Fabíola Bezerra de Carvalho Macruz

**Estudo da correlação entre a razão de transferência de
magnetização e a volumetria em pacientes com lesão axonal
traumática**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Radiologia

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Claudia da Costa Leite

Coorientadora: Dr.^a Celi Santos Andrade

**São Paulo
2018**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Macruz, Fabíola Bezerra de Carvalho

Estudo da correlação entre a razão de
transferência de magnetização e a volumetria em
pacientes com lesão axonal traumática / Fabíola
Bezerra de Carvalho Macruz. -- São Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Radiologia.

Orientadora: Claudia da Costa Leite.

Coorientadora: Celi Santos Andrade.

Descritores: 1.Traumatismos craniocerebrais
2.Lesões encefálicas traumáticas 3.Lesão axonal
difusa 4.Diagnóstico por imagem 5.Imagem de
transferência de magnetização 6.Dano axonal/mielínico
7.Atrofia

USP/FM/DBD-466/18

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Dedicatória

Dedico esta tese aos três médicos mais importantes da minha vida: minha mãe, Valéria Bezerra de Carvalho, meu pai, Radi Macruz e meu avô, Severino Bezerra de Carvalho, pelos ensinamentos sobre o amor e o humanismo que sobrepujaram, em muito, os exemplos da excelência médica.

À minha amada irmã Andrea, grande companheira de vida e símbolo de perseverança e criatividade.

À querida madrinha, Magnólia Bezerra de Carvalho Lins, pela presença constante e amor incondicional.

Dedico ainda esta tese à Janete Costa, pela empatia natural e carinho instintivo e aos meus padrinhos Severiano Lins e Deocleciano Alves, extensões da figura paterna concedidas pela vida, como privilégio.

Agradecimientos

Agradeço à minha orientadora, Profa. Dra. Claudia da Costa Leite por me mostrar o valor da afinidade e sensatez, me lembrar a importância da confiança e franqueza e me ensinar a diferença entre um chefe e um líder.

À minha co-orientadora, Dra. Celi Andrade, pelos conhecimentos divididos mas sobretudo pela amizade, disponibilidade e gentileza.

Ao Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri, pelo incentivo, carinho e introdução ao mundo acadêmico. Sua convicção no constante renascimento intelectual através do contato com o corpo estudantil não apenas é inspirador, mas foi o alicerce do enriquecimento profissional mais significativo da minha carreira.

Ao Prof. Dr. Leandro Lucato pela humildade na transmissão dos conhecimentos e singular inteligência ao exigir dos pupilos um alto grau de excelência não através de intimidações, mas sim de admiração, respeito e simpatia.

À Dra. Paula Arantes, pelo aconselhamento, amizade e mentoria oferecidos diariamente ao longo desses anos, essenciais tanto para a minha formação como neurorradiologista e pesquisadora, quanto para o meu amadurecimento pessoal.

Aos físicos que trabalham diretamente com a equipe de radiologia do Inrad, Dra. Maria Concepción García Otaduy e Khallil Taverna Chaim, cuja paciência, empenho e conhecimento me foram fundamentais para a realização deste trabalho.

Ao Dr. Fabrício Feltrin, pela idealização e viabilização do projeto e minha inclusão nele, além da ajuda fundamental no recrutamento dos pacientes e realização dos exames.

Ao Dr. Vinícius de Monteiro de Paula Guirado e à Dra. Ana Luiza Zaninotto, que participaram ativamente da seleção, do atendimento e da avaliação dos pacientes inclusos neste estudo.

Ao Prof. Dr. Ram Rajagopal, pelo seu apoio incansável e mentoria altruística, que enriqueceram meus conhecimentos muito além da estatística e engenharia.

Ao Prof. Dr. Max Wintermark e Prof. Dr. Greg Zaharchuk pela acessibilidade e confiança, mas sobretudo pela infatigável e disciplinada apreciação da criatividade e excelência.

Aos colegas de laboratório, Professor Dr. Mehmet Kurt, Dra. Audrey Fan, Dr. Kevin Tse-Hsiang e ao mestre Yuan Chien, cujos conhecimentos de engenharia e programação colaboraram para o correto processamento dos dados.

À Profa Dra Mirian Harumi Tsunemi, cujos conhecimentos de estatística foram fundamentais para a análise precisa dos dados.

Agradeço ainda aos biomédicos(as), enfermeiros(as), recepcionistas e membros da equipe de assistência e pesquisa da ressonância magnética do Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas de São Paulo (INRAD-HC), pela

competência, disponibilidade e respeito aos pacientes inclusos nesta pesquisa.

Aos pacientes que se voluntariaram a participar do presente estudo e acreditaram que os conhecimentos provenientes desta pesquisa poderiam alterar a evolução natural da doença, fornecendo alguma esperança, mesmo que singela, para os que ainda sofrerão suas angústias.

Aos demais pesquisadores, estudantes de pós-graduação e colegas de trabalho, que devotam grande parte dos seus dias à vida acadêmica, sendo fundamentais na manutenção do ambiente de fomentação intelectual criado no Hospital das Clínicas.

