLAIR

Para quantificação da carga de lesão de cada sujeito, paciente e controle, utilizamos imagens FLAIR com parâmetros de aquisição e análise das imagens como descritos abaixo.

3.3.1.1 Parâmetros para aquisição das imagens

As imagens FLAIR foram adquiridas usando uma sequência eco de spins 2D com os seguintes parâmetros: TR = 8 s, TE = 120 ms, TI = 2s, matriz = 256 x 256, = 256 x 256 mm², número de fatias = 42, espessura da fatia = 3 mm.

3.3.1.2 Pré-processamento e análise das imagens

Primeiramente, imagens FLAIR e ponderadas em T1 foram pré-processadas para atenuação de ruído (SENRA FILHO et al., 2015), artefatos de inomogeneidades de campo (TUSTISON et al., 2010), extração do cérebro da cavidade intracraniana [IGLESIAS et al., 2011], e normalização para as coordenadas do espaço padrão (ICBM152-MNI), (AVANTS, et al., 2014). Os métodos automáticos usados nesses estágios do pré-processamento foram escolhidos de algoritmos conhecidos em aplicações médicas, em que os parâmetros foram otimizados para cada método seguindo as recomendações. É importante comentar que o último passo relacionado à normalização foi proposto com o objetivo de ter uma transformação bidirecional entre os espaços nativo e padrão. Entretanto, todos os cálculos feitos foram aplicados no espaço nativo para preservar a variabilidade entre os sujeitos.

Após a correção de artefatos, a carga de lesão de cada sujeito (pacientes e controles) foi calculada inicialmente usando um método de segmentação automática (SCHMIDT et al., 2012) e depois uma correção manual por um neurologista vascular experiente. Apenas as lesões hiperintensas na substância branca foram consideradas

neste estudo. Então, apenas as imagens FLAIR foram utilizadas para inferir a carga de lesão. As imagens ponderadas em T1 foram principalmente usadas para ajudar na normalização espacial, devido à otimização reportada em estudos prévios de registro de imagens biomédicas (ZITOVÁ E FLUSSER, 2003; SOTIRAS et al., 2013).

3.3.2 ASL

A ASL pseudocontínua foi utilizada para obtenção de imagens ponderadas em perfusão sanguínea cerebral e, então, quantificação do CBF. Abaixo estão os parâmetros de aquisição e análise das imagens.

3.3.2.1 Parâmetros para aquisição das imagens

Imagens axiais de pCASL foram adquiridas utilizando uma sequência 2D do tipo *single-shot* ecoplanar (EPI, *echo planar imaging*), com os seguintes parâmetros: TR = 4000 ms, TE = 14 ms, ângulo de flip = 90°, matriz = 160 x 160, FOV = 240 x 240 mm²; número de fatias = 20; espessura da fatia = 5 mm, tempo de marcação = 1650 ms, PLD = 1525 ms, número de pares controle/marcado = 50. Todos os sujeitos foram instruídos para permanecerem acordados e tentarem não se mover durante o exame. Para a quantificação do CBF, uma imagem ponderada em densidade de prótons (M_0) foi adquirida separadamente com os mesmo parâmetros e geometria da sequência de pCASL, porém sem os pulsos de marcação.

3.3.2.2 Pré-processamento e análise das imagens

As imagens de ASL foram processadas utilizando o software *Statistical Parametric Mapping* (SPM12; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/>), o ASLtbx (WANG et al., 2008) e rotinas próprias desenvolvidas em Matlab. O pré-processamento incluiu correção de artefato de movimento; correção com imagens anatômicas ponderadas em T1; filtragem temporal; suavização espacial com filtro gaussiano de 4 mm de largura à meia altura; e normalização para o espaço padrão MNI (EVANS et al., 1993). Além disso, as imagens anatômicas foram segmentadas em substâncias branca e cinzenta para posterior quantificação regional de CBF.

Para a obtenção de mapas quantitativos de CBF, primeiramente fizemos a subtração das imagens controle e marcada pelo método de interpolação sinc, para corrigir a diferença temporal entre as aquisições das imagens controle e marcada (CHENG et al., 2015). Depois, quantificamos o CBF para cada voxel da imagem utilizando o modelo cinético geral (BUXTON et al., 1998):

$$CBF = \left\{ \frac{2\alpha}{\lambda} \frac{M_0}{\Delta M} \left[\frac{\exp(-TI/T_{1app}) - \exp(-TI/T_{1a})}{1/T_{1a} - 1/T_{1app}} \right] \right\}^{-1} \quad [3.1]$$

Em que M_0 corresponde à magnetização de equilíbrio do tecido; ΔM é a diferença de magnetização entre os sinais obtidos a partir das imagens controle e de marcação; T_{1a} é o tempo de relaxação longitudinal do sangue (= 1650 ms); T_{1app} é o tempo de relaxação longitudinal aparente do tecido (= 1020 ms para substância

cinzenta); λ é o coeficiente de partição entre o sangue e o tecido ($= 0,9 \text{ mL/g}$); α é a eficiência de marcação ($= 0.85$) (ALSOP et al., 2015).

O mapa médio de CBF foi obtido para avaliar diferenças regionais entre os grupos. Nove regiões de interesse (ROI, *FOV*) para cada hemisfério foram selecionadas baseadas no atlas dos territórios das principais artérias cerebrais (anterior, ACA; média, ACM; posterior, ACP) (MUTSAERTS et al, 2015), incluindo partes proximal, intermediária e distal (Figura 3.1). Assim, para cada sujeito, dezoito valores de CBF foram obtidos.

Figura 3.1: Territórios cerebrais irrigados pelas artérias cerebrais anterior (ACA, em verde), média (ACM, em vermelho) e posterior (ACP, em azul). Os sombreamentos indicam as subdivisões proximal, intermediária e distal baseadas em tempos de trânsito arteriais. Figura adaptada de Mutsaerts et al. (2015).

3.3.3 IRMf em repouso

As IRMs no estado de repouso foram utilizadas para avaliar a conectividade funcional entre regiões funcionais do cérebro. Abaixo estão os parâmetros de aquisição e o procedimento de análise dos dados.

3.3.3.1 Parâmetros para aquisição das imagens

As imagens funcionais, com o sujeito no estado de repouso, foram adquiridas utilizando uma sequência do tipo EPI e os seguintes parâmetros: TR = 2000 ms, TE = 30 ms, ângulo de flip = 90°, matriz = 128 x 128, FOV = 230 x 230 mm², número de fatias = 31, espessura da fatia = 4 mm, espaço entre fatias (*gap*) = 0,5 mm, número de repetições = 200.

3.3.3.2 Pré-processamento e análise das imagens

O pré-processamento das imagens obtidas durante o repouso foi realizado utilizando o SPM12, a fim de diminuir variações não associadas ao sinal de interesse e preparar os dados para o processamento. O procedimento incluiu as seguintes etapas: reorientação das imagens utilizando a comissura anterior como ponto de referência para a origem; correção temporal entre as fatias; realinhamento das imagens funcionais para correção de artefatos devido ao movimento da cabeça; correção entre imagens funcionais e anatômicas; segmentação das imagens anatômicas para demarcação de regiões de interesse e diferenciação de substâncias branca e cinzenta; normalização para o espaço padrão MNI; e suavização das imagens funcionais para aumentar a relação sinal-ruído, utilizando filtro gaussiano de 6 mm de largura à meia altura.

A conectividade funcional foi estudada pela análise baseada em ROIs, selecionadas pelo atlas do *software* CONN com 32 regiões funcionais que formam redes cerebrais de repouso: rede de modo padrão (córtex pré-frontal medial, regiões

parietais laterais esquerda e direita, córtex cingulado posterior), sensório-motor (porções laterais esquerda e direita, e superior), visual (áreas primária, ventral e dorsais esquerda e direita), saliência (córtex cingulado anterior, porções anteriores da ínsula esquerda e direita, córtices pré-frontais rostrais esquerdo e direito, giros supramarginais esquerdo e direito), atenta dorsal (áreas de visão frontal esquerda e direita, sulcos intraparietais esquerdo e direito), frontoparietal (córtices pré-frontais laterais esquerdo e direito, córtices parietais posteriores esquerdo e direito), linguagem (giros frontais inferiores esquerdo e direito, giros temporais superiores esquerdo e direito) e cerebelar (esquerda e direita).

Foram realizadas correlações da série temporal média de cada região com as séries temporais das outras regiões de interesse. Os valores de correlação de Pearson foram transformados em escores *z* pela transformação de Fisher e apresentados em uma matriz conectividade. As diferenças do padrão de correlações entre grupos foram feitas com um teste estatístico *t* para duas amostras bicaudal, corrigido para comparações múltiplas ($p\text{-FDR} = 0,05$).

Os valores individuais de correlação para os pares de ROI que apresentaram diferenças estatísticas significativas foram extraídos e correlacionados com os escores da avaliação neuropsicológica.

3.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no programa *Stata*, versão 15.1. E os dados deste estudo foram organizados descritivamente em tabelas e gráficos.

Os resultados brutos obtidos na avaliação neuropsicológica foram transformados em z-escore, de acordo com as normas dos instrumentos, tendo sido considerado idade e escolaridade. Assim, a obtenção dessa medida deu-se pela subtração do escore bruto do participante da média populacional, dividido pelo desvio padrão da mesma população (SPREEN E STRAUSS, 1998). Embora cada instrumento tenha o seu perfil de resultados, a utilização do z-escore permitiu padronização para posterior comparação.

As variáveis foram testadas para normalidade usando o teste de normalidade de *Shapiro-Wilk*. O teste t de amostras independentes e o teste *U de Mann-Whitney* foram utilizados para analisar as diferenças entre os grupos, em casos de variáveis contínuas. As diferenças hemisféricas na carga de WMH foram testadas pelo teste t pareado, ou *Wilcoxon*, dependendo da distribuição da variável. Por outro lado, variáveis categóricas foram analisadas pelos testes *Chi-squared* ou Teste Exato de *Fisher*.

Os coeficientes de correlação de *Pearson* ou *Spearman* foram utilizados para explorar associações entre escores cognitivos, volume de substância branca, carga de WMH, CBF e conectividade funcional. Por fim, significância foi definida por um $p \leq 0,05$.

3.5 Aspectos éticos

Inicialmente, foram solicitadas as autorizações para a coleta de dados na instituição participante. O Comitê de Ética em Pesquisa do HCFMRP aprovou o estudo e seu Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

Em seguida, a abordagem dos pacientes para convidá-los à participação da pesquisa ficou condicionada à indicação de estenose carotídea assintomática pela equipe médica. Assim, conforme resolução do Conselho Nacional de Saúde CNS-196/96, anterior ao início da avaliação, os participantes foram convidados a comporem a amostra do estudo e, em concordância, assinaram o TCLE, formalizando a participação na pesquisa, considerando a liberdade de escolha à participação espontânea no estudo. Em concordância, após a leitura, deu-se a assinatura do termo.

As informações coletadas e utilizadas neste estudo foram tratadas de forma anônima e mantidas em sigilo pelos pesquisadores, para preservação da identidade e confidencialidade dos sujeitos de pesquisa.

4 *Resultados*

Os resultados foram organizados em tabelas, gráficos e figuras, submetidos ao estudo estatístico e dispostos em análises de grupos, apresentados em três sessões: (1) análise de substância branca, compondo dados de volumetria e hiperintensidade de sinal; (2) estudo da perfusão cerebral, compreendendo resultados de fluxo sanguíneo cerebral; e (3) análises de conectividade funcional. Para cada sessão foram incluídos dados correspondentes à caracterização da amostra, incluindo dados sociodemográficos, presença de fatores de risco cardiovascular, presença e lateralização da estenose carotídea assintomática, bem como desempenho cognitivo.

4.1 Análise de substância branca por FLAIR

4.1.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle

Para as análises de substância branca, compuseram a amostra 13 participantes com estenose de carótida assintomática, com idade média de $69,4 \pm 7,6$ anos, sendo 53% do sexo feminino e 10 controles, com $64,7 \pm 5,5$ anos de idade, sendo 40% do sexo feminino. A média de escolaridade foi equivalente a $7,5 \pm 5,7$ anos para o grupo clínico e $10,8 \pm 6,2$ anos correspondente ao grupo controle. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes para idade, sexo e educação ($p = 0,111$; $p = 0,407$; $p = 0,130$, respectivamente) (Tabela 4.1).

Tabela 4.1. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes controles.

	Estenose (n=13)	Controles (n=10)	p-value
Idade (anos)	69,46 ± 7,60	64,70 ± 5,57	0,111
Feminino: masculino (feminino%)	7:6 (53,84)	4:6 (40)	0,407
Educação (anos)	7,53 ± 5,72	10,80 ± 6,23	0,130
Fatores de risco cardiovascular, n (%)			
Hipertensão arterial sistêmica	11 (84,62)	4 (40)	0,037
Diabetes mellitus	2 (15,38)	1 (10)	0,602
Dislipidemia	13 (100)	2 (20)	<0,001
Tabagismo corrente	8 (61,54)	0 (0)	0,003
Diagnóstico			
Lateralização de estenose (>70%/ n pacientes)	esquerda: 7; direita: 6	N/A	N/A
Estenose unilateral/ bilateral (n pacientes)	7:6	N/A	N/A
Avaliação Cognitiva			
Mini exame do estado mental – 1ª ed	-0,05 ± 0,30	-0,03 ± 0,43	0,640
Mini exame do estado mental – 2ª ed, VE	-0,17 ± 0,12	0,33 ± 0,28	0,093
<i>Velocidade de processamento</i>			
Codificação dígito-símbolo (MEEM-2)	6,23 ± 2,16	13,10 ± 5,76	0,004
<i>Percepção visuoespacial</i>			
Figura complexa de Rey (cópia)	-4,12 ± 3,65	-2,88 ± 5,61	0,236
<i>Memória</i>			
Figura complexa de Rey (memória imediata)	-2,00 ± 1,45	-0,85 ± 1,44	0,074
Figura complexa de Rey (memória tardia)	-0,39 ± 0,79	-0,08 ± 0,89	0,388
<i>Funções executivas</i>			
Stroop test 1	-4,26 ± 2,32	-3,12 ± 1,75	0,214
Stroop test 2	-3,86 ± 2,58	-2,14 ± 1,85	0,062
Stroop test 3	-1,52 ± 1,82	-0,40 ± 0,94	0,172
Stroop test 3 - erros	-9,04 ± 2,08	-3,98 ± 2,29	0,025
Trail making test (TMT) A	-3,73 ± 2,76	-1,46 ± 2,10	0,034
Trail making test (TMT) B	-2,36 ± 2,96	-0,90 ± 1,77	0,172
Fluência verbal fonêmica	-0,96 ± 0,56	-0,31 ± 0,95	0,040
Fluência verbal semântica	-1,55 ± 1,68	-0,62 ± 1,65	0,106
<i>Memória operacional</i>			
Span de dígitos (ordem direta)	-0,45 ± 0,96	0,89 ± 1,73	0,027
Span de dígitos (ordem inversa)	-0,47 ± 0,73	0,99 ± 1,14	0,014

VE, versão expandida; MEEM-2, Mini exame do estado mental, segunda edição.

Dos fatores de risco cardiovascular estabelecidos para este estudo, 84% dos participantes com estenose carotídea e 40% dos controles, apresentaram hipertensão arterial sistêmica (HAS) ($p = 0,037$). Dislipidemia esteve presente em 100% da amostra clínica, diferindo significativamente ($p < 0,001$) dos 20% em sujeitos controles. Analogamente a frequência do uso de tabaco também apresentou-se mais expressiva

entre sujeitos com estenose de carótida assintomática (61%, $p = 0,003$). Por fim, a frequência de diabetes *mellitus* foi discretamente maior em pacientes (15%).

Correspondente à lateralidade da estenose assintomática maior que 70%, sete participantes apresentaram estenose carotídea à esquerda, enquanto seis evidenciavam a mesma condição em carótida direita. Nesta amostra, sete sujeitos apresentaram placa aterosclerótica em carótida unilateralmente, e em seis casos a estenose assintomática bilateral foi encontrada, tendo sido respeitados os critérios de elegibilidade do estudo, ou seja, até 50% de luz do vaso comprometida em carótida contralateral.

Quanto ao desempenho cognitivo, comparado aos controles, sujeitos com estenose demonstraram baixo desempenho em todas as medidas de funções cognitivas utilizadas. Entretanto, diferenças significativas foram encontradas em: (1) velocidade de processamento, demonstrada pelo Teste de Codificação Dígito-Símbolo ($p = 0,004$); (2) memória operacional, avaliada pela composição *Span* de Dígitos, ordens direta e inversa ($p = 0,027$ e $p = 0,014$, respectivamente); e (3) funções executivas, representadas pelo desempenho no *Stroop test* 3 – erros ($p=0,025$), *Trail Making Test A* ($p = 0,034$) e fluência verbal fonêmica ($p = 0,040$).

