UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

BRENO WILLIAM CORRÊA DOS SANTOS

**Ressonância magnética quantitativa das alterações
estruturais do corpo caloso na doença de Alzheimer e no
comprometimento cognitivo leve**

RIBEIRÃO PRETO
2017

BRENO WILLIAM CORRÊA DOS SANTOS

**Ressonância magnética quantitativa das alterações
estruturais do corpo caloso na doença de Alzheimer e no
comprometimento cognitivo leve**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para titulação
de Mestrado Profissional.

Área de concentração: Radiologia Diagnóstica

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos dos Santos

Versão corrigida

**RIBEIRÃO PRETO
2017**

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.

Santos, Breno C.

Ressonância magnética quantitativa das alterações estruturais do corpo caloso na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve, 2017.

37 p.

Dissertação de mestrado profissional apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Área de concentração: Radiologia diagnóstica.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos

1. Doença de Alzheimer; 2. Corpo caloso; 3. Comprometimento cognitivo leve

SANTOS BC. Ressonância magnética quantitativa das alterações estruturais do corpo caloso na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para titulação de Mestrado Profissional. Área de Concentração: Radiologia diagnóstica.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Assinatura: _____

Dedico este trabalho a minha família, pelo apoio incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos que nos anos de convivência, muito me ensinou, contribuindo para meu crescimento científico e intelectual.

A todos aqueles que nos momentos mais difíceis estiveram ao meu lado e assim contribuíram de alguma forma com a elaboração e conclusão deste trabalho;

Resumo

SANTOS BC. **Ressonância magnética quantitativa das alterações estruturais do corpo caloso na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve.** 2017. 38p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

Objetivo: Avaliar a atrofia do corpo caloso (CC) em pacientes com doença de Alzheimer (DA) e comprometimento cognitivo leve (CCL) e quantificar quais regiões dessa estrutura são mais acometidas nessa doença como uso de técnicas quantitativas de ressonância magnética.

Metodologia: O estudo contou com a participação de 75 indivíduos sendo 22 controles normais (CN), 30 com CCL e 23 com DA. O volume total do corpo caloso e suas 3 diferentes sub regiões foram delimitadas em cortes sagitais de imagem de ressonância magnética. Os volumes obtidos foram corrigidos para a variação de volume intracraniano. As mascaras foram co-registradas a mapas de relaxometria e transferência de magnetização para análise quantitativa.

Resultados: Encontramos atrofia e redução dos valores de relaxometria e transferência de magnetização nos pacientes do grupo DA. As tres sub regiões do corpo caloso apresentaram redução de volume na doença sendo que a atrofia foi maior nas regiões anteriores. Não encontramos diferença significativa nos parâmetros estudados entre CCL e CN.

Conclusões: Embora o corpo caloso esteja envolvido no processo de desconexão cortical presente na doença de Alzheimer seu envolvimento não é precoce.

Palavras Chave: Doença de Alzheimer, Corpo caloso, Comprometimento cognitivo leve.

Abstract:

SANTOS BC. **Quantitative MRI of structural changes of the corpus callosum in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment.** 2017. 38p. - [Dissertation] Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo.

Objective: To evaluate the atrophy of the corpus callosum (CC) in patients with Alzheimer's disease (AD) and mild cognitive impairment (CCL) and quantify which regions of this structure are most affected in this disease as using quantitative MRI techniques.

Methodology: The study counted on the participation of 75 individuals being 22 normal controls (CN), 30 with CCL and 23 with AD. The total volume of the corpus callosum and its 3 different sub regions were delimited in sagittal sections of magnetic resonance imaging. The volumes obtained were corrected for intracranial volume variation. The masks were recorded with maps of relaxometry and transfer of magnetization for quantitative analysis.

Results: We found atrophy and reduced values of relaxometry and magnetization transfer in patients in the AD group. The three sub regions of the corpus callosum showed volume reduction in the disease, with atrophy being greater in the anterior region. We found no significant difference in the parameters studied between CCL and CN.

Conclusions: Although the corpus callosum is involved in the process of cortical detachment present in Alzheimer's disease, its involvement is late.

Key words: Alzheimer disease, Corpus callosum, Mild cognitive impairment.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DA : Doença de Alzheimer

CCL: Comprometimento Cognitivo Leve

CN: Controles Normais

RLX: Relaxometria

MTR: Razão de transferência de magnetização

CC: Corpo Caloso

SB: Substância Branca

SC: Substância cinzenta

APP: Proteína precursora de amiloide

RM: Ressonância Magnética

Sumário

1 – Resumo.....	13
2 – Introdução.....	14
3 – Objetivos.....	20
4 – Metodologia.....	21
5 – Estatística.....	25
6 – Considerações éticas.....	25
7 – Resultados.....	26
8 – Discussão.....	30
9 – Referências bibliográficas.....	33