Ao Hospital das Clínicas (HC) e à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), pela manutenção de um centro de excelência em pesquisa e assistência médica.

E finalmente aos meus amigos, pelo apoio nos momentos difíceis, serenidade nos momentos de angústia, companhia nos momentos de alegria e conforto naqueles de tristeza.

Normatização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L.Freddi, Maria F.Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos e periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas	
Lista de figuras	
Lista de quadros	
Lista de tabelas	
Resumo	
Abstract	
1.Introdução.....	1
2.Objetivos	10
2.1 Objetivo Primário.....	11
2.2 Objetivo Secundário.....	11
3.Revisão da Literatura	12
3.1 Aspectos históricos da LAT	13
3.2 Fisiopatologia da LAT	17
3.2.1 Injúria Axonal Primária	17
3.2.2 Injúria Axonal Secundária	18
3.2.3 Neuroinflamação e plasticidade neuronal	21
3.3 Epidemiologia da LAT	25
3.4 Achados de imagem na LAT	27
3.4.1 Análise qualitativa da imagem	27
3.4.1.1 Tomografia computadorizada	27
3.4.1.2 Ressonância magnética	30
3.4.2 Análise quantitativa da imagem	38
3.4.2.1 Imagem de tensor de difusão	39
3.4.2.2 Tempo de relaxamento em T2	41
3.4.2.3 Imagem de transferência de magnetização	44
3.4.2.4 Espectroscopia de prótons	57
3.4.2.5 Métodos automatizados de volumetria	59
4. Métodos.....	64
4.1 Caracterização do estudo	65
4.2 População do estudo	68
4.3 Procedimentos	70
4.3.1 Avaliação clínica	71
4.3.2 Avaliação por imagem	72
4.3.2.1 Aquisição das imagens	73
4.3.2.2 Processamento das imagens	74

4.3.2.2.1 Processamento das Imagens de susceptibilidade magnética para obtenção da máscara com as lesões hemorrágicas	74
4.3.2.2.2 Processamento das imagens T1 para obtenção das máscaras de SC e SB	78
4.3.2.2.3 Subtração das lesões hemorrágicas das máscaras da SB e SC	83
4.3.2.2.4 Processamento das imagens de transferência de magnetização	84
4.3.2.2.5 Cálculo do histograma de RTM	88
4.3.2.2.6 Cálculo do volume	90
4.4 Análise estatística	95
4.4.1 Estatística descritiva	96
4.4.2 Análise estatística das variáveis entre os grupos	96
4.4.3 Análise estatística da RTM média nos diferentes compartimentos encefálicos entre os exames dos pacientes	96
4.4.4 Análise estatística do volume nos diferentes compartimentos encefálicos entre os exames dos pacientes	97
4.4.5 Análise estatística da correlação entre a variação da RTM média nos diferentes compartimentos cerebrais e a idade	97
4.4.6 Análise estatística da correlação entre a variação do volume nos diferentes compartimentos cerebrais e a idade	98
4.4.7 Análise estatística da correlação entre a variação da RTM média e do volume nos diferentes compartimentos cerebrais	98
4.4.8 Análise estatística da correlação entre os resultados da escala prognóstica de Glasgow e a RTM de cada compartimento encefálico	98
4.4.9 Análise estatística da correlação entre os resultados da escala prognóstica de Glasgow e o volume de cada compartimento encefálico	99
4.4.10 Análise da eficiência de cada variável em diferenciar os pacientes com prognóstico bom e ruim	99
5. Resultados	100
5.1 Participantes	101
5.2 Resultados dos achados clínicos e da TC durante a internação	104
5.3 Resultados do prognóstico	104
5.4 Resultados das imagens	105
5.4.1 Resultados da ITM	105

5.4.1.1 Resultados da substância cinzenta	106
5.4.1.2 Resultados da substância branca	109
5.4.1.3 Resultados do encéfalo total	111
5.4.2 Resultados do volume	112
5.4.2.1 Resultados da substância cinzenta	113
5.4.2.2 Resultados da substância branca	114
5.4.2.3 Resultados do encéfalo total	116
5.4.3 Testes de correlação	117
5.4.3.1 Teste de correlação entre a RTM média e a idade	117
5.4.3.2 Teste de correlação entre o volume e a idade	117
5.4.3.3 Teste de correlação entre a variação da RTM média e do volume nos diferentes compartimentos cerebrais	117
5.4.3.4 Teste de correlação entre a escala prognóstica de Glasgow e a RTM média nos diferentes compartimentos cerebrais	118
5.4.3.5 Teste de correlação entre a escala prognóstica de Glasgow e o volume nos diferentes compartimentos cerebrais	118
5.4.3.6 Avaliação da eficiência de cada variável na discriminação entre prognóstico bom e ruim	119
6. Discussão.....	120
7. Conclusões	142
8. Anexos	144
9. Referências	187