O estudo de correlação entre desempenho cognitivo e características demográficas, no grupo controle, revelou associações entre idade e medida de velocidade de processamento ($r = -0,690$, $p = 0,027$). Anos de escolaridade estiveram positivamente relacionados ao desempenho no Teste de Codificação Dígito-Símbolo ($r = 0,637$, $p = 0,047$); no Teste de fluência verbal fonêmica ($r = 0,728$, $p = 0,016$) e semântica ($r = 0,829$, $p = 0,003$); bem como, no TMT A ($r = 0,632$, $p = 0,049$), no Teste

de figuras de Rey cópia ($r = 0,742$, $p = 0,013$) e memória tardia ($r = 0,774$, $p = 0,008$). Por fim, o sexo feminino esteve associado a piores desempenhos de memória operacional, mensurada pelo *Span* de dígitos, ordem direta ($r = -0,796$, $p = 0,005$) e inversa ($r = -0,824$, $p = 0,003$).

O resultado das análises de correlações entre dados demográficos e desempenho cognitivo, em participantes com estenose, indicou melhor desempenho associado a maior idade, em uma medida de função executivas, resultantes do *Stroop test 1* ($r = 0,613$, $p = 0,025$). Neste grupo escolaridade também esteve positivamente relacionada com melhor resposta cognitiva, em medida de velocidade de processamento, avaliada pelo Teste Codificação Dígito- Símbolo ($r = 0,554$, $p = 0,049$); e funções executivas, representadas pelo *Stroop test 1* ($r = 0,641$, $p = 0,018$) e 2 ($r = 0,670$, $p = 0,012$).

Ao associar dados clínicos à cognição, resultados do grupo controle demonstram correlações entre presença de HAS e comprometimento do desempenho cognitivo em fluência verbal semântica e memória visual tardia ($r = -0,6396$, $p = 0,0464$). Percepção visuoespacial ($r = -0,628$, $p = 0,051$) e, novamente, memória visual tardia ($r = -0,696$, $p = 0,025$) apresentaram escores reduzidos relacionados à dislipidemia. Não foram identificadas correlações significativas quando testadas para o grupo clínico.

Achados do estudo de correlação entre lateralidade da estenose e desempenho cognitivo, indicaram associação entre a presença da placa aterosclerótica ($> 70\%$), em artéria carótida direita, e desempenho reduzido em medida de velocidade de processamento ($r = -0,709$, $p = 0,006$).

4.1.2 Achados de neuroimagem: volume de substância branca (SB) e carga de lesão em SB

Dados da avaliação do volume de substância branca, extraídos de imagem FLAIR, indicaram diferenças significativas entre os grupos clínico e controle, apontando reduções expressivas do volume total de SB ($p = 0,005$) e de volume de SB em hemisférios direito ($p = 0,005$) e esquerdo ($p = 0,004$) em sujeitos com estenose carotídea, quando comparados a controles (Tabela 4.2).

Tabela 4.2. Volume de substância branca e carga de lesão (hiperintensidade de sinal) em substância branca mensurada por FLAIR, em pacientes com estenose carotídea assintomática e controles.

	Estenose (n=13)	Controles (n=10)	p-value
	M (dp)	M (dp)	
Volume Substância Branca (mm³)			
Hemisfério direito	206622,5 (32106,4)	245743,40 (27465,14)	0.0056
Hemisfério esquerdo	202750,8 (32122,4)	242051,90 (25333,17)	0.0045
Volume Total de Substância Branca (mm³)			
	409373,3 (64000,0)	487795,30 (52623,81)	0.0050
Hiperintensidade de Sinal em Substância Branca (volume, mm³)			
Hemisfério direito	10477,2 (7579,10)	4601,00 (2757,58)	0.0110
Hemisfério esquerdo	9292,23 (7067,04)	3966,20 (2229,28)	0.0256
Carga Global de HSB (volume, mm³)			
	19769,46 (14480,17)	8567,20 (4836,96)	0.0156

HSB, hiperintensidade de sinal de substância branca.

Hiperintensidade de sinal em substância branca foi encontrada em ambas as amostras. Entretanto, participantes com estenose de carótida assintomática (ECa) apresentaram a média do volume de carga de lesão global 2,3 vezes maior que o grupo controle. O mesmo efeito foi demonstrado quando analisados hemisférios direitos e esquerdos, onde lesões de substância branca foram 2,2 e 2,3 vezes maiores em pacientes, respectivamente. Deste modo, diferenças significativas foram evidenciadas nas três medidas de hiperintensidade de sinal de substância branca, representadas pela Figura 4.1.

Figura 4.1. Diferenças significativas entre grupos para o volume de hiperintensidade de sinal de substância branca (Painel A) e carga de lesão em substância branca, estratificada por hemisfério cerebral (Painel B).

Prosseguindo com a apresentação de dados correspondentes à hiperintensidade de sinal em SB, a Figura 4.2 representa a segmentação da carga de lesão global extraída de imagens FLAIR de dois sujeitos pareados em idade, sexo (feminino) e presença de hipertensão arterial sistêmica, cada um selecionado de um grupo.

Figura 4.2. Segmentação de hiperintensidade de sinal em substância branca mensurada por FLAIR, em paciente com estenose de carótida assintomática e participante controle. Em ambos os casos, HSB foi demarcada em verde, com utilização de um algoritmo automático.

Este estudo também explorou relações de características demográficas e fatores de risco cardiovascular com volume total de substância branca e carga de hiperintensidade de sinal em SB, detectados em ressonância magnética, em ambos os grupos. Neste contexto, a análise de dados de participantes controles indicou forte associação de idade com carga de lesão em SB ($r = 0,648$, $p = 0,042$). Ainda, para o mesmo grupo, sujeitos do sexo masculino apresentaram maior volume de substância branca ($r = -0,639$, $p = 0,046$).

Diferentemente do grupo controle, em sujeitos com estenose carotídea assintomática, não foram encontradas relações entre idade e volume global de hiperintensidade de sinal em substância branca ($r = -0,129$, $p = 0,672$). Entretanto a mesma variável (idade) associou-se negativamente ao volume de SB, demonstrando redução estrutural, em participantes com estenose que apresentaram maior idade ($r = -0,549$, $p = 0,052$). Finalmente, maior volume de lesão também esteve associado ao sexo masculino neste grupo ($r = -0,577$, $p = 0,038$).

Nenhuma relação estatisticamente significativa foi encontrada quando analisados fatores de risco cardiovascular e medidas globais do volume de substância branca, ou carga de lesão, independentemente do grupo de participantes.

4.1.3 Correlações entre desempenho cognitivo, volume total de substância branca e carga de lesão global

As análises de associações entre as medidas de substância branca obtidas de imagens FLAIR e desempenho cognitivo foram realizadas por grupos. Neste íterim, em participantes que compuseram o grupo controle, o volume total de substância branca esteve associado ao desempenho cognitivo global, aferido pelos testes MEEM-1 ($r = 0,702$, $p = 0,023$) e MEEM-2 ($r = 0,668$; $p = 0,034$); e à medida de memória operacional, obtida pelo Teste *Span* de Dígitos - ordem inversa ($r = 0,762$, $p = 0,010$).

Correlação significativa, entre cognição global, aferida pelo MEEM-2 e volume total de substância branca, também foi encontrada em sujeitos com estenose assintomática de artéria carótida interna ($r = 0,608$, $p = 0,027$).

Fortes e moderadas relações foram identificadas quando analisados volume total de hiperintensidade de sinal em substância branca e desempenho cognitivo, no grupo controle. Deste modo, carga de lesão esteve negativamente associada a: (1) medida cognitiva global, avaliada pelo MEEM-2, versão expandida ($r = -0,741$, $p = -0,014$); (2) velocidade de processamento, representada pelo Teste de Codificação Dígitos-Símbolo ($r = -0,741$, $p = 0,014$); (3) funções executivas, avaliadas pela

composição do *Stroop test* 2 ($r = -0,847$, $p = 0,002$); *Trail Making Test* A ($r = -0,655$, $p = 0,039$) e B ($r = -0,827$, $p = 0,003$); (4) percepção visuoespacial, medida pelo Teste de figura de Rey – cópia ($r = -0,837$, $p = 0,002$); e (5) memória visual, avaliada pelo Teste de figura de Rey – memória tardia ($r = -0,656$, $p = 0,039$).

Contrariamente ao evidenciado no grupo controle, nenhum achado significativo foi identificado, quando observadas relações entre carga de lesão e cognição, no grupo clínico.

As figuras 4.3 e 4.4 ilustram achados de participantes com estenose carotídea e controles, correspondentes às correlações de hiperintensidade de sinal em substância branca e velocidade de processamento, bem como para medida de desempenho cognitivo global, fornecida pelo MEEM-2.

Figura 4.3: Correlação entre carga de lesão em substância branca e velocidade de processamento, obtida pelo desempenho no Teste de codificação dígito-símbolos. HSB, hiperintensidade de substância branca.

Figura 4.4: Correlação entre carga de lesão em substância branca e desempenho no mini exame do estado mental 1. HSB, hiperintensidade de substância branca.

Resultados da análise multivariada por regressão linear, incluindo a amostra total deste estudo, indicaram que presença de estenose e volume de substância branca estiveram independentemente associados ao escore do MEEM-1 ($R^2 = 0,53$) (Tabela 4.3).

Tabela 4.3. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de desempenho cognitivo.

Variável	Coeficiente (IC 95%)	<i>p-value</i>
Presença de ECa	1,558305 (0,530948; 2,585646)	0,005
Volume de Substância Branca	0,000015 (8,220006; 0,000217)	< 0,001
Hiperintensidade de SB	-0,000127 (-0,000478; 0,000224)	0,478

IC, intervalo de confiança; HSB, hiperintensidade de sinal de substância branca.

A observação da frequência de comprometimento cognitivo vascular nesta amostra, obtida pelo cálculo da média do desempenho nos domínios cognitivos

avaliados, revelou que 84,6% de participantes com estenose de carótida assintomática apresentaram comprometimento cognitivo vascular (Figura 4.5). Tal perfil cognitivo esteve associado a expressividade da carga de lesão em substância branca, em participantes com estenose carotídea assintomática ($r = -0,602$, $p = 0,029$) e controles ($r = -0,794$, $p = 0,006$).

Figura 4.5: Correlação entre carga de lesão em substância branca e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente a cognição. HSB, hiperintensidade de substância branca; CCV, comprometimento cognitivo vascular.

4.1.4 Análise de preditores independentes de hiperintensidade de sinal em substância branca global

Com a finalidade de identificar preditores independentes de carga de lesão em substância branca, foi realizada uma análise de regressão linear múltipla, considerando a amostra completa, em que o modelo de regressão ajustado incluiu as variáveis idade e presença de estenose carotídea (Tabela 4.4). Os achados apontaram presença de estenose assintomática como preditor de hiperintensidade de sinal em substância branca ($R^2 = 0,20$).

Tabela 4.4. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de hiperintensidade de sinal em substância branca.

Variável	Coeficiente (IC 95%)	<i>p-value</i>
Idade	3,1107 (-777,5764; 783,798)	0,993
Presença de ECa	11187,45 (289,1867; 22085,71)	0,045

IC, intervalo de confiança; Eca, estenose de carótida assintomática.

4.1.5 Volume de substância branca e carga de lesão: análise de diferenças hemisféricas, em estenose de carótida assintomática

O presente estudo explorou diferenças hemisféricas do volume de substância branca e de carga de lesão, em participantes com estenose, considerando análises entre hemisférios direito e esquerdo, bem como ipsi e contralateral à estenose carotídea.

Neste âmbito, os resultados da análise inter-hemisférica do volume de substância branca, demonstraram diferenças significativas entre hemisfério direito e esquerdo ($p = 0,006$). Entretanto a relevância da diferença não se repetiu quando analisadas cargas de lesão entre tais hemisférios (Tabela 4.5).

Tabela 4.5. Volume de substância branca e carga de hiperintensidade de sinal em substância branca estratificada por hemisférios, em sujeitos com estenose carotídea assintomática.

	Hemisfério (n=13)		<i>p-value</i>	Hemisfério em relação à estenose (n=13)		<i>p-value</i>
	Direito (M, dp)	Esquerdo (M, dp)		Ipsilateral (M, dp)	Contralateral (M, dp)	
Volume de Substância Branca (mm ³)	206622.5 (32106.43)	202750.8 (32122.42)	0.0062	203744.3 (32018.08)	205629.0 (32217.07)	0.2398
Hiperintensidade de SB (volume, mm ³)	10477.23 (7579.10)	9292.23 (7067.04)	0.0828	10689.15 (7615.16)	9080.30 (6982.39)	0.0192
Razão da carga de HSB pelo volume de SB	0.0450441 (0.0312103)	0.0519491 (0.0364083)	0.0591	0.530926 (0.360334)	0.445914 (0.315909)	0.0150

SB, substância branca; HSB, hiperintensidade de sinal em substância branca.

Ao observar o volume de substância branca dos hemisféricas em relação à estenose, não foram encontradas diferenças entre hemisférios ipsi e contralateral ($p = 0,239$). Contudo, o volume de hiperintensidade de sinal de substância branca foi significativamente maior no hemisfério ipsilateral à estenose de carótida assintomática ($p = 0,019$), conforme demonstrado na Figura 4.6.

Figura 4.6. Diferenças do volume de substância branca (Painel A) e de hiperintensidade de sinal em substância branca (Painel B) estratificada por hemisfério ipsi e contralateral à estenose de carótida assintomática.

Assim, com intuito de reduzir a variabilidade do volume de substância branca entre sujeitos, este estudo analisou a proporção de carga de lesão por hemisférios ipsi e contralateral à estenose, obtida pela razão da carga de hiperintensidade de sinal em substância branca e volume de SB, conforme demonstrado na Tabela 4.5. E, ainda assim, o hemisfério ipsilateral à estenose apresentou expressiva carga de lesão de substância branca, em relação ao hemisfério contralateral ($p = 0,015$).

4.2 Análise de perfusão sanguínea cerebral por pCASL

4.2.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle

Estudos de perfusão cerebral foram realizados em 12 participantes com estenose assintomática de artéria carótida interna, com idade média de $70,16 \pm 7,48$ anos, predominantemente do sexo feminino (58,33%), apresentando em média 7,83 anos de escolaridade. Para a composição do grupo controle foram incluídos dez sujeitos, com média de $64,80 \pm 5,37$ anos de idade. Não foram identificadas diferenças estatísticas de idade, escolaridade ou sexo, entre os grupos (Tabela 4.6).

Correspondente às características clínicas, a estenose carotídea assintomática, maior que 70%, esteve presente na artéria carótida esquerda, em 7 dos 12 casos. Enquanto estenose contralateral ($< 50\%$) foi identificada em seis participantes. Nesta amostra, a frequência de fatores de risco cardiovascular, tais

como: HAS (83,33%), dislipidemia (100%) e tabagismo (58,33%), foi significativamente maior em participantes com estenose ($p < 0,05$).

Tabela 4.6. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose carotídea assintomática e participantes controles.

	Estenose (n= 12)	Controles (n= 10)	p value
Idade (anos)	70,16±7,48	64,80±5,37	0,072
Feminino: Masculino (feminino%)	7:5 (58,33)	4:6 (40)	0,402
Educação (anos)	7,83±5,87	10,80±6,23	0,264
Fatores de risco cardiovascular, n(%)			
Hipertensão arterial sistêmica	10 (83,33)	4 (40)	0,036
Diabetes Mellitus	2 (16,67)	1 (10)	0,657
Dislipidemia	12 (100)	2 (20)	<0,001
Tabagismo corrente	7 (58,33)	0 (0)	0,001
Diagnóstico			
Lateralização da estenose (>70%/ n pacientes)	esquerda:7; direita: 5	N/A	N/A
Estenose unilateral/ bilateral (n pacientes)	6: 6	N/A	N/A
Avaliação Cognitiva			
Mini exame do estado mental – 1ed	-0,24±0,44	-0,15±0,30	0,869
Mini exame do estado mental – 2ed, VE	-0,19±0,47	0,32±0,89	0,095
<i>Velocidade de processamento</i>			
Codificação dígito- símbolo (MEEM-2)	6,25±2,26	12,08±5,37	0,005
<i>Percepção visuoespacial</i>			
Figura complexa de Rey (cópia)	-4,00±3,78	-3,33±5,38	0,389
<i>Memória</i>			
Figura complexa de Rey (memória imediata)	-1,99±1,52	-0,99±1,39	0,127
Figura complexa de Rey (memória tardia)	-0,37±0,82	-0,05±0,89	0,399
<i>Funções executivas</i>			
Stroop test 1	-3,89±1,99	-3,12±1,75	0,321
Stroop test 2	-3,75±2,67	-2,11±1,89	0,086
Stroop test 3	-1,38±1,83	-0,29±0,87	0,166
Trail making test (TMT) A	-3,42±2,64	-1,32±2,20	0,059
Trail making test (TMT) B	-2,09±2,92	-1,11±1,69	0,530
Fluência verbal fonêmica	-0,92±0,57	-0,22±1,02	0,055
Fluência verbal semântica	-1,11±0,61	-0,73±1,60	0,456
<i>Memória operacional</i>			
Span de dígitos (ordem direta)	-0,44±1,00	1,00±1,69	0,022
Span de dígitos (ordem inversa)	-0,06±0,76	0,88±1,22	0,037

VE, versão expandida; MEEM – 2, Mini Exame do Estado Mental, segunda edição.