1. RESUMO

A doença de Alzheimer (DA) é o tipo mais comum de demência acometendo o idoso, com prevalência alta acima de 65 anos, atingindo cerca de 20% dos indivíduos em faixas etárias maiores que 80 anos. O comprometimento cognitivo leve (CCL) é um estado no qual os indivíduos apresentam deterioração cognitiva mais acentuada que a observada no envelhecimento normal, mas não profunda o suficiente para serem caracterizadas como demência. Estes indivíduos, mesmo sem apresentar uma evolução inexorável para DA, têm uma probabilidade superior à do idoso normal de desenvolver a doença. A DA acomete primariamente a região temporal mesial (córtex entorrinal e hipocampo), evoluindo para o restante do lobo temporal e, posteriormente, para o lobo parietal e frontal, terminando por envolver o cérebro como um todo, nas fases tardias. Nos indivíduos com DA observa-se redução de volume do corpo caloso (CC), provavelmente pelo comprometimento de áreas associativas corticais e deterioração de fibras comissurais inter-hemisféricas. A estratificação do CC em sub-regiões pode ajudar na compreensão da fisiopatologia da progressão da doença e do mecanismo de lesão da substância branca (SB) pelo reconhecimento precoce de alterações em tratos específicos de SB. Assim o **objetivo** deste projeto é quantificar e topografar as alterações volumétricas e analisar as alterações teciduais do corpo caloso e suas sub-regiões em indivíduos com DA e CCL, utilizando técnicas quantitativas de ressonância magnética (RM) .

2. Introdução

A doença de Alzheimer foi descrita no começo do século XX pelo neurologista alemão Alois Alzheimer (Selkoe & Podlisny, 2002). Trata-se de uma doença neurodegenerativa lentamente progressiva, de início insidioso sendo que a probabilidade de ocorrência eleva-se com o aumento da idade. No mundo, são mais de 24 milhões de casos registrados sendo esperado que este número seja quatro vezes maior em 2050 (Reitz 2014).

Não se conhece a etiologia dessa enfermidade, acreditando-se que, depois do envelhecimento, o principal fator de risco é a presença de doentes na família, o que sugere, predisposição genética para o aparecimento da doença. Alterações patológicas idênticas às observadas na doença de Alzheimer, mas muito mais precoces, são detectadas nos indivíduos com trissomia do cromossomo 21, o que fortalece a hipótese da predisposição genética. A prevalência de demência em portadores de síndrome de Down alcança 5% a 10% acima da quinta década de vida e aproximadamente 40 a 50% a partir da sexta década de vida. No caso da forma familiar vários loci gênicos estão envolvidos, sendo encontradas mutações gênicas nos cromossomos 1, 14 e 21 (Forlenza & Caramelli, 2000, Teipel et al, 2003b).

A confirmação do diagnóstico não é simples, pois a apresentação clínica é heterogênea, confundindo-se por vezes com outras demências. Como sintoma inicial, os pacientes apresentam declínio sutil da memória. Com o decorrer do tempo ocorrem mudanças na personalidade, deterioração da linguagem podendo ocorrer agnosia visual, apraxia ou afasias, os quais constituem sintomas indicativos de deterioração progressiva da função cortical (Braak & Braak, 1997). Os déficits cognitivos são progressivos, sendo comprometidas as funções sociais e a capacidade de trabalho. Com o avanço da doença há desenvolvimento de perdas graves nos domínios cognitivos, intelectual e funcional, até o estágio em que a pessoa se torna

muda, incontinente e incapaz de deambular. A maioria dos pacientes acaba falecendo por complicações clínicas secundárias como pneumonias de repetição (Selkoe, 2004). O diagnóstico na fase inicial é mais difícil, o que levou à tentativas de padronização dos testes para o diagnóstico clínico da DA pela Academia Brasileira de Neurologia, que propôs a utilização dos seguintes instrumentos: 1. Mini-Exame do Estado Mental para a avaliação cognitiva global; 2. CERAD para a avaliação da memória (recordação tardia de objetos apresentados); 3. teste de trilhas ou extensão de dígitos para avaliação da atenção; 4. teste de nomeação de Boston para avaliação da linguagem; 5. desenho do relógio, ADAS-Cog ou NEUROPSI para teste de funções executivas, habilidades construtivas, conceituação e abstração; 6. IQCODE, o questionário de Pfeffer ou a escala Bayer de atividades da vida diária. Recomenda-se a utilização combinada de instrumentos de avaliação cognitiva e de escalas de avaliação funcional (Nitrini et al, 2005).

O termo comprometimento cognitivo leve (CCL) é usualmente utilizado tanto em pesquisa, quanto na prática clínica para classificar indivíduos com declínio de suas funções cognitivas com déficits mensuráveis, representando assim uma síndrome clínica que engloba pessoas que não preenchem critérios para demência mas que apresentam alto risco de progressão para a doença.

Para sua caracterização é importante que os indivíduos não preencham critérios para síndrome demencial (DSM-4) e mantenham preservadas as atividades básicas de vida diária. O CCL é uma síndrome clínica heterogênea que pode apresentar etiologias distintas tais quais degenerativa, vascular, traumática, metabólica e psiquiátrica entre outras. De acordo com o domínio cognitivo afetado esses indivíduos podem ser subclassificados em quatro grandes grupos: amnésicos, não amnésicos de domínio único, comprometimento de múltiplos domínios amnésico e comprometimento de múltiplos domínios não amnésico.