Listas

DP	Desvio padrão
ECG	Escala de coma de Glasgow
EPG	Escala prognóstica de Glasgow
ET	Encéfalo total
EUA	Estados Unidos da América
FLAIR	<i>Fluid attenuation inversion recovery</i>
FOV	<i>Field of view</i>
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ITM	Imagem de transferência de magnetização
LAD	Lesão axonal difusa
LAT	Lesão axonal traumática
LVD	Lesão vascular difusa
MH	Microhemorragias
NP	Neuropsicológica
PRESTO	<i>Principles of echo shifting with a train of observations</i>
RM	Ressonância magnética
RTM	Razão de transferência de magnetização
SNC	Sistema nervoso central
SB	Substância branca
SC	Substância cinzenta
SWI	<i>Susceptibility weighted imaging</i>
T	Tesla
TC	Tomografia computadorizada
TCE	Traumatismo crânio-encefálico
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TE	Tempo de eco
TI	Tempo de inversão

Figura 1	Esquema ilustrativo da fisiopatologia da LAT.....	24
Figura 2	Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) da TC de paciente com LAD, na fase aguda do trauma.....	30
Figura 3	Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) do mesmo paciente da Figura 2, agora na fase subaguda.....	33
Figura 4	Mesmos planos de corte e paciente da Figura 3, agora nas sequências T1 (A), T2 (B) e FLAIR (C) da RM e na fase subaguda do TCE.....	36
Figura 5	Gráfico da variação de sinal em T2 da água nos diferentes compartimentos do tecido neural.....	43
Figura 6	Radiofrequência comparativa entre os prótons das macromoléculas e os prótons "livres", antes e após o pulso de saturação.....	46
Figura 7	Desenho esquemático de um tecido hipotético para demonstração do fenômeno de transferência de magnetização.....	48
Figura 8	Comparação do tempo de relaxamento T1 e da magnetização de equilíbrio na reserva de prótons livres antes (M_0) e após (M_{sat}) a saturação.....	49
Figura 9	Desenho esquemático de como a transferência de magnetização aumenta o contraste entre os tecidos.....	51
Figura 10	Fluxograma de recrutamento dos pacientes.....	67
Figura 11	Imagens obtidas com o auxílio do programa <i>FSL</i> v5.0.1., a partir das imagens de suscetibilidade magnéticas originais (imagens PRESTO)	76
Figura 12	Imagens semelhantes às anteriores, obtidas após parte do processamento das imagens de suscetibilidade magnética originais (imagens PRESTO), com o auxílio do programa <i>FSL</i> v5.0.1.....	77
Figura 13	Imagens sagital, coronal e axial originais T1, antes da etapa de reorientação (A), após a reorientação (B) a após a extração do	

	tecido encefálico (C) com o uso do programa <i>FSL</i>	79
Figura 14	Imagens axiais das máscaras não adequadas (em verde) da SC (A) e SB (B), que foram inicialmente geradas pela ferramenta <i>FAST</i> a partir das imagens T1, sobrepostas à imagem T1_brain.....	80
Figura 15	Imagens sagitais, coronais e axiais da máscara da SC profunda geradas pela ferramenta <i>FIRST</i> a partir das imagens T1, sobrepostas à imagem T1_brain.....	81
Figura 16	Imagens sagitais, coronais e axiais das máscaras da SC (A), SB (B) e ambas (C), após aplicação das máscaras da SC profunda gerada pelo <i>FIRST</i> sobre as máscaras imprecisas adquiridas inicialmente pelo <i>FAST</i> , com inclusão adequada dos tálamos e dos globos pálidos na máscara de SC.....	82
Figura 17	Imagens axiais em cortes de superior (esquerda) para inferior (direita) das imagens PRESTO_brain (A), das máscaras finais da SC (em azul) e SB (em verde) após a subtração das lesões hemorrágicas, quando sobrepostas ao PRESTO_brain (B) e ao T1_brain (C).....	84
Figura 18	Imagens de transferência de magnetização, MT_0000 (A) e MT_0001 (B), adquiridas antes e após o pulso de saturação, respectivamente.....	85
Figura 19	Mapa de transferência de magnetização antes (A) e após a extração da calota craniana e dos tecidos superficiais MTR_brain (B).....	86
Figura 20	Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) das máscaras de SB, em amarelo (A), de SC, em laranja (B), e de todo o encéfalo, em vermelho (C), com as lesões hemáticas subtraídas.....	88
Figura 21	Sobreposição dos histogramas da SC (laranja), da SB (cinza) e do ET (vermelho).....	89
Figura 22	Esquema das etapas do processamento <i>SIENAX</i>	91