A análise das funções cognitivas permitiu observar que sujeitos com estenose de carótida apresentaram desempenhos inferiores aos participantes do grupo controle, em todos os testes que compuseram a avaliação neuropsicológica (Tabela 4.6). Entretanto diferenças robustas estiveram presentes quando avaliadas a memória operacional, pelos testes *Span* de Dígitos, ordem direta ($p = 0,022$) e inversa ($p = 0,037$); tal qual a velocidade de processamento ($p < 0,01$). Além disso, diferenças marginais foram encontradas no desempenho das funções executivas, notadas pelo baixo desempenho de sujeitos com estenose no Teste de fluência verbal fonêmica ($p = 0,055$) e no TMT B ($p = 0,059$).

As análises de correlações entre características demográficas e desempenho cognitivo em participantes controles, revelou associações entre escolaridade e medidas de velocidade de processamento ($r = 0,682$, $p = 0,029$); funções executivas – fluência verbal fonêmica ($r = 0,681$, $p = 0,029$) e fluência verbal semântica ($r = 0,851$, $p = 0,001$); percepção visuoespacial ($r = 0,711$, $p = 0,021$); e memória visual tardia, avaliada pelo Teste figura complexa de Rey ($r = 0,666$, $p = 0,035$). Ainda neste grupo, os melhores desempenhos em memória operacional – *Span* de Dígitos ordem direta ($r = -0,665$, $p = 0,035$) e inversa ($r = -0,894$, $p < 0,001$), e percepção visuoespacial ($r = -0,798$, $p = 0,005$), estiveram associadas ao sexo masculino.

Diferentemente, em sujeitos com estenose de carótida, foi observada apenas uma correlação significativa, representada por escolaridade e desempenho no *Stroop test 2* ($r = 0,588$, $p = 0,044$), que compõe a avaliação do funcionamento executivo.

Quando exploradas relações entre fatores de risco cardiovascular e características demográficas, nenhum achado estatisticamente significativo foi observado, em ambos os grupos. Embora, quando associado às funções cognitivas, foi identificada correlação entre HAS e baixo desempenho em memória visual tardia, avaliada pelo Teste de figura complexa de Rey ($r = -0,639$, $p = 0,046$), no grupo clínico.

Finalmente, a lateralidade da estenose carotídea comprometendo mais do que 70% da luz do vaso, em artéria direita, esteve associada ao pior desempenho de velocidade de processamento, avaliada pelo teste de Codificação dígito-símbolo ($r = -0,717$, $p = 0,008$).

4.2.2 Quantificação do fluxo sanguíneo cerebral em sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle

A Tabela 4.7 concentra os achados correspondentes ao fluxo sanguíneo cerebral por hemisfério, nos territórios de artéria cerebral anterior, média e posterior, em segmentos proximal, intermediário e distal, de sujeitos com estenose assintomática de ACI e voluntários controles. Os valores de CBF para cada ROI foi normalizado para o valor da substância cinzenta total para diminuir a variabilidade entre sujeitos. Não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes do CBF em qualquer segmento da artéria cerebral anterior, média e posterior, quando comparados os hemisférios cerebrais nos grupos clínico e controle.

Do mais, mesmo quando observado o valor total de CBF em substância cinzenta não foram identificadas diferenças entre os grupos, embora a perfusão

cerebral tenha sido reduzida em sujeitos com estenose carotídea (pacientes: $33,9 \pm 3,6$ mL/100g/min e controles: $38,9 \pm 2,5$ mL/100g/min, $p = 0,286$).

Tabela 4.7. Fluxo sanguíneo normalizado nos territórios das artérias cerebrais anterior, média e posterior, mensurado em sujeitos com estenose carotídea assintomática e participantes do grupo controle.

	Estenose (n=12)	Controles (n=10)	p-value
	M (dp)	M (dp)	
Artéria Cerebral Anterior			
	Proximal		
Hemisfério direito	1,026 (0,098)	1,036 (0,630)	0,552
Hemisfério esquerdo	1,004 (0,075)	0,963 (0,059)	0,184
	Intermediária		
Hemisfério direito	1,209 (0,121)	1,192 (0,049)	0,262
Hemisfério esquerdo	1,180 (0,079)	1,140 (0,064)	0,219
	Distal		
Hemisfério direito	1,144 (0,165)	1,150 (0,098)	0,914
Hemisfério esquerdo	1,161 (0,097)	1,136 (0,074)	0,503
Artéria Cerebral Média			
	Proximal		
Hemisfério direito	0,924 (0,176)	0,967 (0,102)	0,504
Hemisfério esquerdo	0,887 (0,192)	0,871 (0,079)	0,692
	Intermediária		
Hemisfério direito	1,056 (0,178)	1,086 (0,090)	0,468
Hemisfério esquerdo	1,001 (0,170)	0,948 (0,053)	0,391
	Distal		
Hemisfério direito	1,002 (0,204)	1,059 (0,120)	0,947
Hemisfério esquerdo	0,972 (0,134)	0,961 (0,120)	0,856
Artéria Cerebral Posterior			
	Proximal		
Hemisfério direito	0,993(0,217)	0,954 (0,130)	0,628
Hemisfério esquerdo	0,927 (0,147)	0,910 (0,153)	0,800
	Intermediária		
Hemisfério direito	1,100 (0,220)	1,067 (0,159)	0,597
Hemisfério esquerdo	1,007 (0,138)	0,979 (0,205)	0,705
	Distal		
Hemisfério direito	1,136 (0,271)	1,143 (0,092)	0,946
Hemisfério esquerdo	1,050 (0,203)	1,025 (0,239)	0,796

M, média; dp, desvio padrão.

Análises de perfusão intragrupo demonstraram assimetria hemisférica no grupo controle, indicando maior CBF em territórios de artérias cerebrais em hemisfério

direito. Neste contexto, as diferenças foram significantes em artéria cerebral anterior proximal e intermediária ($p < 0,001$), bem como nos três segmentos da artéria cerebral média ($p = 0,013$, $p = 0,002$ e $p = 0,046$, para proximal, intermediária e distal, respectivamente), tal qual em ACP intermediária ($p = 0,022$) (Figura 4.7).

Figura 4.7. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais, em participantes controles. CBF, do inglês *cerebral blood flow*; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior; FSC, fluxo sanguíneo cerebral. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Resultados da mesma observação, agora direcionados a estenose carotídea, também demonstraram assimetria hemisférica, onde o CBF esteve significativamente maior em hemisfério direito, nos segmentos proximal ($p = 0,034$) e intermediário da artéria cerebral anterior ($p = 0,034$), bem como em território da ACP intermediária ($p = 0,049$). Contudo, não foram identificadas diferenças significativas, interhemisféricas em artéria cerebral média (Figura 4.8).

Figura 4.8. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais, em sujeitos com estenose de carótida assintomática. CBF, do inglês *cerebral blood flow*; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior; FSC, fluxo sanguíneo cerebral. * $p < 0,05$.

4.2.3 Fluxo sanguíneo cerebral em território ipsi e contralateral à estenose de carótida

Quando estratificados por sítio de estenose, ou seja, ACI direita ou esquerda, para análises de CBF ipsi e contralateral, sujeitos com estenose à esquerda apresentaram fluxo sanguíneo cerebral reduzido em hemisfério ipsilateral, com diferenças estatisticamente significantes em ACA proximal ($p = 0,006$) e distal ($p = 0,010$), bem como em segmentos da ACP, ou seja, proximal ($p = 0,005$), intermediário ($p = 0,011$) e distal ($p = 0,043$) (Figura 4.9).

Figura 4.9. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais ipsilateral e contralateral, em sujeitos com estenose de carótida assintomática esquerda. CBF, do inglês *cerebral blood flow*; ACA, artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior; FSC, fluxo sanguíneo cerebral. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Não foram encontradas diferenças significativas entre os hemisférios ipsi e contralateral, ao analisar CBF de sujeitos com estenose em carótida direita. Entretanto, um discreto aumento de fluxo sanguíneo nos segmentos proximal e intermediário da artéria cerebral média, ipsilateral à estenose, pode ser observado na Figura 4.10.

Figura 4.10. Diferenças de fluxo sanguíneo cerebral entre hemisférios cerebrais ipsilateral e contralateral, em sujeitos com estenose de carótida assintomática direita. CBF, do inglês *cerebral blood flow*; ACA artéria cerebral anterior; ACM, artéria cerebral média; ACP, artéria cerebral posterior.

Embora não tenha sido o foco de análises, dado essa condição, a observação de casos individuais especificamente nessa amostra indicou que, em três sujeitos, o aumento de CBF em hemisfério ipsilateral também esteve associado ao aumento de hiperintensidade de sinal em substância branca. Nos demais casos, valores reduzidos de CBF ocorreram nos hemisférios ipsilaterais, onde a carga de lesão de substância branca esteve mais expressiva.

A Figura 4.11 demonstra mapas de CBF de sujeitos representativos para seus grupos: controle, paciente com estenose de ACI esquerda e paciente com estenose de ACI direita, exemplificando o observado nos gráficos anteriores.

Figura 4.11. Mapas quantitativos de fluxo sanguíneo cerebral (CBF) em sujeitos representativos dos grupos avaliados: (A) controle, (B) pacientes com estenose de artéria carótida interna (ACI) esquerda e (C) paciente com estenose de ACI direita. As barras de cores representam os valores de CBF em mL/100 g de tecido/min.

4.2.4 Preditores independentes de CBF total em substância cinzenta

A análise de regressão linear múltipla, incluindo toda a amostra, demonstrou que presença de estenose carotídea e a lateralidade correspondente ao hemisfério direito, foram preditores independentes de CBF total ($R^2 = 0,40$) (Tabela 4.8).

Tabela 4.8. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de fluxo sanguíneo cerebral em substância cinzenta.

Variável	Coeficiente (IC 95%)	<i>p-value</i>
Presença de ECa	19,35776 (2,294314; 36,42121)	0,028
Lateralidade estenose	-17,22874 (-27,93179; -6,52569)	0,003

IC, intervalo de confiança; Eca, estenose de carótida assintomática.

4.2.5 Correlações entre desempenho cognitivo e fluxo sanguíneo cerebral

Análises de correlações entre desempenho cognitivo e perfusão cerebral deixa clara a associação entre CBF total e as medidas de desempenho cognitivo global ($r = 0,441$, $p = 0,039$) e velocidade de processamento da informação ($r = 0,546$, $p = 0,008$) (Figuras 4.12 e 4.13, respectivamente).

Figura 4.12. Correlações entre fluxo sanguíneo cerebral (CBF) e cognição global, correspondente aos resultados do MEEM-2.

Figura 4.13. Correlações entre fluxo sanguíneo cerebral (CBF) e velocidade de processamento, obtida pelo desempenho no Teste de codificação dígito-símbolos.

Correlações significativas entre desempenho cognitivo e CBF, considerando análise grupal, tendo estratificado a estenose por lateralidade de ACI acometida (esquerda e direita), foram observadas (Tabela 4.9).

Observações no grupo com estenose em ACI esquerda evidenciaram que a menor perfusão sanguínea nos territórios das artérias cerebrais anteriores, em ambos os hemisférios, esteve associada com déficits mais expressivos da cognição global; enquanto maiores valores de CBF em ACM proximal direita e em circulação posterior, demonstraram relações com melhor desempenho cognitivo ($p < 0,05$).

Ainda em casos de estenose em ACI esquerda, as melhores respostas de percepção visuoespacial estiveram correlacionadas com maior perfusão em ACM distal direita. Adicionalmente, a redução de CBF em ACP proximal e intermediária, bilateralmente, estiveram associados ao pior desempenho deste domínio cognitivo.

Tabela 4.9. Correlações significativas entre desempenho cognitivo e fluxo sanguíneo cerebral em artéria cerebral anterior, média e posterior, nos segmentos proximal, intermediário e distal, em estenose carotídea direita, esquerda e participantes controles.

Domínio cognitivo	Instrumento	r	Artéria cerebral	Hemisfério	p-value
Cognição global	MEEM-2	Estenose em ACI esquerda			
		0,876 ^a	Anterior intermediária	D	0,009
		0,784 ^a	Anterior intermediária	E	0,036
		0,843 ^a	Anterior distal	D	0,017
		0,874 ^a	Anterior distal	E	0,010
		0,838	Média proximal	D	0,018
		0,803	Posterior proximal	D	0,029
		0,757	Posterior proximal	E	0,048
		Estenose em ACI direita			
		0,972	Anterior proximal	D	0,005
Velocidade de processamento	Codificação dígito-símbolo	Estenose em ACI direita			
		0,929 ^a	Anterior intermediária	E	0,022
		0,896	Média intermediária	D	0,039
		0,989 ^a	Média distal	E	0,001
		0,908	Posterior proximal	D	0,032
Percepção visuoespacial	Figura complexa de Rey (cópia)	Estenose em ACI esquerda			
		0,870	Média distal	D	0,010
		0,784 ^a	Posterior proximal	E	0,036
		0,765 ^a	Posterior intermediária	E	0,045
Memória visual	Figura complexa de Rey (MI)	Controle			
		0,682	Anterior intermediária	E	0,029
Funções executivas	Stroop test 3	Estenose em ACI esquerda			
		0,854	Anterior proximal	E	0,014
	Trail making test B	Controle			
		0,765	Anterior intermediária	E	0,009
		0,670	Anterior distal	E	0,043
		0,715	Média distal	E	0,020
		0,671	Média intermediária	E	0,033
	Fluência verbal fonêmica	Estenose em ACI direita			
		0,971	Posterior proximal	E	0,005
	Fluência verbal semântica	Estenose em ACI esquerda			
		0,868	Posterior intermediária	E	0,011
		Controle			
		0,653 ^a	Média proximal	E	0,040

<i>Span</i> de dígitos (ordem direta)				
Controle				
0,698 ^a	Anterior proximal	D		0,024
Estenose em ACI direita				
0,919 ^a	Anterior distal	E		0,026

MEEM, Mini exame do estado mental; ACI, artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo; MI, memória imediata. ^a Indica correlação negativa (maior déficit cognitivo, menor perfusão).

De outro modo, quando analisadas relações entre funções executivas e biomarcador de perfusão cerebral, em sujeitos com estenose à esquerda, identificamos melhores respostas no *Stroop test* 3 correlatas à maior perfusão em ACA proximal esquerda, ou seja ipsilateral a estenose. Do mesmo modo, o aumento de CBF na ACP intermediária esquerda refletiu melhor desempenho em fluência verbal semântica.

Quando observado o grupo de participantes com estenose em ACI direita, achados de análises de correlação entre velocidade de processamento e CBF, indicaram que o maior comprometimento do desempenho no teste, esteve associado a reduções de CBF em artéria cerebral anterior esquerda. Além disso, aumento de perfusão em artéria cerebral média e posterior direita esteve correlacionada ao melhor desempenho em velocidade de processamento; enquanto o fluxo reduzido em território distal da ACM esquerda foi associado à expressiva latência do processamento da informação.

Do mais, este estudo encontrou associações positivas entre funções executivas, representadas pelo teste de fluência verbal fonêmica e aumento de CBF em ACP esquerda, para estenoses a direita e a esquerda. E finalmente, a redução do fluxo em ACA distal esquerda, esteve associado ao pior desempenho em memória operacional, em pacientes com estenose de ACI direita.

Ao explorar correlações no grupo controle, os valores obtidos indicam aumento de fluxo em ACA esquerda, associado aos maiores escores em memória visual imediata. Ainda nesta amostra, o aumento do CBF em territórios de circulação anterior, irrigados pela ACA e ACM, em hemisfério esquerdo, esteve relacionado ao melhor desempenho das funções executivas, representadas pelo TMT B. Além disso, maiores comprometimentos da memória operacional e da fluência verbal semântica, no grupo clínico, estiveram correlacionados a diminuição de CBF em território de ACA direita e ACM esquerda, respectivamente.

Adicionalmente, a observação do perfil cognitivo indicou alta frequência de comprometimento cognitivo vascular, em participantes com estenose assintomática (83,3%). E, embora correlações entre CBF total e perfil cognitivo não tenham se mostrado significativas, o gráfico abaixo ilustra uma tendência a melhora do padrão cognitivo, associado ao aumento do fluxo sanguíneo cerebral (Figura 4.14).

Figura 4.14. Correlação entre CBF total e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente a cognição. HSB, hiperintensidade de substância branca; CCV, comprometimento cognitivo vascular; Eca, estenose de carótida assintomática.

4.3 Conectividade funcional

4.3.1 Características demográficas, clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes do grupo controle

O estudo de conectividade funcional incluiu 12 sujeitos com estenose assintomática de ACI, com média de idade equivalente a $70,1 \pm 7,5$ anos, sendo 59,8% do sexo feminino; e 12 participantes controles com média de $66,3 \pm 4,9$ anos de idade, tendo sido 50% do sexo feminino. Diferenças significativas de idade e escolaridade não estiveram presentes entre os grupos (Tabela 4.10).

Tabela 4.10. Dados demográficos, características clínicas e desempenho cognitivo de sujeitos com estenose de carótida assintomática e participantes controles.