Muito embora o CCL possa ser considerado um estágio pré Alzheimer, alguns indivíduos não desenvolvem a doença, parecendo não haver uma evolução inexorável. É de grande interesse clínico estabelecer marcadores prognósticos da evolução do CCL na tentativa de barrar a progressão da doença (Modrego, 2005).

As alterações histopatológicas encontradas na DA se caracterizam pela presença de placas senis e emaranhados neurofibrilares, alterações que se desenvolvem antes mesmo do início dos sinais clínicos (Wang et al, 2006). Estes achados não são exclusivas da DA, sendo encontradas também em indivíduos idosos sadios. A diferença está na intensidade de ocorrência e na distribuição anatômica dessas anormalidades, sendo o exame histopatológico o único método diagnóstico definitivo (Kumar et al, 2005). As placas senis são compostas por uma gama de proteínas (citocinas, alfa 1 antiqumiotripsina e apolipoproteínas) sendo que o componente dominante do núcleo da placa é a substância beta-amilóide, peptídeo derivado do processamento da proteína precursor de amilóide (APP), cujo gene localiza-se no cromossomo 21. A APP é uma glicoproteína de membrana de função indeterminada (Selkoe & Podlisny, 2002; Kumar et al, 2005). Quando clivada pela beta e gama secretase, a APP produz beta-amilóide, peptídeo pouco solúvel e de difícil degradação. Este acaba por se acumular no espaço extracelular ativando a micróglia e provocando reação astrocitária, por fim causando morte neuronal. Aparentemente a patologia surge quando alguma alteração no aparato bioquímico determina maior ação da beta e gama secretase ou maior expressão do precursor APP. Os emaranhados neurofibrilares são filamentos helicoidais compostos principalmente por formas hiperfosforiladas da proteína Tau. Essa proteína está associada aos microtúbulos promovendo a polimerização da tubulina e estabilização dos microtúbulos axonais. O gene responsável por sua expressão encontra-se no braço longo do cromossomo 17 (Hasegawa,

2006). Essas fibras comportam-se de forma anormal no cérebro doente levando a morte neuronal. Ainda é desconhecido o mecanismo que desencadeia a formação das placas senis e dos emaranhados.

As alterações patológicas originam-se primeiramente na região temporal mesial do córtex entorrinal e hipocampo posteriormente disseminando-se por todo o córtex límbico e associativo. A lesão neuronal e a perda de densidade sináptica inviabilizam os circuitos neuronais necessários para o processo de recuperação de memórias e aprendizado. É consenso que as primeiras mudanças bioquímicas surgem anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas. Por essa razão o rastreamento dessas alterações é fundamental para o diagnóstico precoce da DA (Selkoe, 2004). Os estudos de morfometria realizados in vivo usando imagens de ressonância magnética (RM) demonstraram redução volumétrica tanto da substância branca como da substância cinzenta em pacientes com DA, comparados com controles normais idosos (Chain et al, 2007). Embora a doença comprometa predominantemente a substância cinzenta (SC), anomalias microestruturais tais como a perda de axônios, de oligodendrócitos e de mielina, podem ser detectadas na substância branca (SB) (Bigler et al., 2002; Duan et al., 2006). O corpo caloso é a maior comissura cerebral, composto por aproximadamente 200 milhões de fibras inter-hemisféricas, a maioria das quais conectando regiões homólogas do cérebro. Estudos baseados em RM demonstraram que alterações do corpo caloso estão diretamente relacionadas a alterações de cognição e comportamento (Ota. et al., 2006). Sabe-se que processos patológicos como a DA ou o próprio envelhecimento implicam atrofia dessa comissura. Na DA ocorre destruição das grandes células piramidais das camadas III e V, principalmente das regiões associativas. Trata-se, portanto, de uma perda de neurônios da região do neocórtex que teria por consequência a degradação dos axônios comissurais, processo denominado de degeneração Walleriana (Bozzali et al., 2002; Hampel et. al.,1998).

Assim, o reconhecimento de um padrão de atrofia do corpo caloso pode servir como um marcador de degeneração cortical das regiões interconectadas por essas fibras na progressão da DA (Hampel et al., 1998; Teipel et al., 2003a; Chain et al., 2007). O CC é heterogêneo em sua microestrutura, e por essa razão sofre de maneira diferente com o processo de envelhecimento (Ota et al., 2006).

Alterações na integridade da substância branca podem ser quantificadas in vivo por meio de técnicas não invasivas baseadas em RM (Bartzokis et al, 2004), tais como DTI, relaxometria e razão de transferência de magnetização (MTR).

De forma geral as imagens de ressonância magnética podem ser ponderadas em T2 (tempo de relaxamento transversal) ou T1 (tempo de relaxamento longitudinal) sendo que o contraste da imagem dependerá da contribuição relativa de cada tecido.

Ilustração da obtenção do mapa de relaxometria

A relaxometria ou medida do tempo de relaxamento consiste em termos físicos na medida do tempo de relaxamento dos prótons de hidrogênio até seu estado basal após sua excitação por um pulso específico de radiofrequência. Dessa forma ao realizar o cálculo do tempo de relaxamento do tecido, podemos quantificar a variação do sinal de água na área de interesse.