Figura 23	Imagens sagitais, coronais e axiais do resultado da extração encefálica realizada com o uso da ferramenta BET (A) e do registro com o encéfalo padrão no espaço MNI (B).....	92
Figura 24	Imagens sagitais, coronais e axiais do resultado da segmentação encefálica realiza através da ferramenta FAST.....	93
Figura 25	Síntese do cálculo do volume da SB e da SC não normalizado e normalizado.....	95
Figura 26	Médias da RTM média da SC de cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e do único exame de RM dos controles.....	107
Figura 27	Comparação das taxas de variação da média da RTM no grupo dos pacientes, entre o primeiro e segundo exame (períodos 2 vs 1) e o segundo e terceiro exames (período 3 vs 2).....	108
Figura 28	Médias da RTM média da SB em cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e no único exame de RM dos controles.....	109
Figura 29	Médias da RTM média do ET em cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e no único exame de RM dos controles.....	111
Figura 30	Volume médio da SC em cada um dos exames de RM (1, 2 e 3) dos pacientes na única RM dos controles.....	113
Figura 31	Comparação das taxas de variação da média do volume no grupo dos pacientes, entre o primeiro e segundo exame (período 2vs1) e o segundo e terceiro exames (período 3vs2)	114
Figura 32	Volume médio da SB em cada exame dos pacientes (1, 2 e 3) e no único exame dos controles.....	115
Figura 33	Volume médio encefálico em cada exame dos pacientes (1, 2 e 3) e no único exame dos controles.....	116
Figura 34	Gráficos de densidade comparando as médias da RTM nos compartimentos de SC (verde) e SB (azul) no grupo dos pacientes (linha contínua) e no grupo controle (linha descontínua).....	123

Quadro 1	Classificação histopatológica da LAT segundo Adams e Gennarelli (Adams et al., 1982; Gennarelli et al., 1982).....	16
Quadro 2	Classificação tomográfica de Marshall para o TCE – Retirado de Marshall, 1992.....	29
Quadro 3	Principais contribuições da TC e de algumas sequências de RM na identificação e caracterização da LAT.....	37
Quadro 4	Escala prognóstica de Glasgow.....	72

Tabela 1	Distribuição dos 73 pacientes que realizaram a RM inicial.....	102
Tabela 2	Dados demográficos, clínicos e do trauma no grupo de pacientes.....	103
Tabela 3	Tempo médio da realização dos exames de RM nos pacientes.....	103
Tabela 4	Estimativa da evolução funcional a partir da escala de coma de Glasgow.....	105

Resumo

Macruz FBC. *Estudo da correlação entre a razão de transferência de magnetização e a volumetria em pacientes com lesão axonal traumática* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Introdução: A lesão axonal traumática (LAT) ou lesão axonal difusa (LAD) está presente em grande parte dos traumatismos crânio-encefálicos (TCE), sendo importante causa de mortalidade e morbidade das suas vítimas. A LAT dispara uma sequência de mudanças neurodegenerativas encefálicas que são, paradoxalmente, acompanhadas por recuperação cognitiva. **Objetivo:** Avaliar quantitativamente a LAT, através da razão de transferência de magnetização (RTM) e de medidas volumétricas para caracterizar a evolução temporoespacial das mudanças macroscópicas e microscópicas e investigar possível correlação entre elas, auxiliando no entendimento da sua fisiopatologia. Este estudo ainda investigou correlação entre atrofia e dano axonal/mielínico e a evolução funcional. **Métodos:** Imagens 3D-T1, 3DGE (PRESTO) e de transferência de magnetização (ITM) foram obtidas de 26 pacientes vítimas de TCE moderado e grave e de 26 controles, de idade e sexo semelhantes. Os pacientes foram submetidos à RM com 2 (fase aguda tardia/subaguda), 6 (crônica precoce) e 12 (crônica tardia) meses do TCE. A RM foi realizada nos controles em apenas uma única ocasião. Através de métodos automatizados, calculou-se o volume da substância cinzenta (SC), da substância branca (SB) e do encéfalo total (ET), ajustando-os pelo volume intracraniano. A partir de histogramas da RTM obtidos das mesmas regiões, calculou-se a média e os percentis 25, 50 e 75% da RTM. As imagens PRESTO foram usadas na exclusão dos focos hemorrágicos da análise da RTM, nos pacientes. A evolução funcional foi medida pela escala prognóstica de Glasgow (EPG), realizada um ano após o TCE. **Resultados:** A RTM média e o volume foram significativamente diferentes nos pacientes e nos controles. Os pacientes apresentaram RTM média maior ($p < 0,05$) e volume menor na SC e ET, desde o primeiro exame (fase aguda tardia/subaguda precoce). Na SB, valores menores tanto da RTM média ($p = 0,02$) quanto do volume ($p = 0,009$) foram observados nos pacientes apenas no terceiro exame (fase crônica tardia). Redução progressiva da RTM média dos pacientes foi observada em todos os compartimentos, estimada em 1,14% na SC, 1,38% na SB e 1,40% no ET durante todo o estudo. Houve também redução volumétrica gradual da SB e do ET, com taxa de atrofia total de 3,20% e 1,50%, respectivamente. Não houve relação entre redução da RTM média e atrofia. Nenhum dos parâmetros mostrou valor prognóstico nas fases subaguda ou crônica precoce. **Conclusões:** A LAT resulta numa rarefação axonal/mielínica e redução volumétrica progressiva do tecido encefálico, que se perpetua por até um ano do trauma. As mudanças são mais expressivas e prolongada na SB. A redução do volume e da RTM média se mostraram independentes na LAT. Isso sugere que os dois parâmetros reflitam aspectos complementares da fisiopatologia da LAT, em níveis micro e macroestrutural.