	Estenose (n=12)	Controles (n=12)	p-value
Idade (anos)	70,08 ± 7,51	66,33 ± 4,90	0,161
Feminino: masculino (feminino%)	7:5 (59,82)	6:6 (50)	0,697
Educação (anos)	7,25 ± 5,87	10,80 ± 6,23	0,133
Fatores de risco cardiovascular, n (%)			
Hipertensão arterial sistêmica	10 (83,33)	4 (33,33)	0,011
Diabetes mellitus	3 (25)	2 (16,67)	0,622
Dislipidemia	12 (100)	3 (25)	< 0,001
Tabagismo corrente	6 (50)	0 (0)	0,005
Diagnóstico			
Lateralização de estenose (>70%/ n pacientes)	esquerda: 6; direita: 6	N/A	N/A
Estenose unilateral/ bilateral (n pacientes)	7:5	N/A	N/A
Avaliação Cognitiva			
Mini exame do estado mental – 1ª ed	-0,21 ± 1,11	0,01 ± 1,41	0,671
Mini exame do estado mental – 2ª ed, VE	-0,30 ± 0,60	0,61 ± 1,05	0,015
<i>Velocidade de processamento</i>			
Codificação dígito-símbolo (MEEM-2)	5,58 ± 2,53	11,91 ± 5,16	< 0,001
<i>Percepção visuoespacial</i>			
Figura complexa de Rey (cópia)	-3,82 ± 3,70	-3,05 ± 5,06	0,401
<i>Memória</i>			
Figura complexa de Rey (memória imediata)	-1,98 ± 1,52	-1,08 ± 1,33	0,139
Figura complexa de Rey (memória tardia)	-0,39 ± 0,83	0,04 ± 0,91	0,242
<i>Funções executivas</i>			
Stroop test 1	-4,29 ± 2,12	-3,09 ± 1,57	0,132
Stroop test 2	-4,04 ± 2,58	-2,06 ± 1,75	0,032
Stroop test 3	-1,33 ± 1,81	-0,12 ± 0,89	0,088
Stroop test 3 (erros)	-8,09 ± 7,13	-3,54 ± 6,67	0,017
Trail making test (TMT) A	-3,63 ± 2,55	-1,37 ± 1,96	0,024
Trail making test (TMT) B	-2,14 ± 2,89	-0,99 ± 1,55	0,386
Fluência verbal fonêmica	-0,99 ± 0,51	1,87 ± 7,65	0,030
Fluência verbal semântica	-1,08 ± 0,58	0,50 ± 4,78	0,193
<i>Memória operacional</i>			
Span de dígitos (ordem direta)	-0,44 ± 1,00	0,56 ± 1,71	0,090
Span de dígitos (ordem inversa)	-0,20 ± 0,63	0,76 ± 1,14	0,017

VE, versão expandida; MEEM-2, Mini exame do estado mental, segunda edição.

Nesta amostra, assim como nos estudos anteriores com substância branca e perfusão, sujeitos com estenose apresentaram maior frequência de HAS ($p = 0,011$), dislipidemia ($p < 0,001$) e tabagismo corrente ($p < 0,01$), quando comparados a controles.

Quanto à lateralidade da estenose assintomática, o número de participantes foi o mesmo para artérias carótidas internas direita e esquerda (6). E presença de estenose contralateral (< 50%) ocorreu em sete sujeitos.

Resultados obtidos da análise de grupos demonstraram que participantes com estenose carotídea, tiveram pior desempenho em todos os domínios cognitivos avaliados. Neste contexto, sobressaem diferenças significantes em medida de cognição global, avaliada pela versão expandida do MEEM-2 ($p = 0,015$); velocidade de processamento ($p < 0,001$); funções executivas, quando investigadas pelo *Stroop test 2*, *Stroop test 3* (variável erros), TMT A e fluência verbal fonêmica ($p < 0,05$); assim como em memória operacional ($p = 0,017$).

Análises de correlação entre desempenho cognitivo e dados demográficos, no grupo controle, evidenciaram associações entre idade e velocidade de processamento, onde sujeitos mais velhos apresentaram maior latência ($r = -0,616$, $p = 0,032$). Maior escolaridade também esteve relacionada ao melhor desempenho correspondente a: (1) velocidade de processamento ($r = 0,745$, $p = 0,005$); (2) percepção visuoespacial ($r = 0,636$, $p = 0,026$); (3) memória visual imediata ($r = 0,600$, $p = 0,038$); e (4) funcionamento executivo ($r = 0,586$, $p = 0,045$). Ainda, sexo feminino esteve correlacionado ao pior desempenho em medidas de memória operacional – *Span* de dígitos, ordem direta ($r = -0,667$, $p = 0,017$) e inversa ($r = -0,782$, $p = 0,002$).

Em participantes com estenose o desempenho das funções executivas esteve associado a: (1) escolaridade, representada pelo *Stroop test 1* ($r = 0,583$, $p = 0,045$) e 2 ($r = 0,591$, $p = 0,042$); e (2) ao sexo feminino ($r = 0,7590$, $p = 0,004$).

A presença de HAS esteve significativamente associada ao pior desempenho das funções cognitivas, no grupo controle, a saber: (1) velocidade de processamento ($r = -0,811$, $p = 0,001$); (2) percepção visuoespacial ($r = -0,749$, $p = 0,005$); (3) memória imediata ($r = -0,638$, $p = 0,025$) e tardia ($r = -0,678$, $p = 0,015$); (4) funções executivas, mensuradas pelo *Stroop test* 3 ($r = -0,662$, $p = 0,018$) e TMT A ($r = -0,675$, $p = 0,016$); e (5) memória operacional, representada pelo *Span* de dígitos, ordem direta ($r = -0,602$, $p = 0,038$). Do mais, dislipidemia também esteve associada a baixa performance em percepção visuoespacial ($r = -0,584$, $p = 0,045$) e memória visual tardia ($r = -0,576$, $p = 0,050$).

Uma redução importante do número de associações entre fatores de risco cardiovascular e cognição fica evidenciada, quando observado o grupo de participantes com estenose de carótida. Assim, apenas diabetes *mellitus* esteve correlacionada ao desempenho executivo, avaliado pelo *Stroop test* 1 ($r = -0,598$, $p = 0,039$).

A busca de relações entre dados clínicos e demográficos revelou associações entre menor idade e presença de hipertensão arterial no grupo clínico, bem como relações negativas entre tabagismo e diabetes. Tais análises replicadas no grupo controle indicaram que dislipidemia esteve associada a menor idade, bem como ao sexo feminino. Enquanto escolaridade apresentou correlação negativa com HAS, e com sexo, indicando que níveis mais baixos de escolaridade estiveram associados ao sexo feminino.

Concluindo as análises de correlação entre caracterização da amostra e perfil cognitivo, estenose carotídea assintomática em ACI direita, esteve associada à

latência da velocidade de processamento ($r = -0,731$, $p = 0,006$), assim como evidenciado nos grupos que compuseram os estudos de substância branca e perfusão.

4.3.2 Análise de conectividade funcional de redes cerebrais de repouso em estenose assintomática de carótida e participantes controles

O estudo de conectividade funcional, obtido pelas séries temporais de imagens BOLD, foi baseado em análises *ROI-to-ROI*, onde foram investigadas correlações entre regiões funcionais de interesse. Deste modo, com o intuito de realizar uma análise exploratória, optou-se por pesquisar, a priori, correlações entre oito redes de repouso e suas 32 subdivisões, como descrito anteriormente em Materiais e Métodos.

Assim, tendo por finalidade diferenciar perfis de conectividade em estenose carotídea assintomática e considerando a especificidade hemisférica para alguns processos cognitivos, bem como a hipótese da influência da estenose em padrões fisiológicos cerebrais, optamos por subdividir pacientes por lateralidade de ACI acometida, ou seja, direita e esquerda, e secundariamente pareamos os controles em média de idade e sexo. Embora a variável sexo não tenha sido pareada no grupo com estenose à esquerda, não foram identificadas diferenças estatísticas ($p = 0,500$).

Considerando os fatores de risco cardiovascular não foram identificadas diferenças entre os três grupos, para hipertensão arterial sistêmica e diabetes *mellitus*. Embora frequências de dislipidemia e tabagismo não tenham sido diferentes entre os

grupos clínicos, tais diferenças foram identificadas, quando comparados com participantes controles (Tabela 4.11).

Tabela 4.11. Dados demográficos de sujeitos com estenose de carótida assintomática à direita, à esquerda e participantes controles.

	Estenose ACI direita (n=6)	Estenose ACI esquerda (n=6)	Controles (N=6)
Idade (M, dp)	71,6 ± 6,56	68,5 ± 8,66	70,0 ± 1,41
Sexo (F/M)	3:3	4:2	3:3
<i>Fatores de risco cardiovascular, n (%)</i>			
Hipertensão arterial sistêmica	5 (83,33)	5 (83,33)	3 (50)
Diabetes mellitus	3 (33,33)	1 (16,67)	1 (16,67)
Dislipidemia	6 (100) ^a	6 (100) ^a	1 (16,67)
Tabagismo corrente	2 (33,33)	4 (66,67) ^b	0

ACI, artéria carótida interna. ^a Diferença (p<0,001) da frequência de dislipidemia entre sujeitos com estenose de carótida em ambas lateralidades e participantes controles. Diferença (p=0,01) da frequência de tabagismo entre sujeitos com estenose em ACI esquerda e controles.

A comparação da conectividade funcional entre grupos com estenose e controle resultou em cinco pares de ROIs, no grupo composto por sujeitos com estenose em ACI direita e dois pares, para estenose à esquerda, onde as diferenças apresentaram significância estatística, corrigida para múltiplas comparações (Tabela 4.12).

Deste modo, participantes com estenose de carótida assintomática apresentaram diminuição de conectividade funcional, quando comparados a controles, pareados por idade. A estratificação por lateralidade da estenose grave permitiu observar que sujeitos com placa aterosclerótica em carótida direita, apresentaram conectividade significativamente menor entre: (1) rede saliência direita e rede de

atenção dorsal [direita e (2) esquerda]; (3) rede frontoparietal direita e sensório motora esquerda e suas associações com a rede saliência esquerda (4) e direita (5) (Figura 4.15).

Tabela 4.12. Diferenças de conectividade funcional de redes cerebrais de repouso entre participantes com estenose de carótida esquerda, direita e controles.

Rede cerebral de repouso	Coordenadas (MNI)			T score	p-FDR
	x	y	z		
Estenose em ACI direita vs. controles					
Saliência – Giro supramarginal direito	62	-35	32	4,24	0,033
Atenção dorsal – Sulco intraparietal esquerdo	-39	-43	52		
Saliência – Giro supramarginal direito	62	-35	32	4,65	0,033
Atenção dorsal – Sulco intraparietal direito	39	-42	54		
Frontoparietal - Córtex parietal posterior direito	52	-52	45	4,32	0,030
Sensório motora lateral esquerda	-55	-12	29		
Frontoparietal - Córtex parietal posterior direito	52	-52	45	3,85	0,040
Saliência - Insula anterior esquerda	-44	13	1		
Frontoparietal - Córtex parietal posterior direito	52	-52	45	4,43	0,030
Saliência - Insula anterior direita	47	14	0		
Estenose em ACI esquerda vs. controles					
Frontoparietal - Córtex parietal posterior direito	52	-52	45	4,64	0,023
Saliência - Insula anterior esquerda	-44	13	1		
Frontoparietal - Córtex parietal posterior direito	52	-52	45	4,49	0,023
Saliência - Insula anterior direita	47	14	0

Figura 4.15. Conectividade funcional de redes cerebrais de repouso, entre sujeitos com estenose de artéria carótida direita e controles. ACI, artéria carótida interna; D, direita; E, esquerda. * p-FDR < 0,05.

A conectividade funcional entre a rede frontoparietal direita e saliência esquerda e direita, esteve significativamente menor em sujeitos com estenose de carótida esquerda, quando comparados a controles, conforme ilustrado na Figura 4.16.

Figura 4.16. Conectividade funcional de redes cerebrais de repouso, entre sujeitos com estenose de artéria carótida esquerda e controles. ACI, artéria carótida interna; D, direita; E, esquerda. * $p\text{-FDR} < 0,05$.

4.3.3 Correlações entre desempenho cognitivo e conectividade funcional

Para estudos de correlações foram considerados os cinco pares de ROIs, que mostraram diferenciação de conectividade funcional entre grupos clínicos e controle, associados às medidas de domínios cognitivos. Estes dados foram plotados em gráficos de dispersão, que incluíram os três grupos, para ilustração do padrão de respostas.

Neste âmbito, as análises no grupo controle indicaram forte associação entre funções executivas, representada pelo Teste de fluência verbal semântica, e a conectividade das redes frontoparietal (córtex parietal posterior direito) e saliência

(ínsula anterior esquerda), indicando que quanto maior o déficit cognitivo, menor a conexão entre as redes ($p < 0,05$) (Figura 4.17).

Figura 4.17. Correlações entre o desempenho em fluência verbal semântica e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (redes frontoparietal) com a ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerda.

Ainda no grupo controle desempenhos mais baixos em memória visual de evocação tardia, estiveram significativamente associados aos danos da conectividade entre a rede frontoparietal (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita) e a rede de atenção dorsal (sulco intraparietal direito) ($p < 0,05$), conforme demonstrado na Figura 4.18.

Figura 4.18. Correlações entre o desempenho em memória visual de evocação tardia e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior direita (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito.

A conectividade das redes frontoparietal (CPP direito) e saliência (ínsula anterior esquerda) esteve forte e significativamente correlacionada com a percepção visuoespacial, mensurada pelo Teste de figuras complexas de Rey - cópia ($p < 0,01$); bem como com as medidas de funções executivas, correspondentes ao subdomínio controle inibitório, representadas pelo *Stroop test* 2 e 3 (variável tempo) ($p < 0,01$); tal qual *Stroop* 3, variável correspondente a número de erros ($p < 0,05$), em sujeitos com estenose em carótida direita, conforme ilustradas nas Figuras 4.19; 4.20, 4.21 e 4.22, respectivamente.

Figura 4.19. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Figura 4.20. Correlações entre funções executivas, pelo *Stroop test 2* e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) com ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Figura 4.21. Correlações entre funções executivas, pelo *Stroop test 3* (tempo) e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Figura 4.22. Correlações entre funções executivas, pelo *Stroop test 3* (variável erros) e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e ínsula anterior esquerda (rede saliência), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Novamente, no grupo com estenose assintomática (> 70%) em carótida direita, o melhor desempenho em controle inibitório, caracterizado como subdomínio

das funções executivas, cujo qual foi avaliado pelo *Stroop test* 3, esteve fortemente associado com a maior conectividade entre as redes frontoparietal (córtex parietal posterior direito) e sensório motora lateral esquerda ($p = 0,01$) (Figura 4.23).

Figura 4.23. Correlações entre funções executivas, pelo *Stroop test* 3 e conectividade funcional do córtex parietal posterior direito (rede frontoparietal) e região sensório-motora lateral esquerda, em controles e estenose de carótida direita e esquerda. CPP, Córtex parietal posterior; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerda.

Do mais, associações expressivas foram identificadas entre percepção visuoespacial e conectividade da rede saliência (giro supramarginal direito) e rede de atenção dorsal (sulco intraparietal direito), no grupo de participantes com estenose grave em artéria carótida direita (Figura 4.24).

Figura 4.24. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do giro supramarginal direito (rede saliência) e sulco intraparietal direito (rede atenção dorsal), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. GSM, Giro supramarginal; SIP, Sulco intraparietal; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Adicionalmente, contrariando o que foi evidenciado no grupo com estenose de ACI direita, quanto à frequência de associações entre conectividade funcional e desempenho cognitivo, na análise com participantes em que a artéria carótida esquerda apresentou estenose > 70%, foi identificada apenas uma associação estatisticamente significativa ($p < 0,01$). Tal achado refletiu a relação entre memória operacional, representada pelo teste *Span* de Dígitos (ordem direta) e a conectividade funcional entre as redes frontoparietal (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita) (Figura 4.25).

Figura 4.25. Correlações entre percepção visuoespacial e conectividade funcional do giro supramarginal direito (rede saliência) e sulco intraparietal direito (rede atenção dorsal), em controles e estenose de carótida direita e esquerda. GSM, Giro supramarginal; SIP, Sulco intraparietal; ACI, Artéria carótida interna; D, direito; E, esquerdo.

Associações também foram encontradas quando realizadas análises de correlações entre perfil cognitivo global e conectividade funcional. Assim, tendo sido considerado como grupo único participantes com estenose de ACI esquerda e direita, foram identificadas relações entre a conectividade das redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda), com perfil cognitivo em estenose de carótida (Figura 4.26).

Figura 4.26. Correlação entre conectividade das redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda) e desempenho cognitivo global, representado pelo cálculo da média obtida pelas respostas aos domínios cognitivos avaliados. A linha tracejada entre z-escore -1 e -2 indica comprometimento cognitivo leve e abaixo de -2, possível demência, de acordo com o critério do DSM V correspondente à cognição. CCV, comprometimento cognitivo vascular; Eca, estenose de carótida assintomática.