Link com mapas

Mapas de relaxometria podem ser gerados tanto a partir de sequencias spin eco quanto sequencias gradiente eco sendo que nas ponderações gradiente eco o sinal está sujeito a ruídos resultantes da influencia de heterogeneidades do campo magnético.

Sendo assim, alterações tissulares que levem a variações do sinal de água podem ser medidas por essa técnica. No sistema nervoso central alterações patológicas como gliose, desmielinização ou edema estão relacionadas ao aumento de água intersticial sendo identificadas com hipersinal nas sequencias ponderadas em T2. Esse aumento de sinal pode então ser quantificado pela relaxometria, expressando-se com prolongamento do tempo de relaxamento T2. Sendo assim, alterações tissulares que levem ao aumento de água intersticial podem ser medidas por essa técnica. O aumento de água tissular é um achado inespecífico podendo corresponder a gliose, desmielinização, edema ou perda axonal.

A razão de transferência de magnetização (MTR) é uma técnica baseada na troca de magnetização entre as macromoléculas e as moléculas de água circundante, podendo fornecer uma medida indireta do grau de integridade das macromoléculas do tecido, que, no encéfalo, correspondem a esfingolípides e proteínas da mielina e membranas celulares. Assim, a MTR representa uma medida muito sensível de desmielinização (Ridha et al, 2007) e lesão axonal. Portanto, é razoável a hipótese de que a utilização da volumetria associada com relaxometria e MTR permitiria melhorar o entendimento do processo de lesão do corpo caloso, substância

branca adjacente e córtex, com potencial para contribuir para o entendimento da progressão da DA e do CCL.

Ilustração da obtenção do mapa de transferência de magnetização

3. Objetivos

Objetivo Principal:

Quantificar e topografar as alterações volumétricas e analisar as alterações teciduais do corpo caloso e suas sub-regiões em indivíduos com DA e CCL, utilizando técnicas quantitativas de ressonância magnética (RM) .

Objetivos Secundários:

Investigaremos se as alterações volumétricas do corpo caloso se correlacionam com alterações moleculares, que podem ser quantificadas por alterações da razão de transferencia de magnetização e do tempo de relaxamento.

Avaliaremos a existência de um padrão de envolvimento do corpo caloso na doença de Alzheimer e no comprometimento cognitivo leve atrofia e se há diferenças no envolvimento das sub-regiões do corpo caloso no processo de desconexão.

4. Metodologia

4.1 Aquisição de imagens

Os pacientes foram selecionados no ambulatório de Neurologia Comportamental (ANCP) do departamento de neurologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (Vale & Miranda, 2002), de acordo com projeto aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa do HCRP. As imagens utilizadas foram obtidas em um equipamento de 1.5 Tesla instalado no HCRP (modelo Magnetom Vision, Siemens).

4.2 Protocolo de exame na RM

1 – Volumetria: Sequência volumétrica gradiente-eco 3D (MPRAGE e SPGR, respectivamente) ponderada em T1, cobrindo todo o encéfalo e proporcionando voxel isotrópico de 1mm^3 , matriz de 256×256 pixels e campo de visão (FOV) de 256 mm.

2 – Transferência de Magnetização: um par de sequências gradiente-eco 3D (SPGR) no plano axial, sem e com pulso de saturação seletivo para o componente macromolecular.

3 – Relaxometria: Sequência Spin Eco com triplo eco (TR = 3000ms; TE = 22ms, 60ms e 120ms) com cortes axiais contíguos, sem intervalo.

4 – Imagem de difusão: Sequência ponderada em difusão com 32 direções, isotrópica, com voxel de $2 \times 2 \times 2$ mm., matriz 256×256 , TR de 9000ms, TE de 65ms e tensores de difusão de B_{zero} a B_{1000} .

4.3 Casuística

No grupo já estudado foram incluídos 70 indivíduos, 22 controles idosos normais (CN), 30 indivíduos com CCL e 23 pacientes com DA, classificados de acordo com resultados de avaliação neurológica e neuropsicológica.

A avaliação clínica e a classificação dos indivíduos em grupos foi realizada de acordo com extensivo protocolo adotado neste serviço. Os pacientes e voluntários foram submetidos a um breve questionário sobre os dados de identificação e queixa neuropsicológica, a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e a aplicação da classificação sócio-econômica. A seguir foi realizada a avaliação neuropsicológica com avaliação de Eficiência Intelectual, Atenção e Funções Executivas, Funções Mnésticas e Processos de Aprendizagem. Os indivíduos foram então divididos em três grupos:

- Controles Normais (NC): idosos sem comprometimento cognitivo significativo e que não preenchiam critérios para os demais grupos, com pontuação de zero na escala clínica de demência (clinical dementia rating - CDR).

- Comprometimento Cognitivo Leve (CCL): comprometimento da memória episódica, com preservação das demais funções cognitivas (CCL amnésico); comprometimento da memória e comprometimento de pelo menos um outro domínio (CCL amnésico - múltiplos domínios); comprometimento de múltiplos domínios cognitivos (linguagem, gnosis, praxias e funções executivas), sem comprometimento da memória (CCL não amnésico múltiplos domínios); comprometimento em uma única esfera cognitiva que não seja a memória (CCL não amnésico - único domínio). Pontuação na escala clínica de demência CDR 0,5.