Descritores: traumatismos craniocerebrais; lesões encefálicas traumáticas; lesão axonal difusa; diagnóstico por imagem; imagem de transferência de magnetização; dano axonal/mielínico; atrofia.

Abstract

Macruz FBC. *Correlation between the magnetization transfer ratio and brain volume in patients with traumatic axonal injury* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, "Universidade de São Paulo"; 2018.

Introduction: Traumatic axonal injury (TAI) or diffuse axonal injury (DAI) is a frequent component of traumatic brain injury (TBI) and a major cause of mortality and morbidity in this population. It triggers a sequence of degenerative changes in the brain, that are paradoxically accompanied by cognitive recovery.

Purposes: The present study used magnetization transfer ratio (MTR) and volumetric data to appreciate the spatiotemporal evolution of macroscopic and microscopic changes and investigate possible correlation between them, enhancing the knowledge about its pathophysiology. It also investigated correlation between atrophy and axonal/myelin damage and functional outcome.

Methods: Volumetric T1-weighted, 3DGE (PRESTO) and magnetization transfer images (MTI) were obtained from 26 patients who experienced moderate to severe TBI and 26 age- and sex-matched controls. Patients were scanned at 2 (late acute/subacute stage), 6 (early chronic) and 12 months (late chronic) post-injury and controls, only once. Whole brain (WB), gray matter (GM) and white matter (WM) volumes were measured using automated technique and adjusted for intracranial volume. Histogram analysis was performed in the same regions, with calculation of the mean MTR and its 25, 50 and 75% percentiles. The PRESTO images were used to exclude the small lesions from the MTR analysis in the patients. Functional outcome was assessed 12 months after injury using the Glasgow Outcome Scale (GOS). **Results:** Mean MTR and volume were significantly different between patients and controls. Patients presented higher mean MTR values ($p < 0,05$) and smaller volume ($p < 0,05$) in the GM and WB, as of the first exam (late acute/subacute stage). In the WM, reduction of both, the mean MTR ($p = .02$) and volume ($p = .009$), was observed only in their third exam (late chronic stage). Progressive decrease of patients' mean MTR was observed in all compartments, with rates of 1.14% for the GM, 1.38% for the WM and 1.40% for the WB across the study. Continuing reduction of the WM and WB volume was also observed, with total atrophy rate of 3.20% and 1.50%, respectively. No correlation between mean MT and the volumetric changes was found. None of the parameters showed prognostic value during the subacute and early chronic stages. **Conclusions:** TAI results in a progressive axonal/myelinic rarefaction and volumetric brain reduction that continues until a year postinjury. The changes are greater and lasts longer in the WM. The reduction in the volume and mean MTR were independent between them in TAI. This suggests that the two parameters reflect complementary aspects of the TAI pathologic lesion at macro and microstructural levels.

Descriptors: craniocerebral trauma; brain injuries, traumatic; diffuse axonal injury; diagnostic imaging; magnetization transfer imaging; axonal/myelinic damage; atrophy.

Introdução

O traumatismo crânio-encefálico (TCE) é uma das principais causas de morbidade e mortalidade, com importantes implicações sócio-econômicas em todo o mundo (Finkelstein *et al.*, 2007; Roozenbeek *et al.*, 2013). Sua incidência é bimodal, com o primeiro pico entre a adolescência e os 30 anos e o segundo pico, em idosos mais velhos do que 70 anos. Cerca de 80% dos TCE são classificados como leves; 10 a 13% são moderados e 7 a 10% são graves (Arciniegas *et al.*, 2002).

Um dos mais comuns e importantes mecanismos fisiopatológicos de dano cerebral no TCE é a lesão axonal difusa (LAD) ou lesão axonal traumática (LAT), que prevalece em até 72% dos TCE (Lagares *et al.*, 2009; Skandsen *et al.*, 2010). Este tipo de lesão, caracterizada como lesão difusa consequente a um mecanismo de trauma do tipo aceleração-desaceleração (Adams *et al.*, 1989), geralmente está mais associada à evolução neurológica desfavorável do que as outras lesões associadas ao TCE (Chelly *et al.*, 2011). É ainda a principal causa de prejuízo cognitivo e comportamental permanente pós-traumático (Johnson *et al.*, 2013).

Avanços científicos significativos na última década permitiram a melhor compreensão da complexidade e heterogeneidade da fisiopatologia da LAT (Wang *et al.*, 2018). Reconhece-se atualmente que não se trata apenas de um evento agudo, mas de um processo neurodegenerativo progressivo e prolongado formado por inúmeros eventos biológicos paralelos e interdependentes, em níveis celulares e subcelulares (Wang *et al.*, 2018).