Finalmente, achados correspondentes ao perfil cognitivo de participantes com estenose de carótida assintomática, elegíveis aos estudos de conectividade funcional, revelaram comprometimento cognitivo vascular em 83,3% da amostra, tal qual demonstrado pelos estudos de carga de lesão em substância branca e perfusão cerebral, anteriormente apresentados.

4.3.4 Preditores independentes de conectividade funcional

Em última análise, estudos de regressão linear, incluindo toda a amostra pareada em idade, demonstrou que a estenose carotídea assintomática foi preditor independente de conectividade funcional entre as redes frontoparietal direita (córtex

parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda) ($R^2 = 0,34$); bem como quando analisada a conectividade entre as redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita) ($R^2 = 0,59$), (Tabelas 4.13 e 4.14).

Tabela 4.13. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de conectividade funcional entre as redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior esquerda).

Variável	Coeficiente (IC 95%)	<i>p-value</i>
Presença de ECa	-0,340025 (-0,587099;-0,092950)	0,010

IC, intervalo de confiança; Eca, estenose de carótida assintomática.

Tabela 4.14. Coeficiente de correlação e *p-value* do modelo de regressão, para identificação de preditor de conectividade funcional entre as redes frontoparietal direita (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita).

Variável	Coeficiente (IC 95%)	<i>p-value</i>
Presença de ECa	-0,4641 (-0,667634;-0,2614366)	< 0,0001

IC, intervalo de confiança; Eca, estenose de carótida assintomática.

5 *Discussão*

Este estudo integrou biomarcadores de Ressonância Magnética e cognição, a fim de descrever associações entre domínios cognitivos - elucidados pelas medidas neuropsicológicas - e componentes estruturais, perfusionais e de conectividade funcional, em pacientes com estenose carotídea classificada como assintomática. Assim, em conformidade com os dados apresentados na sessão anterior, o conteúdo do presente capítulo discorrerá sobre os diferentes itens, respeitando a ordem já adotada.

A proposição de que o declínio cognitivo esteja associado a doença aterosclerótica de carótidas, tal qual a estenose carotídea assintomática > 70%, apoia-se em dados da literatura relacionados à alta frequência de prejuízos cognitivos nessa população, sugerindo controvérsia no termo “assintomático”, utilizado para caracterizar essa patologia (CHENG, et al., 2012; LIN, et al., 2014; WANG, et al., 2017). Em consistência com estudo anteriores, essa pesquisa demonstrou que, pacientes com estenose de carótida têm o desempenho de suas funções cognitivas significativamente prejudicado, quando comparados a controles.

O comprometimento cognitivo vascular esteve presente em 83% dos participantes com estenose, tendo sido sobressalente déficits de cognição global, mensurada pelo MEEM- 2, versão expandida; velocidade de processamento (Teste de codificação dígito-símbolo – MEEM-2); atenção seletiva (*Stroop test*); e funções executivas, representadas pelos subdomínios memória operacional (*Span* de dígitos,

ordem direta e inversa), controle inibitório (*Stroop test*, *variável erros*), fluência verbal (Fluência verbal fonêmica) e flexibilidade cognitiva (*Trail making test* A e B). Sobretudo, a despeito da amostra pequena, os participantes com estenose carotídea apresentaram desempenho cognitivo prejudicado em praticamente todos os domínios avaliados.

Similarmente aos achados deste estudo, Wang e seus colaboradores (2017) encontraram associações consistentes entre estenose assintomática e déficits cognitivos em cognição global, funções executivas e memória. O que foi apoiado por pesquisas anteriormente desenvolvidas (JOHNSTON et al., 2004; SILVESTRINI et al., 2009; ROMERO et al., 2009; EL-SERAFY et al., 2011; POPOVIC et al., 2011; CHENG et al., 2012), em que adicionalmente foram identificados déficits em percepção visuoespacial (LIN et al., 2014).

Quando analisados os dados demográficos, idade esteve associada ao prejuízo da velocidade de processamento, no grupo controle. O que corrobora com os conhecimentos atuais correspondentes ao impacto do envelhecimento normal nas habilidades cognitivas fluidas, cujas quais requerem rápido processamento da informação, para resolução de problemas (MURMAN, D.L., 2015). Neste contexto, uma ampla revisão realizada por Salthouse (2010) demonstrou relações transversais entre idade e cognição, onde um declínio aproximadamente linear, equivalente a um desvio padrão de -0,02 ao ano, pode ser observado em velocidade de processamento.

Contrariamente, em participantes com estenose carotídea, foram identificadas correlações positivas entre idade e controle inibitório, representado pelo desempenho no *Stroop test* 1. Tais achados podem refletir a heterogeneidade do grupo

quanto aos aspectos cognitivos, bem como a influência da doença aterosclerótica na cognição, uma vez que a presença de estenose carotídea esteve independentemente associada ao déficit cognitivo, mesmo após ajustes para idade.

Do mais, em ambos os grupos das diferentes amostras analisadas neste estudo, escolaridade esteve associada a melhores repertórios cognitivos. Embora a frequência de correlações tenha sido mais expressiva em participantes do grupo controle, o provável efeito de reserva cognitiva demonstrou benefícios no desempenho das funções cognitivas, especialmente em velocidade de processamento, percepção visuoespacial, memória visual tardia e funções executivas, nos subdomínios: fluência verbal, flexibilidade cognitiva e controle inibitório.

O conceito de reserva cognitiva procede de observações de sujeitos que foram capazes de manter funcionalidade, a despeito de patologias neurológicas relacionadas ao envelhecimento (RILEY, SNOWDON E MARKESBERY, 2002). Hipóteses aventadas defendem que a reserva cognitiva confere maior flexibilidade no desenvolvimento de estratégias para resolução de problemas, além de proporcionar uso mais eficiente da reserva cerebral disponível (TURCKER E STERN, 2011).

Associações também foram observadas entre desempenho cognitivo e sexo, em que participantes homens do grupo controle evidenciaram melhor desempenho em tarefas de memória operacional, enquanto sujeitos do sexo feminino, alocados no grupo clínico, apresentaram melhor repertório relacionado ao controle inibitório. Acerca deste tema, a literatura se mostra bastante controversa e revisões sistemáticas apontam para a necessidade de análises que considerem a interação de fatores biológicos e ambientais, para elucidações contemporâneas correspondentes às

diferenças, ou semelhanças, da performance cognitiva associada ao sexo (MILLER E HALPERN, 2013; HYDE, 2016).

Quanto aos fatores de risco cardiovascular, especialmente, hipertensão arterial, dislipidemia e tabagismo estiveram significativamente mais frequentes no grupo com estenose carotídea. Neste contexto, o *Tromsø Study*, um importante estudo em epidemiologia cardiovascular, que avaliou a prevalência e distribuição de determinantes da doença da artéria carótida, demonstrou que os três fatores supracitados estiveram independentemente associados a essa patologia, em ambos os sexos (MATHIESEN et al., 2001).

As explorações de correlações entre fatores de risco cardiovascular e cognição revelaram associações com HAS e dislipidemia, no grupo controle e isoladamente com hipertensão arterial no grupo clínico.

Sabe-se que hipertensão arterial é o principal fator de risco modificável para doença cerebrovascular (LACKLAND et al., 2014), comprometimento cognitivo leve (KNOPMAN et al., 2001) e demência vascular (LAUNER et al., 2000). Uma recente declaração científica da *American Heart Association* (2016), que buscou evidências acerca do impacto da hipertensão na cognição, revelou associações deste nocivo fator de risco aos déficits de memória e de funções executivas, tal qual identificados na população deste estudo. Portanto, em pessoas com risco de comprometimento cognitivo vascular a recomendação do tratamento da hipertensão é nível 1A de evidência (IADECOLA et al., 2016).

Os mesmos domínios cognitivos que se apresentaram prejudicados e associados à HAS, estiveram correlacionados à dislipidemia. Dados estes também

suportados pela literatura que aponta relações com demência vascular e Alzheimer (REITZ et al., 2004).

Em pacientes com estenose assintomática de artéria carótida > 70%, o volume de hiperintensidade de sinal em substância branca foi significativamente superior, quando comparado a sujeitos sem evidência de doença neurológica, cuja qual emergiu como preditor independente de carga de lesão em substância branca. Em contraponto, a marcada redução do volume de substância branca, indicando atrofia de estrutura cerebral, foi expressivamente maior no grupo com doença aterosclerótica.

Quando observadas associações entre carga de HSS e idade, achados no grupo controle demonstraram concordância com a literatura vigente, em que de fato a idade é um dos principais preditores de hiperintensidade de sinal em substância branca (DUFOUIL et al., 2001; ARIBISALA et al., 2014). Entretanto tal associação não se repetiu no grupo clínico. Uma possível explicação é a heterogeneidade da amostra, quanto ao acúmulo de lesão em substância branca, possivelmente associada à severidade da estenose carotídea, já que no modelo de regressão a presença de estenose manteve-se como fator independente de HSS, mesmo após ajustes para idade.

Contudo a redução de substância branca esteve positivamente associada à idade, em participantes com estenose de ACI. Dado apoiado por estudo anterior, que demonstrou alterações da integridade da substância branca pertinentes ao envelhecimento (YANG et al, 2016).

Em busca de integrações entre características estruturais do cérebro e cognição, tendo em vista a reconhecida importância da substância branca na

distribuição de redes neurais atuantes em operações neurocomportamentais (FILLEEY E FIELDS, 2016), essa pesquisa identificou importante influência do volume de SB no desempenho das funções cognitivas. Assim, corroborando aos achados da literatura (DEBETTE E MARKUS, 2010), esse estudo demonstrou que o melhor desempenho em medida de cognição global, representada pelo MEEM-2, esteve positivamente associado ao volume de substância branca em ambos os grupos. Do mais, melhores performances da memória operacional também estiveram relacionadas ao aumento de volume de SB no grupo controle.

Uma série de estudos compilados em uma meta-análise, que buscou evidências para associações de hiperintensidade de sinal em substância branca ao risco de AVC, declínio cognitivo, demência e morte, demonstrou que HSB foi preditor independente para os quatro desfechos supracitados (DEBETTE E MARKUS, 2010). Neste sentido, carga de lesão em substância branca esteve associada ao baixo repertório cognitivo de sujeitos com estenose de carótida e participantes controles.

Adicionalmente, quando estratificado por domínio cognitivo, a saber: velocidade de processamento, funções executivas, percepção visuoespacial e memória, é notória a influência da hiperintensidade de sinal em substância branca na modulação do desempenho cognitivo, em participantes controles.

Novamente a redução do número de associações entre cognição e marcadores de substância branca pode refletir a variabilidade da amostra de pacientes com estenose assintomática de artéria carótida interna. Entretanto, a nosso ver uma explicação mais provável para este achado é que, nos pacientes com estenose carotídea, o efeito do hipofluxo hemisférico crônico e da atrofia cerebral decorrente da

estenose carotídea sobre a cognição são determinantes mais importante para o declínio cognitivo do que a doença de substância branca. Ou seja, diferentemente dos controles sem estenose carotídea, onde é evidente a associação entre declínio cognitivo e doença de substância branca, nos pacientes com estenose carotídea o declínio cognitivo não parece ser explicado pela doença de substância branca, mas sim pela própria doença vascular crônica no território carotídeo.

Este estudo também explorou diferenças hemisféricas do volume de substância branca, em estenose carotídea. Achados congruentes a literatura indicaram assimetria hemisférica, tendo sido o hemisfério direito o maior detentor de volume de substância branca.

Outro importante achado deste estudo implica em uma diferença significativa da carga de lesão de substância branca no hemisfério ipsilateral à estenose assintomática da ACI > 70%. Tal assimetria na expressão de doença de pequenos vasos apoia parcialmente papel etiológico da estenose carotídea na hiperintensidade de sinal em substância branca. Apesar desses achados, aparentemente essa assimetria de carga de lesão de substância branca não é suficiente para explicar o declínio cognitivo dos pacientes com estenose carotídea, sugerindo que outros biomarcadores como a atrofia cerebral e a conectividade cerebral possam ser úteis nesse contexto.

Ademais, embora análises de morfologia de placa não represente objeto de estudo desta pesquisa, uma explicação para a participação da estenose na HSS pode estar associada à ulceração que é caracterizada como marcador de vulnerabilidade de

placa (AMMIRATI et al., 2017). O que apoiaria a hipótese que defende correlações entre a danos microvasculares e eventos microembólicos (MARKUS et al, 2010).

Outros estudos corroboram a visão de que a substância branca é suscetível a lesões por hipoperfusão crônica (PANTONI, 1997; O'SULLIVAN et al., 2002), demonstrando que a variabilidade de hipóteses indica que este ainda é um assunto amplamente discutido, portanto não consensual.

O fato é que, embora a causa precisa da HSS seja desconhecida, os resultados deste estudo, obtidos por medidas em uma amostra que, embora pequena, foi cuidadosamente selecionada, indicaram associação entre o dano de substância branca e o hemisfério ipsilateralmente acometido em estenose carotídea.

Perseverante na proposta de integrar biomarcadores de Ressonância Magnética e desempenho cognitivo, em um único estudo com estenose de carótida assintomática, a perfusão sanguínea cerebral obtida por imagens de pCASL, também foi objeto de análises.

Tal qual um estudo publicado recentemente (HARTKAMP et al., 2017), nesta amostra não foram identificadas diferenças estatisticamente significantes do fluxo sanguíneo cerebral global, entre sujeitos com estenose carotídea assintomática e controles. O que apoia a hipótese de que a medida de CBF global não configura um bom preditor de estenose assintomática, embora tenha se mostrado eficiente para diferenciar controles de pacientes sintomáticos e assintomáticos, com oclusão de artéria carótida interna.

Entretanto, análises mais aprofundadas elucidaram assimetria hemisférica em participantes do grupo controle, em que o fluxo sanguíneo cerebral do hemisfério

direito apresentou-se significativamente maior nos territórios irrigados pela artéria cerebral anterior, média e posterior. Fato que não se repetiu no grupo clínico, em que foi observada uma inversão do aumento de fluxo sanguíneo em hemisfério esquerdo.

Este achado motivou a continuidade da exploração dos dados de CBF, a partir da subdivisão de grupos clínicos, em acometimento de ACI direita e esquerda. Essa subdivisão permitiu identificar que, em sujeitos com estenose à esquerda, valores de CBF em hemisfério ipsilateral (ou esquerdo) estiveram reduzidos em relação ao contralateral (ou direito), especialmente nos territórios das artérias cerebrais anterior e posterior.

Suportando estes dados, sabe-se que assimetria da perfusão hemisférica é um fato reconhecido em idosos e pode refletir o aumento da variação em córtices temporais orbitofrontal e posterior, estando, portanto, associado ao volume cerebral (MARTIN et al., 1991; BAIRD et al., 1999). Neste contexto, o *Rotterdam Scan Study* (MEIKE et al., 2007), um estudo de base populacional sublinhou a importância de se considerar o volume cerebral em análises de perfusão global, uma vez tendo demonstrado expressiva associação entre as duas medidas.

Contrariamente, não foram observadas diferenças de CBF entre os hemisférios no grupo com estenose à direita. E, adicionalmente, um aumento de fluxo sanguíneo cerebral ipsilateral, ou seja, à direita, foi observado nessa amostra.

Diante dessa condição a análise individual revelou que em três casos, embora a carga lesão em substância branca tenha sido maior em hemisfério ipsilateral, os valores de CBF no território da artéria cerebral média também haviam sido sobressalentes, em relação ao hemisfério contralateral. Então, uma possível explicação

para esse fenômeno pode estar alocada no recrutamento de colaterais, como mecanismo hemodinâmico compensatório, que hipoteticamente poderia fornecer subsídios para a manutenção de oxigenação adequada, bem como a consequente função celular (DERDEYN, et al., 1999; LIEBESKING et al, 2003).

Em doenças cerebrovasculares o principal mecanismo patofisiológico do comprometimento cognitivo vascular é a hipoperfusão cerebral (MOSER et al., 2012). Assim, a busca de correlações entre perfusão cerebral e cognição expôs associações significativas entre fluxo sanguíneo cerebral reduzido e desempenho deficitário da cognição global e da velocidade de processamento, quando analisada amostra em sua totalidade.

Análises de grupos de participantes com estenose de carótida, estratificado pela ACI acometida, indicaram associações esperadas entre redução de fluxo na circulação anterior direita (ACA) e piores desempenhos da cognição global, em participantes com estenose de ACI esquerda (EFIMOVA et al., 2008). Correlações robustas também foram encontradas entre o melhor repertório cognitivo nessa medida e o aumento de CBF em territórios de ACM direita e ACP bilateral. Já em participantes com estenose a direita o aumento de CBF na ACA associou-se a melhores padrões de respostas do MEEM-2.

Relações entre CBF e velocidade de processamento estiveram presentes no grupo de participantes com estenose a direita, onde o hipofluxo em territórios de ACA e ACM contralateral a estenose, estiveram associados a maior latência do processamento da informação, enquanto o aumento de fluxo em ACM e ACP ipsilateral refletiram melhores padrões de respostas. O presente achado indica o papel

substancial da perfusão sanguínea cerebral na modulação de funções cognitivas complexas, que requerem a participação de diferentes regiões para o desempenho satisfatório.