- Doença de Alzheimer (DA): comprometimento da memória episódica e de pelo menos mais duas funções cognitivas (linguagem, funcionamento executivo, habilidades visuo-

construtivas e visuo-espaciais), segundo critérios do DSM-IV e do NINCDS-ADRD. Pontuação na escala clinica de demencia CDR 1.

4.4 Volumetria e pós processamento das imagens:

Foi realizada a segmentação manual das imagens sem o conhecimento prévio dos dados clínicos. Primeiramente realizamos a segmentação do corpo caloso em imagens volumétricas ponderadas em T1 utilizando cortes sagitais. O volume de interesse foi definido a partir da obtenção do corte central escolhido com base em referenciais anatomicos (imagens contendo o septo pelúcido, o aqueduto cerebral e o nucleo medial do tálamo). Definido o corte central foram desenhados manualmente 5 cortes de 1mm em cada hemisfério com um total de onze cortes de 1mm.

A partir de então extraímos os valores de volume da região de interesse através da contagem do número de voxels da estrutura, sendo que o volume de cada voxel corresponde a 1mm³.

Ilustração de segmentação do corpo caloso, com uso da ferramenta *Display*.

Em um segundo momento optamos por reduzir a região de interesse realizando a subdivisão do corpo caloso em três regiões distintas, definidas como anterior, média e posterior que correspondem, de forma aproximada, as regiões do joelho, do corpo e do

esplênio do corpo caloso respectivamente. O parâmetro utilizado para nortear essa divisão foi o estabelecimento de um segmento de reta ligando a porção mais anterior à porção mais posterior da região de interesse e a realização da divisão da estrutura em três partes iguais (Hanyu et al, 1999). Foram atribuídos rótulos diferentes a cada sub-região sendo possível a extração dos valores de volume.

Subdivisão do corpo caloso em região anterior central e posterior

A área de interesse foi segmentada manualmente com a utilização do pacote de software Display, desenvolvido no Montreal Neurological Institute (McGill University, Montreal, Canadá). O programa Display permite a visualização concomitante dos três planos ortogonais da imagem volumétrica (axial, sagital e coronal) e a possibilidade de delimitação de regiões de interesse por identificação de voxel, visível automaticamente nos três planos.

É de nosso conhecimento que o tamanho do cérebro dos diferentes indivíduos é variável e dessa forma o tamanho da região de interesse também apresenta variação individual o que pode resultar em interpretação equivocada dos dados.

Com o objetivo de eliminar a influencia que o fator tamanho da cabeça teria sobre o resultado final, os valores de volume foram corrigidos pela divisão do volume do corpo caloso

pelo volume intracraniano total. O mesmo procedimento foi adotado em relação às sub-regiões do corpo caloso.

O próximo passo consistiu na superposição dos mapas binários da região de interesse a mapas de razão de transferência de magnetização e de relaxometria. Todo o processamento foi feito de forma automática através do script “Auto_MTR”. Este script foi desenvolvido utilizando a linguagem PERL e o programa MincMath. O cálculo da TM foi realizado em estação de trabalho PC-Windows.

Para a realização da relaxometria foi utilizada uma ferramenta denominada Relaxom, que fornece um mapa relaxométrico pronto para análise quantitativa e visual. Esta ferramenta foi desenvolvida no centro de Imagens e Física Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

5. Estatística

Após a extração dos valores de relaxometria e transferência de magnetização foi então realizada a análise estatística dos dados.

Realizamos uma ANCOVA (análise de covariância) com 2 fatores, sendo grupo e sexo os fatores e idade a co-variável. Deste modo verificamos a influencia dos grupos já corrigindo, ajustando por sexo e idade. Quando houve diferença significativa entre os grupos aplicamos o teste post-hoc de Bonferroni. Adotamos como nível de significância $p \leq 0,05$.

6. Considerações Éticas

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP-FMRP-USP.

Os resultados do estudo serão comunicados em evento científico e publicados em periódico, sempre sendo preservado o anonimato dos pacientes e controles normais, de acordo com o previamente estabelecido no termo de consentimento.

7. Resultados

Tabela 1: Dados Demográficos

Grupo	CN	DA	CCL
Participantes	22	23	30
Idade média	69	73,5	69,5
Gênero	15F/7M	16F/7M	19F/10M

Tabela2. Volumetria, Relaxometria e Transferência de Magnetização do corpo caloso e sub regiões.