Nessa sequência de eventos, a transecção do axônio causada pela deformação mecânica grave no momento do trauma (axotomia primária), bem

como a ruptura de vasos sanguíneos e da glia associadas, são relativamente insignificantes para o dano parenquimatoso final (McKee *et al.*, 2015a). O dano mais relevante é aquele desencadeado por deformações mecânicas menos exuberantes, mas que produzem anormalidades axonais focais e levam à ruptura axonal mais tardia (axotomia secundária) (Smith *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2013). A axotomia secundária leva à degeneração Walleriana cerca de seis a doze horas após o trauma (Smith *et al.*, 2013), que por sua vez gera debris axonais e de mielina e assim dispara toda uma sequência de imunomediadores neuroinflamatórios. Essa neuroinflamação, por motivos ainda não totalmente esclarecidos, se torna exagerada e desencadeadora de mais destruição axonal. Gera-se então um ciclo vicioso de dano neuronal e mielínico que se retroalimenta e determina um processo de desconexão da rede cerebral a longo prazo, onde lesão e reparação ocorrem em paralelo por até anos (Sharp *et al.*, 2014; Johnson *et al.*, 2013).

Concomitante aos avanços na história natural da doença, o conhecimento sobre drogas com aparente capacidade de neuroproteção, cujo uso poderia mudar o curso da LAT, também evoluiu. Entretanto, embora algumas drogas até tenham demonstrado efeito em modelos animais, nenhuma teve sua eficácia comprovada em humanos (Saatman *et al.*, 2008; Papa *et al.*, 2010; Dambinova *et al.*, 2012). O fracasso dos estudos clínicos terapêuticos é atribuído, em parte, à falta de biomarcadores para o rastreamento terapêutico e controle evolutivo dos pacientes, à incompreensão de alguns aspectos da fisiopatologia da LAT e à baixa traduzibilidade dos modelos pré-clínicos pela dificuldade de recrutamento de uma amostra homogênea (Wang *et al.*, 2018).

Apesar dos avanços da ressonância magnética (RM), que representaram um ganho significativo na detecção e compreensão das lesões axonais (Gentry et al., 1989, Meythaler *et.al.*, 2001; Liu *et al.*, 2014), as imagens convencionais da RM ainda subestimam a extensão da LAT, não conseguindo detectar os danos parenquimatosos mais sutis (Parizel *et al.*, 1998; McGowan *et al.*, 1999). Nesse contexto, as técnicas quantitativas de RM representam uma alternativa importante na busca por métodos capazes de estimar com maior acurácia a extensão do dano parenquimatoso, evidenciar o caráter progressivo da doença e estabelecer seu prognóstico (McGowan *et al.*, 1999; van Buchem *et al.*, 2000; Kabani *et al.*, 2002; Zeng *et al.*, 2015). Isso porque permitem a realização de análises e visualizações acuradas sobre os processos fisiopatológicos complexos e heterogêneos da LAT (Irimia *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2018).

Assim, este estudo objetiva a melhor compreensão do processo lesional e a apreciação da dinamicidade da lesão parenquimatosa, explorando aspectos ainda não esclarecidos na literatura. Para isso, utilizou-se dois dos métodos quantitativos atualmente considerados mais sensíveis para a detecção e acompanhamento das alterações parenquimatosas na LAT: as imagens de transferência de magnetização (ITM) e a análise volumétrica a partir de imagens T1 de alta resolução.

Foram comparados um grupo de pacientes com LAT consequente ao TCE moderado e severo, com um grupo controle. Foi também realizado o acompanhamento evolutivo dos pacientes por um período de até um ano após o trauma, em três momentos diferentes: na fase aguda tardia/subaguda, crônica

precoce e crônica tardia, tentando-se investigar a dinâmica do processo de dano axonal/mielínico e de redução volumétrica após o TCE.

A escolha da ITM explica-se por esta ser um método de RM sensível às alterações microestruturais, servindo como um marcador de perda da integridade tecidual (Tourdias *et al.*, 2007). A partir do princípio de que os prótons ligados às macromoléculas exibem um tempo de relaxamento diferente dos prótons livres (Kabani *et al.*, 2002) e, de que um pulso de saturação possa atuar seletivamente sobre os prótons não livres, essa técnica consegue reduzir a intensidade de sinal total detectado na RM, de acordo com a concentração das macromoléculas. A perda de intensidade de sinal é quantificada através do cálculo da razão de transferência de magnetização (RTM) entre as imagens saturadas e não saturadas.