Análises de correlações entre percepção visuoespacial e CBF permitiram observar que, em participantes com estenose a esquerda a redução do fluxo da ACP ipsilateral esteve associado ao pior desempenho dessa função. Contudo o aumento de fluxo contralateral em ACM distal esteve relacionado com melhores padrões de respostas.

Ademais diferentes domínios das funções executivas apresentaram relações robustas com a perfusão sanguínea cerebral, em participantes dos grupos clínico e controle. Assim, melhores desempenhos do controle inibitório estiveram associados ao aumento do CBF, na ACA ipsilateral de participantes com estenose à esquerda. Enquanto flexibilidade cognitiva esteve positivamente associada ao aumento de fluxo sanguíneo em territórios de circulação cerebral anterior esquerda (ACA e ACM).

Melhores desempenhos em fluência verbal também estiveram associadas a melhor perfusão em territórios do hemisfério esquerdo (ACM e ACP), nos dois grupos clínicos. Contrariamente a redução do CBF em ACM esquerda, refletiu pior desempenho de participantes alocados no grupo controle.

E, finalmente, memória operacional também compôs o grupo de domínios cognitivos associados a medida de fluxo sanguíneo cerebral neste estudo, onde a diminuição de fluxo nos territórios da ACA, bilateralmente, estiveram relacionados aos piores desempenhos no grupo controle e em pacientes com estenose de artéria carótida assintomática.

Tais achados impulsionam a análise subsequente realizada por este estudo, uma vez que, tendo sido evidenciadas fortes associações entre fluxo sanguíneo cerebral e repertório cognitivo, em diferentes domínios avaliados, informações acerca da integração cerebral, em uma patologia que pressupõe alteração perfusional são absolutamente relevantes, para compreender a participação da doença aterosclerótica de carótida na cognição.

Deste modo, uma das maneiras de estudar integração cerebral ocorre por meio da análise de conectividade funcional, que representa uma medida de correlação entre séries temporais de áreas distintas do cérebro, obtidas por imagens BOLD. Ferramenta essa, que permite mensurar o funcionamento integrado de áreas cerebrais, tal qual descrito no modelo de sistema funcional, ampliado e defendido por Alexandre Romanivh Luria (LURIA, 1981).

Portanto, a fim de diferenciar perfis de conectividade funcional no grupo clínico, especialmente em função da especificidade hemisférica na expressão da cognição e da participação da estenose de ACI em padrões fisiológicos cerebrais, os sujeitos foram subdivididos em dois grupos, de acordo com hemisfério acometido pela estenose > 70%. Logo, resultados de uma análise exploratória de conectividade entre redes cerebrais de repouso, revelou um significativo comprometimento da conectividade funcional (CF) em participantes com estenose de carótida assintomática quando comparados aos controles.

No grupo de participantes com estenose carotídea > 70% à esquerda, a conectividade funcional entre as redes (1) saliência direita e atenção dorsal [direita e (2) esquerda]; (3) rede frontoparietal direita e sensório-motora esquerda e suas

associações com a rede saliência esquerda (4) e direita (5), esteve significativamente prejudicada em relação aos controles. De modo similar, a diferenciação do padrão de CF entre controles e sujeitos com estenose de ACI esquerda, demonstrou prejuízos de conectividade entre a rede frontoparietal direita e saliência esquerda e direita.

Estes resultados foram apoiados pelo estudo de Lin e colaboradores (2014), que identificou o comprometimento da CF nas redes de atenção dorsal, frontoparietal e sensório-motora em um grupo correspondente, embora não estratificado por lateralidade da estenose carotídea. Diferindo de outros estudos (LIN et al., 2014; WANG et al., 2017), prejuízos da conectividade funcional da *default mode network* de pacientes assintomáticos, em relação aos controles não foram observados nessa pesquisa, ainda que a mesma tenha sido considerada nas análises.

Em síntese, a rede de atenção frontoparietal esteve substancialmente envolvida nos prejuízos de conectividade funcional, intrahemisférica no grupo de pacientes com estenose em ACI esquerda e nas projeções intra e interhemisférica, em sujeitos com estenose assintomática (> 70%) à direita.

Mediante este achado, vale salientar que a integridade das conexões dessa rede tem um papel decisivo na seleção de informações relevantes no ambiente estando, ainda, intimamente relacionada com o desempenho da memória operacional (PTAK, 2011). Fato este, elucidado pelas associações positivas entre o aumento da conectividade funcional das redes frontoparietal (córtex parietal posterior direito) e saliência (ínsula anterior direita) e o melhor desempenho na tarefa *Span* de dígitos, que representou uma medida de memória operacional, no grupo de pacientes com estenose de carótida esquerda.

Em concordância com tais achados, o prejuízo da conectividade funcional intrínseca entre a rede frontoparietal supracitada e a rede saliência (ínsula anterior) em hemisfério contralateral, esteve associado a déficits mais expressivos de percepção visuoespacial, atenção seletiva e controle inibitório em participantes com estenose à direita. Evidência condizente ao papel do nó representado pela ínsula anterior, na rede saliência, que confere relevante participação dessa região na detecção de estímulos comportamentais relevantes (MENON, 2015).

Adicionalmente, em sujeitos com estenose carotídea direita, o melhor desempenho em controle inibitório esteve associado a maior conectividade entre as redes frontoparietal (CPP direito) e sensório-motora lateral esquerda. Enquanto melhores repertórios em percepção visuoespacial estiveram associados a maior conectividade entre as redes saliência (giro supramarginal) e atenção dorsal.

Deste modo, alterações substanciais do padrão de conectividade atencional estiveram recorrentes em participantes com doença aterosclerótica de carótida, o que explica uma parcela significativa dos déficits observados na cognição desses pacientes. Assim, os resultados apresentados pelo estudo de conectividade funcional permitem inferir que embora a estenose de carótida assintomática > 70% seja unilateral, revelou-se significativamente nociva à integração de redes cerebrais e, conseqüentemente, as suas participações em domínios cognitivos pertinentes a atenção e funcionamento executivo.

Finalmente, a combinação de biomarcadores de Ressonância Magnética reunindo análises estruturais, perfusionais e funcionais, permitiu o traçado de um perfil neuropsicológico deficitário, condizente ao alarmante comprometimento cognitivo

vascular em 83% da população estudada. O que, somado a evidências de estudos anteriores, confere subsídios para a refutação do termo “assintomático”, atualmente empregado na classificação da doença aterosclerótica de artéria carótida > 70%.

6 Conclusões

Os resultados permitiram concluir que:

- A presença estenose carotídea assintomática unilateral grave (> 70%) esteve significativamente associada ao declínio cognitivo, refletindo uma frequência de comprometimento cognitivo vascular em 83% da amostra clínica;
- Para os componentes cognitivos avaliados neste estudo, foram encontrados prejuízos significativos no desempenho das funções cognitivas de participantes com estenose carotídea, quando comparados aos controles, tendo sido sobressalentes déficits da cognição global, mensurado pelo Mini Exame do Estado Mental (2ª edição); bem como dos domínios cognitivos correspondentes a velocidade de processamento, atenção seletiva e funções executivas, representadas pelos subdomínios memória operacional, controle inibitório, fluência verbal e flexibilidade cognitiva;
- Volumes de substância branca, bem como hiperintensidade de sinal em substância branca, hemisférica e global, estiveram significativamente reduzidos em pacientes com estenose carotídea em comparação aos controles;
- O volume de hiperintensidade de sinal em substância branca foi significativamente maior no hemisfério ipsilateral à estenose de carótida assintomática >70%;

- Encontramos associações entre maior volume substância branca e melhores desempenhos em cognição global, nos grupos clínico e controle, sendo que memória operacional também esteve associada a essa medida, no grupo controle;
- Quanto as correlações entre carga de lesão em substância branca e desempenho cognitivo, o aumento de hiperintensidade de sinal em SB refletiu comprometimento de todos os domínios cognitivos avaliados, no grupo controle. Contrariamente tais achados não foram identificados no grupo de participantes com estenose carotídea, ainda que o volume de hiperintensidade de sinal em substância branca tenha apresentado valores significativamente superiores;
- A presença de estenose assintomática >70% em artéria carótida e o volume substância branca estiveram independentemente associados ao desfecho cognitivo;
- Estenose de carótida assintomática foi identificada como preditor independente de carga de lesão em substância branca, mesmo diante de ajustes para idade;
- Não foram identificadas diferenças de fluxo sanguíneo global em territórios das artéria cerebrais anterior, média e posterior, entre sujeitos com estenose de artéria carótida assintomática e controles, indicando que medidas de CBF global não representaram um bom marcador de estenose carotídea assintomática grave >70%;

- O fluxo sanguíneo cerebral mensurado em diferentes territórios de ACA, ACM e ACP estiveram significativamente associados ao desempenho da cognição global, tal qual de domínios cognitivos referentes a velocidade de processamento, percepção visuoespacial, memória visual imediata, controle inibitório, fluência verbal fonêmica e semântica, flexibilidade cognitiva e memória operacional; em participantes do grupo clínico estratificados por ACI acometida pela estenose grave (direita e esquerda) e controles;
- A conectividade funcional das redes cerebrais de repouso, de participantes com doença aterosclerótica de carótida, esteve significativamente prejudicada em relação aos controles;
- Associações entre conectividade funcional e desempenho cognitivo estiveram presentes em ambos os grupos (clínico e controle), embora análises da rede de atenção frontoparietal tenha refletido substancial envolvimento nos prejuízos de conectividade funcional, intrahemisférica no grupo de pacientes com estenose em ACI esquerda e nas projeções intra e interhemisférica, em sujeitos com estenose assintomática (> 70%) à direita.

Referências

ABE, I. L. **Prevalência de acidente vascular cerebral em área de exclusão social na cidade de São Paulo, Brasil**: utilizando questionário validado de sintomas [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2010

ALSOP, D. C. et al. Recommended implementation of arterial spin-labeled Perfusion mri for clinical applications: A consensus of the ISMRM Perfusion Study group and the European consortium for ASL in dementia. **Magnetic Resonance in Medicine**, v. 73, n. 1, p. 102–116, 2015.

ALSOP, D. C.; DETRE, J. A.; GOLAY, X., et al. Recommended implementation of arterial spin-labeled Perfusion mri for clinical applications: A consensus of the ISMRM Perfusion Study group and the European consortium for ASL in dementia. **Magn Reson Med**, v. 73, n. 1, 2015.

ANDRADE, K. C.; PONTES-NETO, O. M.; LEITE, J. P.; SANTOS, A. C.; BAFFA, O.; DE ARAUJO, D. B. Quantitative aspects of brain perfusion dynamic induced by BOLD fMRI. **Arq Neuropsiquiatr**, v. 64, p. 895-8, 2006.

ARIBISALA, B. S. *et al.* Blood pressure, internal carotid artery flow parameters, and age-related white matter hyperintensities. **Hypertension**, p.1011–1018, 2014.

Avants, B.B.; Tustison, N. J.; Stauffer, M.; Song, G.; Wu, B.; Gee, J. C. The Insight ToolKit image registration framework. **Front. Neuroinform.**, v. 8, p. 44, 2014.

BARBIER, E. L.; Lamalle, L.; Décorps, M. Methodology of brain perfusion imaging. **J Magn Reson Imaging**. v. 13, n.4, p. 496-520, 2001.

BIHAN, D. L.; MANGIN, J. F.; POUPON, C.; CLARK, C. A.; PAPPATA, S.; MOLKO, N.; CHABRIAT, H. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 13, p.534–546, 2001.

BOTS, M. L. et al. Cerebral white matter lesions and atherosclerosis in the Rotterdam Study. **Lancet**, v. 341, p. 1232–1237, 1993.

BRASIL. Ministério da Saúde. Indicadores e dados básicos do Brasil, 2012. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2012/matriz.htm>>. Acesso em: 24 abr. 2014.

BUXTON, R. B. Dynamic models of BOLD contrast. **NeuroImage**, 2012.

BUXTON, R. B. et al. A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling. **Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine**, v. 40, n. 3, p. 383–396, 1998.

BUXTON, R. B. The physics of functional magnetic resonance imaging (fMRI). **Reports on progress in physics. Physical Society (Great Britain)**, v. 76, n. 9, p. 96601, 2013.

CALAMANTE, F.; THOMAS, D. L.; PELL, G. S.; WIERSMA, J.; TURNER, R. Measuring Cerebral Blood Flow Using Magnetic Resonance Imaging Techniques. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 19, n.7, p. 701-735, 1999.

CAMARGO, A. P. A. **Funções neuropsicológicas executivas pós acidente vascular encefálico hemorrágico** [dissertação]. Bauru: Universidade Estadual Paulista, 2012.

CHEN, J. J. et al. Characterizing Resting-State Brain Function using Arterial-Spin Labeling Laboratory of Functional MRI Technology , **Department of Neurology** , University of. p. 1–44, 2015.

CHENG, H. L.; LIN, C. J.; SOONG, B. W.; WANG, P. N.; CHANG, F. C.; WU, W. T.; CHOU, H.; LIN, C. P.; TU, P. C.; LEE, I. H. Impairments in cognitive function and brain connectivity in severe asymptomatic carotid stenosis. **Stroke**, v.43, p. 2567-2573, 2012.

COHEN, E. R., et al. Effect of basal conditions on the magnitude and dynamics of the blood oxygenation level-dependent fMRI response. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 22, n. 9, p. 1042-53, 2002.

CUNHA, J. A. **Manual do teste wisconsin de classificação de cartas: adaptação e padronização brasileira**. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2005.

DAHL, A.; LINDEGAARD, K. F.; RUSSEL, D. et al. A comparison of transcranial doppler and cerebral blood flow studies to assess cerebral vasoreactivity. **Stroke**, v. 23, p. 15-19, 1992.

DE ANGELIS, M. Et al. Prevalence of carotid stenosis in type 2 diabetic patients asymptomatic for cerebrovascular disease. **Diabetes Nutr metab**, v. 16, n.1, p.48-55, 2003.

DEBETTE, S.; MARKUS, H.S. The clinical importance of white matter hyperintensities on brain magnetic resonance imaging: systematic review and meta-analysis. **BMJ**, v.26, 2010.

DETRE, J. A.; WANG, J.; WANG, Z.; RAO, H. Arterial spin-labeled perfusion MRI in basic and clinical neuroscience. **Curr Opin Neurol**, v.22, n.4, p. 348-355, 2009.

DONNAN, A. et al. Asymmetries of cerebral perfusion in a stroke-age population. **Journal of Clinical Neuroscience**, v.6, n.2, p. 113-120, 1999. MARTINA, J.; FRISTONK, J.; COLEBATCH, J. G.; FRACKOWIAK, R. S. J. Decreases regional cerebral blood flow with normal aging. **J Cereb Blood Flow Metab**, v.11, n.4, 1991.

DUFOUIL, C et al. Longitudinal study of blood pressure and white matter hyperintensities: the EVA MRI Cohort. **Neurology**, v.56, p. 921-6, 2001.

EVANS, A, et al. 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. **Proceedings IEEE-Nuclear Sci Symp Med Imaging Conf**. p.1813-1817, 1993.

FILLEY, C.M.; FIELDS, R. D. White matter and cognition: making the connection. **Journal of Neurophysiology**, v.116, n.5, p. 2093-2104, 2016.

FOLSTEIN, M. F.; FOLSTEIN, S. E.; WHITE, T.; MESSER, M. A. Mini exame do estado mental 2ª edição. No prelo 2018. Padronização Brasileira: Spedo CT, Pereira DA, Foss MP, Barreira AA. São Paulo: Hogrefe.

FOLSTEIN, M.; FOLSTEIN, S.; MCHUGH, P. Mini mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. **Journal of Psychiatric Research**, v. 12, p. 189-198, 1975.

FOLSTEIN, M.; FOLSTEIN, S.; WHITE, T. et al. Mini-Mental State Examination, 2nd Edition: User's Manual. Lutz, FL: PAR, **Psychological Assessment Resources**, 2010.

FUKUJIMA, M. M.; GABBAI, A. A. Conduas na estenose da carótida. **Rev. Neurociências**, v. 7, n.1, p.39-44, 1999.

GARCIA, J.; HO K. L. Carotid atherosclerosis: definition, pathogenesis, and clinical significance. **Neuroimaging Clin N Am**, v. 6, p.801-10, 1996.

GOLAY, X., et al. Arterial Spin Labeling: a one-stop-shop for measurement of brain perfusion in the clinical settings. **Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc**, v. 2007, p. 4320-3, 2007.

HACHINSKI, V. C.; POTTER, P.; MERSKEY, H. Leucoaraiose. **Arch Neurol**, v.44, p. 21-23, 1987.

HALLER, S.; BONATI, L. H.; RICK, J.; KLARHOFER, M.; SPECK, O.; LYRER, P. A.; BILECEN, D.; ENGELTER, S. T.; WETZEL, S. G. Reduced cerebrovascular reserve at CO2 BOLD MR imaging is associated with increased risk of periinterventional ischemic lesions during carotid endarterectomy or stent placement: preliminary results. **Radiology**, v.249, p.251-258, 2008.