CORPO CALOSO	CN (média)	CCL (média)	DA (média)	P VALOR (DA – CN)
VOLUMETRIA				
VOLUME TOTAL	0,00481	0,004657	0,00396	< 0.01
ANTERIOR	0,00171	0,001730	0,00138	< 0.001
CENTRAL	0,00101	0,000949	0,00082	< 0.001
POSTERIOR	0,00199	0,001894	0,00169	< 0.06
RELAXOMETRIA				
RLX TOTAL	182,78	187,16	249,74	< 0.001
ANTERIOR	169,20	178,30	240,81	
CENTRAL	226,35	226,79	290,76	
POSTERIOR	169,69	174,39	237,78	
TRANSFERÊNCIA DE MAGNETIZAÇÃO				
MT TOTAL	25,96	26,06	21,14	< 0.001
ANTERIOR	26,22	25,72	20,56	< 0.001
CENTRAL	24,80	25,05	20,31	< 0.007

POSTERIOR	26,40	26,92	22,57	< 0.001
-----------	-------	-------	-------	---------

7.1 Quantificação volumétrica

Fig1: Ilustração da segmentação manual do corpo caloso. Fig.A representação do volume total. Fig B representação da segmentação em subregiões anterior central e posterior.

Gráfico 1: Análise volumétrica do corpo caloso. O volume total do CC representado em azul escuro. CN (controles normais), DA (doença de Alzheimer), CCL (comprometimento cognitivo leve). Observamos redução volumétrica significativa no grupo DA ($p < 0,01$). Não encontramos diferença na comparação entre o grupo CN e CCL. Quantificação volumétrica das sub regiões do corpo caloso: redução volumétrica significativa foi encontrada no segmento anterior e central do corpo caloso no grupo DA ($p < 0,001$). O segmento posterior do corpo caloso no grupo DA apresenta redução volumétrica ($p < 0,06$). Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo CN e o grupo CCL na análise das sub regiões.

7.2 Quantificação do tempo de relaxamento T2

Relaxometria

Gráfico 2: Quantificação do tempo de relaxamento T2: CN (controles normais), DA (doença de Alzheimer), CCL (comprometimento cognitivo leve). Encontramos prolongamento do tempo de relaxamento T2 significativo (volume total do CC representado em azul escuro) no grupo DA. Prolongamento significativo do tempo de relaxamento T2 foi evidenciado nas três subdivisões do corpo caloso dos indivíduos do grupo DA – anterior, central, posterior ($p < 0,001$). Não foram identificadas diferenças significativas entre CCL e CN.

Relaxometria

Gráfico 3: Histograma de frequência - quantificação do tempo de relaxamento T2 referente ao volume total do corpo caloso.

7.3 Razão de transferência de magnetização

Gráfico 4: Quantificação da razão de transferencia de magnetização: CN (controles normais), DA (doença de Alzheimer), CCL (comprometimento cognitivo leve). Encontramos redução significativa da razão de transferencia de magnetização no grupo DA ($p < 0,001$) no grupo DA. Redução significativa da razão de transferencia de magnetização foi evidenciada nas três subdivisões do corpo caloso dos indivíduos do grupo DA – anterior ($p < 0,001$) central ($p < 0,007$) posterior ($p < 0,001$). Não foram identificadas diferenças significativas entre CCL e CN.

Gráfico 5. Histograma de frequencia - quantificação de razão de transferencia de magnetização referente ao volume total do corpo caloso.

VIII. Discussão

Nosso estudo demonstrou presença de atrofia no corpo caloso em pacientes com DA assim como encontrado em estudos anteriores (Di Paola et al., 2010a; Frederiksen et al., 2011; Zhu et al., 2012, 2014). Acreditamos, como outros autores, que esta atrofia esteja relacionada da a degeneração das fibras do CC (Aboitiz et al., 1992; Riise and Pakkenberg, 2011).

Não encontramos atrofia no CC dos pacientes com CCL e da mesma forma não foram identificadas anormalidades microestruturais percebidas pela quantificação do tempo de relaxamento e pela razão de transferencia de magnetização neste grupo.

Nossos dados evidenciam um envolvimento seletivo das sub regiões do corpo caloso no processo degenerativo. Esse se dá de forma a comprometer primariamente suas regiões anteriores estando o seu aspecto mais posterior, que engloba o esplenio, relativamente poupado. A atrofia cortical é elemento central na DA e atrofia do corpo caloso pode estar diretamente relacionada a atrofia do córtex correspondente (Brun and Englund, 1981). É conhecido o envolvimento precoce dos lobos frontais e temporais na fisiopatologia da progressão da doença. Suas projeções interhemisféricas encontram-se primariamente no segmento anterior do corpo caloso, enquanto que pelo segmento posterior transitam fibras oriundas dos lobos occipitais que apresentam alterações em estágios finais da patologia.

Os resultados da literatura são inconclusivos em relação a esses achados. Há estudos que evidenciaram predominância da atrofia na região anterior do CC (Thomann et al., 2006; Zhu et

al., 2012) enquanto outros evidenciaram predomínio posterior (Hanyu et al., 1999; Wang et al., 2006). Parte das divergências se deve a questões metodológicas principalmente quanto a escolha do método de segmentação muita das vezes considerando apenas a medida da área e não de volume, quanto a forma de subdivisão do corpo caloso em regiões específicas e heterogeneidade dos grupos estudados (diferentes estágios de doença).