Estudos *ex-vivo* mostram que a RTM se correlaciona bem com a quantidade de mielina (Grossman, 1994; McCreary *et al.*, 2009), axônios (Schmierer *et al.*, 2004), de macrófagos e de água livre no tecido (Gareau *et al.*, 2000; Blezer *et al.*, 2007; Fjær *et al.*, 2013). Além disso, a RTM é mais específica e dependente da mielina do que outras técnicas quantitativas capazes de fornecer informações sobre a integridade mielínica, como as imagens de tensor de difusão (*diffusion tensor imaging* - DTI) (Mottershead *et al.*, 2003; Schmierer *et al.*, 2004); as informações fornecidas pelo DTI sobre a integridade estrutural da substância branca (SB) são relativamente inespecíficas e refletem mudanças na mielinização, na densidade e no diâmetro axonal e na orientação das fibras (Mori & Zhang, 2006). Em relação às sequências específicas para a mielina (tempo de relaxamento em T2), a RTM apresenta a grande vantagem de não

superestimar a mielinização (Alonso-Ortiz *et al.*, 2015; West *et al.*, 2018) e, de consequentemente depender da avaliação complementar por outros métodos para uma estimativa mais correta do conteúdo de mielina.

Já a inclusão da análise volumétrica nesse estudo foi julgada necessária pela excepcional sensibilidade desse método na detecção quantitativa das alterações macroscópicas teciduais. Assim, as informações microestruturais fornecidas pela ITM poderiam ser complementadas pelas informações macroestruturais fornecidas pela volumetria. O valor desta última no TCE, principalmente no acompanhamento evolutivo dos pacientes, tem se tornado cada vez mais evidente (Bigler ED, 2001; MacKenzie *et al.*, 2002; Gale *et al.*, 2005; Tomaiuolo *et al.*, 2005; Ariza *et al.*, 2006; Ding *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009, Cole *et al.*, 2015; Cole *et al.*, 2018).

Novamente, o DTI poderia ter sido utilizado como alternativa aos dados volumétricos para a investigação das alterações da SB no TCE (Kinnunen *et al.*, 2011; Hulkower *et al.*, 2013). No entanto, sua baixa resolução, grande tempo de aquisição e pior confiabilidade para testes (Landman *et al.*, 2011), associados à maior facilidade de aquisição e acurácia entre aparelhos do T1 volumétrico (Johnson *et al.*, 2013), nos fizeram optar pela análise volumétrica. Além disso, o desenvolvimento e livre acesso às técnicas automáticas de segmentação, com aumento da praticidade e redução do tempo de processamento, tornam a volumetria a alternativa mais apropriada para estudos longitudinais e de larga-escala (Fischl *et al.*, 2002; Maclaren *et al.*, 2017).

Há poucos estudos na literatura que analisaram as ITM em pacientes com LAT decorrente do TCE moderado e grave (Bagley *et al.*, 2000; Sinson *et*

al., 2001; Kumar *et al.*, 2003; Mamere *et al.*, 2009). Menor ainda é o número de trabalhos que estenderam sua análise para a substância cinzenta (SC) (Kumar *et al.*, 2003). Isso porque, inicialmente se acreditava que a SC fosse poupada na LAT e não apresentasse mielina.

Entretanto, embora a mielina predomine na SB (correspondendo a cerca de 50% do seu peso seco) ela também está presente na SC (Morell *et al.*, 1989; Van De Graaff *et al.*, 2002). Além disso, estudos que avaliam a integridade tecidual em doenças predominantemente da SB como a esclerose múltipla (EM), têm revelado a importância das alterações microscópicas na SC para a dissociação clínico-radiológica observada também nesses pacientes (Dehmeshki *et al.*, 2003; Agosta *et al.*, 2006).

Já em relação à análise volumétrica, estudos com algoritmos automáticos de segmentação das estruturas encefálicas têm demonstrado menor volume encefálico (Tomaiuolo *et al.*, 2005; Warner *et al.*, 2010, Cole *et al.*, 2018), bem como perda da integridade da SB e aumento da atrofia relacionada à idade em vítimas de TCE, quando comparados a controles (Kinnunen *et al.*, 2011; Ramlackhansingh *et al.*, 2011; Cole *et al.*, 2015).

Outros trabalhos ainda descreveram redução progressiva do volume encefálico em vítimas de TCE na ausência de lesões focais, sugerindo que a atrofia seja mais consequente à degeneração walleriana e morte neuronal decorrente da LAT, do que ao dano neuronal direto (MacKenzie *et al.*, 2002; Sidaros *et al.*, 2009; Bendlin *et al.*, 2008; Warner *et al.*, 2010; Moen *et al.*, 2012; Cole *et al.*, 2018).

No entanto, diferentemente desse estudo, a maior parte dos trabalhos que investigaram as taxas de atrofia após o TCE realizaram a primeira RM com menos de 2 meses do trauma (Bendlin *et al.*, 2008; Ding *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2010). Com isso, a interpretação dos achados foi limitada pela participação de fatores confundidores típicos da fase aguda, como o edema. Outro aspecto é que nos estudos em que as medidas foram restritas à fase aguda, não foi possível a coleta de informações sobre a progressão da neurodegeneração (que predomina nas fases crônicas), restringindo a colaboração desses trabalhos no avanço de terapias neuroprotetoras. Vale a pena ainda ressaltar que na maioria desses estudos a amostra é pequena (menor do que vinte pacientes) e os exames de RM de cada paciente foram realizados em intervalos de tempo variáveis, o que dificulta a interpretação e replicação dos seus achados (MacKenzie *et al.*, 2002; Ng *et al.*, 2008; Farbota *et al.*, 2012; Ross *et al.*, 2012; Tomaiuolo *et al.*, 2005; Green *et al.*, 2014).