HAMZEI, F.; KNAB, R.; WEILLER, C.; ROTHER, J. The influence of extra- and intracranial artery disease on the BOLD signal in FMRI. **Neuroimage**, v.20, p.1393-1399, 2003.

HARTKAMP, N. S., et al. Distribution of cerebral blood flow in the caudate nucleus, lentiform nucleus and thalamus in patients with carotid artery stenosis. **Eur Radiol**, v. 21, n. 4, p. 875-81, 2011.

HENDRIKSE, J., et al. Relation between cerebral perfusion territories and location of cerebral infarcts. **Stroke**, v. 40, n. 5, p. 1617-22, 2009.

IADECOLA, C.; YAFFE, K.; BILLER, J. et al. Impact of Hypertension on Cognitive Function: A Scientific Statement From the American Heart Association. **Hypertension (Dallas, Tex : 1979)**, v.68, n.6, p. e67-e94, 2016.

Iglesias, J. E.; Cheng-Yi Liu; Thompson, P. M.; Zhuowen, T, Robust Brain Extraction Across Datasets and Comparison With Publicly Available Methods. **IEEE Trans. Med. Imaging**, v. 30, n. 9, p. 1617–1634, 2011.

JANGHORBANI, M.; HU, F. B.; WILLETT, W. C.; LI, T. Y.; MANSON, J. E.; LOGROSCINO, G. et al. Prospective study of type 1 and type 2 diabetes and risk of stroke subtypes: the Nurses' Health Study. **Diabetes Care**, v.30, p. 1730–5, 2007.

JENSEN, U.; BORSCH, K.; STINGELE, R.; JANSEN, O.; ALFKE, K. Hemodynamic assessment of carotid stenosis by functional magnetic resonance imaging. **Cerebrovasc Dis**, v.26, p.231-236, 2008.

KAPLAN, E.; GOODGLASS, H.; WEINTRAUB, S. The Boston naming test. Philadelphia: Lea & Febiger, 1983.

KASTRUP, A.; KRUGER, G.; GLOVER, G. H.; NEUMANN-HAEFELIN, T.; MOSELEY, M. E. Regional variability of cerebral blood oxygenation response to hypercapnia, **NeuroImage**, v. 10, n. 6, p. 675–681, 1999.

KASTRUP, A.; KRUGER, G.; NEUMANN-HAEFELIN, T.; MOSELEY, M. E. Assessment of cerebrovascular reactivity with functional magnetic resonance imaging: comparison of CO₂ and breath holding. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 19, n. 1, p. 13–20, 2001.

KEMNA, L. J.; POSSE, S. Effect of respiratory CO₂ changes on the temporal dynamics of the hemodynamic response in functional MR imaging. **Neuroimage**, v.14, p.642-649, 2001.

KNOPMAN, D.; BOLAND, L.L.; MOSLEY, T.; HOWARD, G.; LIAO, D.; SZKLO, M.; MCGOVERN, P.; FOLSOM, A.R. Atherosclerosis risk in communities (ARIC) study investigators cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. **Neurology**, v.56, p. 42–48, 2001.

KURODA, S. et al. Long-term prognosis of medically treated patients with internal carotid or middle cerebral artery occlusion: can acetazolamide test predict it? **Stroke**, v. 32, n. 9, p.2110-6, 2001.

Labeling. **PLoS One**, v. 10, n.8, 2015.

LACKLAND, D.T. et al. ROCCELLA, E.J.; DEUTSCH, A.F.; FORNAGE, M.; GEORGE, M.G.; HOWARD, G.; KISSELA, B.M.; KITNER, S.J.; LICHTMAN, J.H.; LISABETH, L.D.; SCHWAMM, L.H.; SMITH, E.E.; TOWFIGHI, A. On behalf of the American Heart Association Stroke Council; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Quality of Care and Outcomes Research; Council on Functional Genomics and

Translational Biology Factors influencing the decline in stroke mortality: a statement from the American Heart Association/American Stroke Association. **Stroke**, v.45, p. 315-343, 2014.

LAUNER, L.J.; ROSS, G.W; PETROVITCH, H.; MASAKI, K.; FOLEY, D.; WHITE, L.R.; HAVLIK, R. J. Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. **Neurobiol Aging**, v. 21, p.49–55, 2000.

LEONI, R. F.; MAZZETO-BETTI, K. C.; ANDRADE, K. C.; DE ARAUJO, D. B. Quantitative evaluation of hemodynamic response after hypercapnia among different brain territories by fMRI. **Neuroimage**, p. 1192-1198, United States, 2008.

LEONI, R. F.; PAIVA, F. F.; KANG, B. T.; HENNING, E. C.; NASCIMENTO, G. C.; TANNÚS, A.; ARAÚJO, D. B.; SILVA, A. C. Arterial spin labeling measurements of cerebral perfusion territories in experimental ischemic stroke. **Translational Stroke Research**, v. 3, p. 44-55, 2012.

LEONI, R. F.; PAIVA, F. F.; KANG, B.T. et al. Arterial spin labeling measurements of cerebral perfusion territories in experimental ischemic stroke. **Transl Stroke Res.** v. 3, n.1, 2012.

LEZAK, M.D. **Neuropsychological Assessment**. 3rd ed. New York, NY: Oxford University Press, 1995.

LEZAK, M.D. **Neuropsychological Assessment**. 4rd ed. New York, NY: Oxford University Press, 2004.

LIN, C. J.; TU, P. C.; CHERN, C. M.; HSIAO, F. J.; CHANG, F. C.; CHENG, H. L.; TANG, C. W.; LEE, Y. C.; CHEN, W. T.; LEE, I. H. Connectivity features for identifying cognitive impairment in presymptomatic carotid stenosis. **Plos One**, v. 9, 2014.

LURIA, A. R. **Fundamentos de Neuropsicologia**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; São Paulo: EDUSP, 1981.

LYTHGOE, D. J.; WILLIAMS, S. C.; CULLINANE, M.; MARKUS, H. S. Mapping of cerebrovascular reactivity using bold magnetic resonance imaging. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 17, n. 4, p. 495–502, 1999.

MANSUR, L. L.; RADANOVIC, M.; ARAÚJO, G. C.; TAQUEMORI, L. Y.; GRECO, L. L. Teste de nomeação de Boston: desempenho de uma população de São Paulo. **Pró-Fono R. Atual. Cient.** [online], v.18, n.1, p. 13-20, 2006.

Marjolein, W. et al. Prevalence of Asymptomatic Carotid Artery Stenosis in the General Population. **Stroke**, v. 41, p.1294-1297, 2010.

MARKUS, H. S. et al. Asymptomatic embolisation for prediction of stroke in the Asymptomatic Carotid Emboli Study (ACES): a prospective observational study. **Lancet neurology**, v. 9, p.663–671, 2010.

MARKUS, H.; CULLINANE M. Severely impaired cerebrovascular reactivity predicts stroke and TIA risk in patients with carotid artery stenosis and occlusion. **Brain**, v.124, p.457-467, 2001.

MARTIJN, P. V. D. H; HILLEKE, E. H. P. Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. **European Neuropsychopharmacology**, v. 20, 2010.

MATHIESEN, E.B; JOAKIMSEN, O.; BØNAA, K. H. Prevalence of and risk factors associated with carotid artery stenosis: The Tromsø Study. **Cerebrovasc Dis**, v.12, p.44-51, 2001.

MAZZETTO-BETTI, K. C. **Estudo da vasorreatividade cerebral em pacientes com estenose carotídea através de ressonância magnética funcional** [tese]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 2013.

MAZZETTO-BETTI, K. C. et al. Quantification of BOLD fMRI parameters to infer cerebrovascular reactivity of the middle cerebral artery. **J Magn Reson Imaging**, v. 27, 2012.

MEIKE, W. et al. Total Cerebral Blood Flow and Total Brain Perfusion in the General Population: The Rotterdam Scan Study. **Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism**, v. 28, n 2, p. 412 – 419, 2007.

MENON, V. Salience network. In: Arthur W. Toga, editor. Brain Mapping: **An Encyclopedic Reference**, v. 2, p. 597-611. Academic Press: Elsevier, 2015.

MILNER, B. Interhemispheric differences in the localization of psychological processes in man. **British Medical Bulletin**, v.3, p.272-277, 1971.

MITSCHELEN, M., et al. Basal and hypercapnia-altered cerebrovascular perfusion predict mild cognitive impairment in aging rodents. **Neuroscience**, v. 164, n. 3, p. 918-28, 2009.

MORONI, F. et al. Carotid atherosclerosis, silent ischemic brain damage and brain atrophy: A systematic review and meta-analysis. **International journal of cardiology**, v. 223, p.681–687, 2016.

MOSER, D.J. et al. **Cerebral blood flow and neuropsychological functioning in elderly vascular disease patients**. J Clin Exp Neuropsychol, v.34, n.2, 2012.

MURMAN, D.L. The impact of age on cognition. **Seminars in Hearing**. V.36, n.3, p.111-121, 2015.

MUTSAERTS, H. J. M. M.; van Dalen, J.W.; Heijtel, D. F. R.; Groo, P. F. C., et al. Cerebral Perfusion Measurements in Elderly with Hypertension Using Arterial Spin

O’SULLIVAN M. et al. Patterns of cerebral blood flow reduction in patients with ischemic

leukoaraiosis. **Neurology**, v.59, p. 321-6, 2002.

OGAWA, S.; LEE, T. M.; KAY, A. R.; TANK, D. W. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. **Proc Natl Acad Sci USA**, v.87, p.9868-9872, 1990.

OKAZAWA, H.; YAMAUCHI, H.; SUGIMOTO, K.; TAKAHASHI, M. Differences in vasodilatory capacity and changes in cerebral blood flow induced by acetazolamide in patients with cerebrovascular disease. **J Nucl Med**, v.44, p.1371-1378, 2003.

PAIVA, F. F., et al. Measurement of cerebral perfusion territories using arterial spin labelling. **NMR Biomed**, v. 20, n. 7, p. 633-42, 2007.

PANTONI, L.; GARCIA, J. H. Pathogenesis of leukoaraiosis: a review. **Stroke**, v. 28, p.652-9, 1997.

Petcharunpaisan, S.; Ramalho, J.; Castillo, M. Arterial spin labeling in neuroimaging. **World J Radiol**, v.2, n.10, 2010.

POTTER, G. M. et al. Lack of association of white matter lesions with ipsilateral carotid artery stenosis. **Cerebrovascular diseases**, v.33, p. 378–384, 2012.

RADEK, P. The frontoparietal attention network of the human brain: action, saliency, and a priority map of the environment. *The Neuroscientist*, v. 18, n. 5, p. 502–515, 2012.

REITZ, C.; TANG, M.X.; LUCHSINGER, J.; MAYEUX, R. Relation of plasma lipids to Alzheimer disease and vascular dementia. **Arch Neurol**. v.61, p.705–714, 2004.

REY, A. **Teste de cópia e de reprodução de memória de figuras geométricas complexas**: Manual. São Paulo: Casa do Psicólogo, 1999.

RILEY, K.P.; SNOWDON, D.A.; MARKESBERY, W.R. Alzheimer's neurofibrillary pathology and the spectrum of cognitive function: Findings from the Nun Study. **Annals of Neurology**. v.51, p. 567–77, 2002.

ROC, A. C.; WANG, J.; ANCES, B. M.; LIEBESKIND, D. S.; KASNER, S. E.; DETRE, J. A. Altered hemodynamics and regional cerebral blood flow in patients with hemodynamically significant stenoses. **Stroke**, v. 37, n. 2, p. 382–387, 2006.

ROSTRUP, E.; LAW, I.; BLINKENBERG, M. et al., Regional differences in the CBF and BOLD responses to hypercapnia: a combined PET and fMRI study, **NeuroImage**, v. 11, n. 2, p. 87–97, 2000.

SACCO, R. L.; KARGMAN, D. E.; GU, Q.; ZAMANILLO, M. C. Race-ethnicity and determinants of intracranial atherosclerotic cerebral infarction. The Northern Manhattan Stroke Study. **Stroke**, v.26, p.14-20, 1995.

SALTHOUSE, T. A. Selective review of cognitive aging. **Journal of the International Neuropsychological Society**, v.16, n.5, p. 754-760, 2010.

SCHMIDT, P. et al. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis., **Neuroimage**, v. 59, n. 4, p. 3774–83, 2012.

SCHWERTFEGER, N.; NEU, P.; SCHLATTMANN, P.; LEMKE, H.; HEUSER, I.; BAJBOUJ, M. Cerebrovascular reactivity over time course in healthy subjects. *Journal of the Neurological Sciences*, v. 249, n. 2, p. 135–139, 2006.

SENRA FILHO, C.; GARRIDO SALMON, C. E.; MURTA JUNIOR, L. O. Anomalous diffusion process applied to magnetic resonance image enhancement, **Phys. Med. Biol.**, v. 60, n. 6, p. 2355–2373, 2015.

SHIINO, A. et al. Estimation of cerebral perfusion reserve by blood oxygenation level-dependent imaging: comparison with single-photon emission computed tomography. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 23, n. 1, p. 121-35, 2003.

SILVESTRINI, M.; TROISI, E.; MATTEIS, M.; CUPINI, L. M.; CALTAGIRONE, C. Transcranial doppler assessment of cerebrovascular reactivity in symptomatic and asymptomatic severe carotid stenosis. **Stroke**, v. 27, n. 11, p. 1970–1973, 1996.

SILVESTRINI, M.; TROISI, E.; MATTEIS, M.; CUPINI, L. M.; CALTAGIRONE, C. Transcranial Doppler assessment of cerebrovascular reactivity in symptomatic and asymptomatic severe carotid stenosis. **Stroke**, v.27, p.1970-1973, 1996.

SILVESTRINI, M.; VERNIERI, F.; PASQUALETTI, P.; MATTEIS, M.; PASSARELLI, F.; TROISI, E.; CALTAGIRONE, C. Impaired cerebral vasoreactivity and risk of stroke in patients with asymptomatic carotid artery stenosis. **JAMA**, v.283, p.2122-2127, 2000.

SOTIRAS, C.; DAVATZIKOS; PARAGIOS, N. Deformable medical image registration: A survey, **IEEE Trans. Med. Imaging**, v. 32, n. 7, p. 1153–1190, 2013.

SPEDO, C. T.; FOSS, M. P.; GARCIA, R. B.; RIVERO, T.; RIBEIRO, G. N. A.; SANTOS, P. L.; FERREIRA, M.; BARREIRA, A. A. **Mini-Mental State Examination - 2nd Edition: study of adaptation in Brazil**. In Department of Neuroscience and Behavioral Science of the Medicine School of Ribeirao Preto. Ribeirao Preto: University of Sao Paulo, 2014.

SZTRIHA L. K.; NEMETH, D.; SEFCSIK, T.; VECSE, L. Carotid stenosis and the cognitive function. **Journal of the Neurological Sciences**, v.283, p.36-40, 2009.

TANCREDI, F. B.; GAUTHIER, C. J.; MADJAR, C. et al. Comparison of pulsed and pseudocontinuous arterial spin-labeling for measuring CO₂ -induced cerebrovascular reactivity. **J Magn Reson Imaging**. v. 36, n.2, p. 312-321, 2012.

TANCREDI, F. B.; HOGE, R. D. Comparison of cerebral vascular reactivity measures obtained using breath-holding and CO inhalation. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 10, 2013.

THOMAS, D. L., et al. In vivo measurement of the longitudinal relaxation time of arterial blood (T1a) in the mouse using a pulsed arterial spin labeling approach. **Magn Reson Med**, v. 55, n. 4, p. 943-7, 2006.

TOMBAUGH, T.N.; KOZAK, J.; REES, L. Normative data stratified by age and education for two measures of verbal fluency: FAS and animal naming. **Archives of Clinical Neuropsychology**, v.14, 1999.

TRENERRY, M.R.; CROSSON, B.; DEBOE, J.; LEBER, W.R. **The stroop neuropsychological screening test**. Odessa: Psychological Assessment Resources, 1989.

TUCKER, A. M, STERN Y. Cognitive reserve in aging. **Current Alzheimer research**. 2011;8(4):354-360.

TUSTISON, N. J. *et al.*, N4ITK: Improved N3 Bias Correction, **IEEE Trans. Med. Imaging**, v. 29, n. 6, p. 1310–1320, 2010.

VALK, J.; BARKHOF, F.; SCHELTENS, P. **Magnetic resonance in dementia**. Springer- Varlag Berlin Heidelberg, 200.

VAN DER ZANDE, F. H.; HOFMAN, P. A.; BACKES, W. H. Mapping hypercapnia-induced cerebrovascular reactivity using BOLD MRI. **Neuroradiology**, v. 47, n. 2, p. 114–120, 2005.

VORSTRUP, S.; HENRIKSEN, L.; PAULSON, O. B. Effect of acetazolamide on cerebral blood flow and cerebral metabolic rate for oxygen. **J Clin Invest**, v. 74, n. 5, p. 1634-9, 1984.

WANG, Z. et al. Empirical optimization of ASL data analysis using an ASL data processing toolbox: ASLtbx. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 26, n. 2, p. 261–269, 2008.