Detectamos ainda que a atrofia encontrada no grupo DA é acompanhada de importantes alterações microestruturais que são percebidas pelo prolongamento do tempo de relaxamento T2 e pela redução da razão de transferência de magnetização no CC dos pacientes desse grupo. O aumento do tempo de relaxamento T2 está associado ao aumento de água livre. Embora seja um achado inespecífico, o prolongamento do tempo de relaxamento T2 observado no CC dos pacientes do grupo DA é indicativo de que existe alteração sensível aos métodos de quantificação.

A determinação da taxa de transferência de magnetização como medida indireta do grau de integridade das macromoléculas que no CC serve como marcador da deterioração da mielina.

A redução da taxa de transferência de magnetização encontrada no grupo DA sugere que parte da redução volumétrica observada neste grupo está associada a deterioração da mielina destes axônios. Não foi possível estabelecer uma diferença significativa entre os valores obtidos no grupo controle e no grupo com comprometimento cognitivo leve.

Este fato é indicativo que a degradação da mielina não é um evento precoce, mas uma vez instalada a doença é um dos componentes associados a atrofia encontrada nessa região.

A análise das sub-regiões do corpo caloso também não evidenciou diferenças significativas entre o grupo CCL e o grupo controle.

Concluindo, encontramos atrofia no corpo caloso de pacientes com DA e essa atrofia está associada a degradação de mielina e ao aumento de água intersticial. Essas alterações não são

observáveis em pacientes com comprometimento cognitivo leve sugerindo que o corpo caloso esta estruturalmente preservado nos estágios iniciais da doença.

Acreditamos que o predomínio do envolvimento das regiões anteriores guarde relação com própria organização dos tratos comissurais. Embora o esplenio do corpo caloso tenha apresentado menor redução volumétrica em relação as demais regiões estudadas o comprometimento de sua microestrutura fica manifesto pelo prolongamento do tempo de relaxamento T2 e redução da razão de transferencia de magnetização.

XI. Referências bibliográficas:

ABE, O. et al. Topography of the Human Corpus Callosum Using Diffusion Tensor Tractography. *J Comput Assist Tomogr* 2004; v. 28, p.533–539.

ABOITIZ F, Montiel J. One hundred million years of interhemispheric communication: the history of the corpus callosum. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36:409-20.

ABOITIZ F, et al. Fiber composition of the human corpus callosum. *Brain Res* 1992;598:143-53

BARTZOKIS, G. et al. Heterogeneous age-related breakdown of white matter structural integrity: implications for cortical “disconnection” in aging and Alzheimer’s disease. *Neurobiology of Aging* 2004; v. 25, p.843–851.

BIGLER, E. D. et al. White matter lesions, quantitative magnetic resonance imaging, and dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2002; v.16, n.3, p.161-70.

BOZZALI, M. et al. White matter damage in Alzheimer’s disease assessed in vivo using diffusion tensor magnetic resonance imaging. *J. Nerol. Neurosurg. Psychiatry.* 2002; 72: 742-746.

BOZZAO, A. Et al. Diffusion and perfusion MR imaging in cases of Alzheimer’s Disease: correlations with cortical atrophy and lesion load. *Am J Neuroradiol.* 2001; 22: 1030–1036.

BRAAK, H.; BRAAK, E. Frequency of Stages of Alzheimer-Related Lesions in Different Age Categories. *Neurobiology of Aging*, 1997; 18 (4): 351–357.

CHAIN, M.T. et al. Volumetric reduction of the corpus callosum in Alzheimer's disease in vivo as assessed with voxel-based morphometry. *Psychiatric Research: Neuroimaging*. 2007; 154: 59-68.

CITRON, M. Alzheimer's disease: treatments in discovery and development. *Nature neuroscience supplement* Nov 2002; v. 5, p. 1055-1057.15

CITRON, M. b-Secretase inhibition for the treatment of Alzheimer's disease – promise and challenge. *Trends in Pharmacological Sciences* 2004; 25(2): 92-97.

DI PAOLA, M. et al. When, where, and how the corpus callosum changes in MCI and AD: a multimodal MRI study. *Neurology* 2010;74:1136-42

DORION, A. A. et al. Relationship between attentional performance and corpus callosum morphometry in patients with Alzheimer's disease. *Neuropsychologia*, 2002; 40: 946–956.

DUAN, J.H. et al. White matter damage of patients with Alzheimer's disease correlated with the decreased cognitive function. *Surg Radiol Anat*. 2006; 28: 150-156

FERRARESE, C., DI LUCA, M. Biological markers in Alzheimer disease. *Neurobiolging*. 2003; 24(1): 191-3.

FORLENZA, O. V., CARAMELLI, P. *Neuropsiquiatria Geriátrica*. São Paulo, Editora Ateneu, 1ª edição, 2000, p. 107-175.

FISCHL, B. et al. Whole brain segmentation: Automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* Jan 31;33(3):341-55. 2002.

FISCHL, B. et al. Sequence-Independent Segmentation of Magnetic Resonance Images. Submitted to *Neuroimage*. 2004.

FREDERIKSEN KS. et al. Corpus callosum atrophy in patients with mild Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 2011; 8: 476-82.

HAMPEL, H. et al. Corpus Callosum Atrophy Is a Possible Indicator of Region- and Cell Type-Specific Neuronal Degeneration in Alzheimer Disease: A Magnetic Resonance Imaging Analysis. *Arch Neurol*. 1998; 55: 193-198.