WEBSTER, M. W.; MAKAROUN, M. S.; STEED, D. L.; SMITH, H. A.; JOHNSON, D. W.; YONAS, H. Compromised cerebral blood flow reactivity is a predictor of stroke in patients with symptomatic carotid artery occlusive disease. **Journal of Vascular Surgery**, 21, n. 2, p. 338–344, 1995.

WECHSLER D. **Wechsler Adult Intelligence Scale**. Rev ed. New York, NY: The Psychological Corporation, 1981.

WINTERMARK, M., et al. Comparative overview of brain perfusion imaging techniques. **J Neuroradiol**, v. 32, n. 5, p. 294-314, 2005.

WINTERMARK, M.; SESAY, M.; BARBIER, E. et al. Comparative overview of brain perfusion imaging techniques. **Stroke**. v. 36, n. 9, p. e83-e99, 2005.

WITYK, R. J.; LEHMAN, D.; KLAG, M.; CORESH, J.; AHN, H.; LITT, B. Race and sex differences in the distribution of cerebral atherosclerosis. **Stroke**, v.27, p.1974-1980., 1996.

WONG, E. C. New developments in arterial spin labeling pulse sequences. **NMR Biomed**. v. 26, n. 8, p.887-891, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The global burden of disease**: 2004 update. Geneva, Switzerland: WHO Press, 2008.

WU, W. C.; FERNÁNDEZ-SEARA, M.; DETRE, J. A.; WEHRLI, F. W.; WANG, J. A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling. **Magn Reson Med**, v. 58, n.5, p. 1020-1027, 2007.

XU, G.; ROWLEY, H. A.; WU, G. et al. Reliability and precision of pseudo-continuous arterial spin labeling perfusion MRI on 3.0 T and comparison with 15 O-water PET in elderly subjects at risk for Alzheimer's disease. **NMR Biomed** v, 23, n. 3, 2009.

YANG, A. C.; TSAI, S.J; LIU, M.E; HUANG, C.C.; LIN, C.P. The association of aging with white matter integrity and functional connectivity hubs. **Frontiers in Aging Neuroscience**. v.8, 2016.

ZITOVÁ, B .; Flusser, J. Image registration methods: a survey. **Image Vis. Comput.**, v. 21, n. 11, p. 977–1000, 2003.

ZIYEH, S.; RICK, J.; REINHARD, M.; HETZEL, A.; MADER, I.; SPECK, O. Blood oxygen level-dependent MRI of cerebral CO₂ reactivity in severe carotid stenosis and occlusion. **Stroke**, v. 36, n. 4, p. 751–756, 2005.

ANEXO A. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Grupo Clínico**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****Título da Pesquisa: BIOMARCADORES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E PERFORMANCE COGNITIVA EM ESTENOSE CAROTÍDEA ASSINTOMÁTICA****Pesquisadores:**

Ms. Ana Paula Afonso Camargo. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-2839; Celular (16) 981394903;

Dr. Octávio Marques Pontes Neto. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-1147;

Dr^a. Renata Ferranti Leoni. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-2558;
Telefone CEP (Comitê de Ética em Pesquisa): (16) 3602-2228.

De que se trata este documento que estou lendo?

Este documento é um termo de consentimento, no qual serão abordadas todas as informações sobre o estudo. O pesquisador irá revisar as informações para ter certeza que o senhor / a senhora entendeu todas elas. Você pode fazer perguntas quando quiser. Se você concordar em participar do estudo, você terá que assinar este termo de consentimento e você terá uma cópia para guardar. Antes de receber as informações sobre o estudo é importante que o senhor / a senhora saiba dos seguintes detalhes:

- a) Sua participação é completamente voluntária;
- b) Você poderá decidir não participar do estudo quando quiser, sem perder o direito de receber os cuidados médicos de rotina, ou quaisquer outros benefícios aos quais tenha direito na assistência médica regular na clínica habitual, qualquer que seja sua decisão.

Porque está sendo feito este estudo?

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a circulação do cérebro e o funcionamento cognitivo de pessoas que apresentem alguma artéria do pescoço comprometida.

O que eu preciso fazer se eu decidir participar do estudo?

Se concordar em participar do estudo, o senhor / a senhora deverá autorizar o pesquisador a analisar os dados sobre sua saúde no seu prontuário médico. Deverá

então, comparecer ao Hospital das Clínicas, do Campus, por dois dias, cujos quais serão agendados pelo pesquisador.

No primeiro dia agendado, o pesquisador irá fazer algumas perguntas sobre sua saúde e sobre os remédios que utiliza. Além disso, será realizado um exame de ultrassom parecido com aquele feito na barriga das grávidas para ver o bebê, mas no seu caso será colocado o instrumento no pescoço e na cabeça, para ver alguns vasos sanguíneos. O exame irá durar, em média, 20 minutos. Você não sentirá nenhuma dor durante o exame.

No segundo dia será realizado um exame na máquina de Ressonância Magnética. Esse aparelho tem a forma de um grande tubo de metal, largo, com uma abertura por onde o senhor (a) entrará deitado (a) de barriga para cima. Essa máquina produz um campo magnético, como se fosse um ímã, que passa através do seu corpo sem desordenar ou prejudicar nenhuma parte dele. A função dela será de produzir imagens do seu cérebro, além de demonstrar o funcionamento dele. Nada disso será sentido e não estará fazendo nenhum mal à sua saúde.

Durante o exame, a máquina fará um barulho alto. Será também colocada uma cânula na parte de fora do seu nariz, pela qual sairá um ar durante algum tempo do exame, sendo que esse ar não causa nenhum mal para sua saúde. Não sentirá nenhuma dor durante o exame. Não é necessário que faça nada, além de permanecer o mais parado possível.

A permanência dentro da máquina será por um período médio de 45 minutos. O senhor / a senhora poderá ser retirado (a) a qualquer momento que sentir algum desconforto. Dependendo da roupa que estiver usando, poderá ser pedido a utilizar um roupão do Hospital, a fim de garantir seu conforto e não gerar nenhum problema nas imagens.

Neste mesmo dia o pesquisador, também, deverá fazer alguns testes, para avaliar a sua condição cognitiva, como memória, atenção, linguagem e funções executivas. Tal avaliação deverá ser realizada em um período médio de 1 hora e 30 minutos. Portanto, as avaliações equivalentes ao segundo dia totalizarão, em média, 2 horas e 15 minutos.

Quantas pessoas irão participar do estudo?

Participarão do estudo quarenta pessoas que apresentem comprometimento da artéria do pescoço e que não tiveram acidente vascular cerebral (AVC).

Porque eu fui escolhido para participar do estudo?

Um dos objetivos deste estudo é saber como está a circulação sanguínea cerebral e o funcionamento cognitivo de pessoas que apresentem comprometimento das artérias do pescoço. Se o senhor ou a senhora foi escolhido (a) é porque preenche este critério.

Quais são os riscos e desconfortos do estudo?

Algumas pessoas podem sentir-se desconfortáveis devido à máquina de ressonância magnética ser um tubo que produz ruídos, bem como devido à permanência, por um período de tempo de 45 minutos, sem se mexer.

Existem benefícios em participar deste estudo?

Sim. No seu caso os dados colhidos serão anexados ao seu prontuário do Hospital das Clínicas da FMRP e no caso da observação de alguma alteração nos exames, o senhor (a) será prontamente encaminhado para o serviço de saúde mais apropriado.

Existe alguma compensação financeira ou custos para mim?

O senhor (a) não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação neste estudo. Da mesma forma, o Sr. (a) não terá nenhuma despesa pessoal em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Durante o período de sua participação, a despesa relacionada ao transporte será reembolsada.

Como é protegida minha privacidade?

As informações coletadas neste estudo serão anexadas ao seu prontuário no Hospital das Clínicas, os médicos e outros profissionais autorizados a terem acesso ao prontuário terão acesso às informações. Além disto, estes dados serão vistos e analisados apenas pelos pesquisadores responsáveis por este estudo, os dados poderão ser comunicados para outros pesquisadores e médicos, mas sua identidade será mantida em sigilo. Nenhum dado que possa revelar sua identidade estará disponível para quaisquer pessoas ou em quaisquer textos ou publicações.

Os dados deste estudo são mantidos em um banco de dados do Centro de Ciências das Imagens da Física Médica, caso estes dados sejam consultados para outros estudos, o CEP será consultado, para ver a necessidade de se assinar um novo termo de consentimento, ou não.

Quem você deve procurar caso tenha problemas ou perguntas.

Caso o senhor / a senhora tenha perguntas, dúvidas ou qualquer outra informação que deseje saber a respeito deste estudo, poderá procurar os pesquisadores aqui citados, Ana Paula Afonso Camargo (telefones 3602-2839; 981394903) ou Dr. Octávio Marques Pontes Neto (telefone 3602-1147), ou ainda, o Comitê de Ética em Pesquisa (telefone 3602-2228).

Uma via deste documento, assinada pelo pesquisador, deverá ser devolvida ao senhor (a) e uma segunda via ficará arquivada com o pesquisador.

Assinaturas

Os detalhes deste estudo foram explicados a você, que teve a oportunidade de fazer todas as perguntas ao pesquisador. Se tiver lido o consentimento livre e esclarecido (ou se ele tiver sido explicado para você), tiver entendido a informação e concordar voluntariamente em participar deste estudo, por favor, assine abaixo:

Nome do Voluntário
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura do Voluntário

Data: ____/____/____

Nome da Testemunha
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura da Testemunha

Data: ____/____/____

Declaração do Pesquisador

Declaro que revisei este estudo e o formulário de consentimento com o participante. Segundo meu entendimento, ele compreendeu os objetivos, os procedimentos, riscos e benefícios do estudo.

Nome do Pesquisador
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura do Pesquisador

Data: ____/____/____

ANEXO B. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ao Grupo Controle

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: BIOMARCADORES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E PERFORMANCE COGNITIVA EM ESTENOSE CAROTÍDEA ASSINTOMÁTICA

Pesquisadores:

Ms. Ana Paula Afonso Camargo. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-2839; Celular (16) 981394903;

Dr. Octávio Marques Pontes Neto. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-1147;

Dr^a. Renata Ferranti Leoni. Depto. de Neurociência e Ciência do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil. Telefone: (16) 3602-2558;

Telefone CEP (Comitê de Ética em Pesquisa): (16) 3602-2228.

De que se trata este documento que estou lendo?

Este documento é um termo de consentimento, no qual serão abordadas todas as informações sobre o estudo. O pesquisador irá revisar as informações para ter certeza que o senhor / a senhora entendeu todas elas. Você pode fazer perguntas quando quiser. Se você concordar em participar do estudo, você terá que assinar este termo de consentimento e você terá uma cópia para guardar. Antes de receber as informações sobre o estudo é importante que o senhor / a senhora saiba dos seguintes detalhes:

- c) Sua participação é completamente voluntária;
- d) Você poderá decidir não participar do estudo quando quiser, sem perder o direito de receber os cuidados médicos de rotina, ou quaisquer outros benefícios aos quais tenha direito na assistência médica regular na clínica habitual, qualquer que seja sua decisão.

Porque está sendo feito este estudo?

O senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que tem como objetivo avaliar a circulação do cérebro e o funcionamento cognitivo de pessoas que apresentem alguma artéria do pescoço comprometida.

O que eu preciso fazer se eu decidir participar do estudo?

Se concordar em participar do estudo, o senhor / a senhora deverá autorizar o pesquisador a analisar os dados sobre sua saúde no seu prontuário médico. Deverá então, comparecer ao Hospital das Clínicas, do Campus, por dois dias, cujos quais serão agendados pelo pesquisador.

No primeiro dia agendado, o pesquisador irá fazer algumas perguntas sobre sua saúde e sobre os remédios que utiliza. Além disso, será realizado um exame de ultrassom parecido com aquele feito na barriga das grávidas para ver o bebê, mas no seu caso será colocado o instrumento no pescoço e na cabeça, para ver alguns vasos sanguíneos. O exame irá durar, em média, 20 minutos. Você não sentirá nenhuma dor durante o exame.

No segundo dia será realizado um exame na máquina de Ressonância Magnética. Esse aparelho tem a forma de um grande tubo de metal, largo, com uma abertura por onde o senhor (a) entrará deitado (a) de barriga para cima. Essa máquina produz um campo magnético, como se fosse um ímã, que passa através do seu corpo sem desordenar ou prejudicar nenhuma parte dele. A função dela será de produzir imagens do seu cérebro, além de demonstrar o funcionamento dele. Nada disso será sentido e não estará fazendo nenhum mal à sua saúde.

Durante o exame, a máquina fará um barulho alto. Será também colocada uma cânula na parte de fora do seu nariz, pela qual sairá um ar durante algum tempo do exame, sendo que esse ar não causa nenhum mal para sua saúde. Não sentirá nenhuma dor durante o exame. Não é necessário que faça nada, além de permanecer o mais parado possível.

A permanência dentro da máquina será por um período médio de 45 minutos. O senhor / a senhora poderá ser retirado (a) a qualquer momento que sentir algum desconforto. Dependendo da roupa que estiver usando, poderá ser pedido a utilizar um roupão do Hospital, a fim de garantir seu conforto e não gerar nenhum problema nas imagens.

Neste mesmo dia o pesquisador, também, deverá fazer alguns testes, para avaliar a sua condição cognitiva, como memória, atenção, linguagem e funções executivas. Tal avaliação deverá ser realizada em um período médio de 1 hora e 30 minutos. Portanto, as avaliações equivalentes ao segundo dia totalizarão, em média, 2 horas e 15 minutos.

Quantas pessoas irão participar do estudo?

Participarão do estudo dez pessoas que não apresentem comprometimento da artéria do pescoço e que não tiveram acidente vascular cerebral (AVC).

Porque eu fui escolhido para participar do estudo?

Um dos objetivos deste estudo é saber como está a circulação sanguínea cerebral e o funcionamento cognitivo de pessoas saudáveis, que não apresentem comprometimento das artérias do pescoço. Se o senhor ou a senhora foi escolhido (a) é porque preenche este critério.

Quais são os riscos e desconfortos do estudo?

Algumas pessoas podem sentir-se desconfortáveis devido à máquina de ressonância magnética ser um tubo que produz ruídos, bem como devido à permanência, por um período de tempo de 45 minutos, sem se mexer.

Existem benefícios em participar deste estudo?

Sim. No seu caso os dados colhidos serão anexados ao seu prontuário do Hospital das Clínicas da FMRP e no caso da observação de alguma alteração nos exames, o senhor (a) será prontamente encaminhado para o serviço de saúde mais apropriado.

Existe alguma compensação financeira ou custos para mim?

O senhor (a) não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação neste estudo. Da mesma forma, o Sr. (a) não terá nenhuma despesa pessoal em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Durante o período de sua participação, a despesa relacionada ao transporte será reembolsada.

Como é protegida minha privacidade?

As informações coletadas neste estudo serão anexadas ao seu prontuário no Hospital das Clínicas, os médicos e outros profissionais autorizados a terem acesso ao prontuário terão acesso às informações. Além disto, estes dados serão vistos e analisados apenas pelos pesquisadores responsáveis por este estudo, os dados poderão ser comunicados para outros pesquisadores e médicos, mas sua identidade será mantida em sigilo. Nenhum dado que possa revelar sua identidade estará disponível para quaisquer pessoas ou em quaisquer textos ou publicações.

Os dados deste estudo são mantidos em um banco de dados do Centro de Ciências das Imagens da Física Médica, caso estes dados sejam consultados para outros estudos, o CEP será consultado, para ver a necessidade de se assinar um novo termo de consentimento, ou não.

Quem você deve procurar caso tenha problemas ou perguntas.

Caso o senhor / a senhora tenha perguntas, dúvidas ou qualquer outra informação que deseje saber a respeito deste estudo, poderá procurar os pesquisadores aqui citados, Ana Paula Afonso Camargo (telefones 3602-2839; 981394903) ou Dr. Octávio Marques Pontes Neto (telefone 3602-1147), ou ainda, o Comitê de Ética em Pesquisa (telefone 3602-2228).

Uma via deste documento, assinada pelo pesquisador, deverá ser devolvida ao senhor (a) e uma segunda via ficará arquivada com o pesquisador.

res, deverá ser devolvida ao senhor (a) e uma segunda via ficará arquivada com a pesquisadora.

Assinaturas

Os detalhes deste estudo foram explicados a você, que teve a oportunidade de fazer todas as perguntas aos pesquisadores. Se tiver lido o consentimento livre e esclarecido (ou se ele tiver sido explicado para você), tiver entendido a informação e concordar voluntariamente em participar deste estudo, por favor, assine abaixo:

Nome do Voluntário
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura do Voluntário

Data: ____/____/____

Nome da Testemunha
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura da Testemunha

Data: ____/____/____

Declaração do Pesquisador

Declaro que revisei este estudo e o formulário de consentimento com o participante. Segundo meu entendimento, ele compreendeu os objetivos, os procedimentos, riscos e benefícios do estudo.

Nome do Pesquisador
(impresso ou em letra de forma)

Assinatura do Pesquisador

Data: ____/____/____