HAMPEL, H. et al. Corpus callosum measurement as an in vivo indicator for neocortical neuronal integrity, but not white matter pathology, in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2000; 903: 470-6.

HAMPEL, H. et al. Value of CSF b-amyloid and tau as predictors of Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment. *Molecular Psychiatry*. 2004; 9: 705-710.

HANYU, H. et al. Diffusion-weighted and magnetization transfer imaging of the corpus callosum in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*. 1999; 167(1): 37-44.

HASEGAWA, M. Biochemistry and molecular biology of tauopathies. *Neuropathology* 2006; 26: 484-490.

HENSEL, A. et al. Morphometry of the corpus callosum in patients with questionable and mild dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002; 73(1): 59-61.

HERRERA, E. et al. Epidemiologic Survey of Dementia in a Community-Dwelling Brazilian Population. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2002; 16 (2): 103-108.

[HTTP://surfer.nmr.mgh.harvard.edu](http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu)

IWATUBO, T. Tauopathy: An overview. *Neuropathology* 2006; 26: 455-456.

IWATUBO, T. et al. Visualization of AP42(43) and AP40 in Senile Plaques with End-Specific AP Monoclonals: Evidence That an Initially Deposited Species Is AP42(43). *Neuron* 1994; 13: 45-53.

KUMAR, V. et al. Robbins and Cotran - Bases Patológicas das Doenças, Philadelphia, Elsevier Saunders, 7ª ed., 2005, p. 1411-1486.

MODREGO, P.J.; FAYED, N.; PINA, M.A. Conversion From Mild Cognitive Impairment to Probable Alzheimer's Disease Predicted by Brain Magnetic Resonance Spectroscopy. *Am J Psychiatry* 2005; 162: 667–675.

NAGGARA, O. Diffusion tensor imaging in early Alzheimer's disease. *Psychiatry Res.* 2006; 146(3): 243-9.

NITRINI R. et al. Incidence of Dementia in a Community-Dwelling Brazilian Population. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2004; 18 (4): 241–246.

NITRINI R. et al. Diagnóstico de doença de Alzheimer no Brasil. *Arq Neuropsiquiatr.* 2005; 63 (3-A): 713-719.

OTA, M. et al. Age-related degeneration of corpus callosum measured with diffusion tensor imaging. *J. Neuroimage* 2006; 15; 31(4): 1445-52.

PETERSEN R.C. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine* 2004; 256: 183-194.

RIDHA, B.H. et al Quantitative magnetization transfer imaging in Alzheimer disease *Radiology*, 2007; 244 (3): 832-7.

RYBERG, C. et al. Clinical significance of corpus callosum atrophy in mixed elderly population. *J. Neurobiol. Aging*, 2007; 28(6): 955-63.

ROSE, S.E. et al. Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2000; 69(4): 528-30.

SELKOE, J.S.; PODLISNY, M.B. Deciphering the genetic basis of Alzheimer's Disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 2002; 3: 67–99.

SELKOE, J.S. Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure. *Science*. 2002; 298: 789-791.

SELKOE, D.J. Alzheimer Disease: Mechanistic Understanding Predicts Novel Therapies. *Ann Intern Med*. 2004; 140: 627-638.

TEIPEL, S.J. et al. Regional pattern of hippocampus and corpus callosum atrophy in Alzheimer's disease in relation to dementia severity: evidence for early neocortical degeneration. *Neurobiol Aging*. 2003; 24(1): 85-94.

TEIPEL, S.J. et al. Relation of Corpus Callosum and Hippocampal Size to Age in Nondemented Adults With Down's Syndrome. *Am J Psychiatry*. 2003; 160: 1870-1878.

TEIPEL, S.J. et al. Multivariate network analysis of fiber tract integrity in Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2007; 34: 985-995.

VALE, F.A.; MIRANDA, S.J. Clinical and demographic features of patients with dementia attended in a tertiary outpatient clinic. *Arq Neuropsiquiatr*. 2002; 60(3-A): 548-52.

XIE, S. et al. Voxel-based detection of white matter abnormalities in mild Alzheimer disease. *Neurology*. 2006; 66: 1845-1849.

WANG, P.J. et al. Regionally specific atrophy of the corpus callosum in AD, MCI and cognitive complaints. *Neurobiol Aging*. 2006; 27(11): 1613-7.

WANG, P.N. et al. Prediction of Alzheimer's disease in mild cognitive impairment: A prospective study in Taiwan. *Neurobiol Aging*. 2006; 27: 1797-1806

YAMAUCHI, H. et al. Comparison of the pattern of atrophy of the corpus callosum in frontotemporal dementia, progressive supranuclear palsy, and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000; 69(5): 623-9.

YOSHIDA, M. et al. Extent and distribution of white matter hyperintensities in normal aging, MCI, and AD. *Neurology*. 2006; 67: 2192- 8.

ZHU M, GaoW,Wang X, Shi C, Lin Z. Progression of corpus callosum atrophy in early stage of Alzheimer's disease: MRI based study. Acad Radiol 2012;19:512e7.