Além da associação das ITM com os dados volumétricos, outros diferenciais deste trabalho incluem a amostra; o desenho e o processamento dos dados. Em relação à amostra, diferentemente de demais trabalhos onde foram incluídos pacientes com TCE *lato senso*, neste estudo foram selecionados apenas pacientes com apenas LAT pura, não associada a outras lesões relevantes (Bagley *et al.*, 2000; Sinson *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2003; Mamere *et al.*, 2009). Isso porque, é cada vez mais claro que o termo TCE é muito abrangente e inclui processos fisiopatológicos bastante distintos, como contusões, tumefação e edema cerebrais; a falta de uma clara definição dos tipos de patologias incluídos na maior parte dos estudos em vítimas de LAT, é uma grande limitação à interpretação de seus achados. Além disso, foram incluídos

aqui apenas pacientes com graus de TCE moderado e grave e não todos os graus (Bagley *et al.*, 2000; Sinson *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2003). Isso porque a fisiopatologia do TCE leve difere bastante dos outros graus (Povlishock JT, 1992; 1993).

Quanto ao desenho, ao nosso conhecimento, esse é o primeiro estudo longitudinal que utiliza ITM para avaliar pacientes com LAT pura através de exames realizados em intervalos de tempo regulares (com 2, 6 e 12 meses do TCE). É também o primeiro trabalho em pacientes com TCE onde calculou-se a RTM média de todo o volume encefálico, de SC e SB e não de apenas pequenas regiões de interesse (*region of interest – ROI*), criando-se para isto um código de processamento global automático das ITM que poderá ser utilizado para obtenção rápida e precisa da RTM média em futuros estudos.

O processamento tanto da RTM quanto da volumetria ainda é muito longo e elaborado para ser aplicado na rotina clínica. No entanto, os resultados apresentados nesse estudo poderão ser utilizados para melhor compreensão da dinâmica de desmielinização, remielinização e de perda tecidual na LAT e, para a interpretação clínica das sequências de pulso sensíveis à mielina (Loane *et al.*, 2016). Além disso, o potencial de ambos os métodos para o acompanhamento evolutivo dos pacientes e seleção mais homogênea da amostra nos testes clínicos os tornam ferramentas importantes para a transposição das barreiras ao desenvolvimento das drogas neuroprotetoras.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Primário

1. Analisar o comportamento das medidas de transferência de magnetização e volumétricas ao longo do tempo, em pacientes com LAT, para assim auxiliar o entendimento de sua fisiopatologia.

2.2 Objetivos Secundários

2. Pormenorizar as alterações da RTM e do volume nos diferentes compartimentos encefálicos, isto é, na SC, na SB e no ET, comparando o grupo de pacientes a um grupo-controle.
3. Verificar se há correlação temporal entre a variação da RTM média e do volume.
4. Estudar se há correlação entre as métricas (RTM média e volume) e a evolução funcional dos pacientes.

3. Revisão da Literatura

3.1 Aspectos históricos da LAT

Atualmente é notória a importância da lesão axonal no TCE. No entanto, essa relação nem sempre foi clara. A primeira noção de que o dano generalizado do parênquima tinha um papel importante e independente no prognóstico desfavorável pós-traumático foi introduzida há cerca de cento e trinta anos, por Witkowski (1877) ao analisar sapos com TCE (Erb & Povlishock, 1988). Observou-se que após a remoção do coração e do suprimento vascular cerebral, os sapos ainda se moviam espontaneamente por um curto período de tempo. No entanto, ao sofrer um trauma craniano, eles ficavam paralisados, indicando uma falência generalizada do parênquima cerebral e não do sistema vascular.

Novas evidências de que o envolvimento difuso cerebral poderia resultar de um evento traumático foram demonstradas apenas muito tempo depois, por Rand e Courville (1934), quando axônios varicosos e rotos, em pacientes após TCE, foram identificados não apenas no local do trauma mas também em outras regiões no cérebro, sugerindo que a extensão do trauma se estendesse além da área diretamente lesada.

A dificuldade da caracterização da lesão axonal difusa como causa de morbidade pós-traumática é explicada em parte pela sua difícil constatação na autópsia em relação a lesões mais evidentes como hematomas, contusões, lacerações e isquemia (Symonds C, 1962). Apenas por volta de 1950, com os avanços nas técnicas de autópsia, foi possível a constatação patológica formal da

injúria axonal relacionada ao trauma através da verificação não apenas de lesões focais demonstradas na análise macroscópica, mas também de mudanças generalizadas no tecido cerebral após o trauma caracterizadas no exame microscópico (Rand & Courville, 1946). Considerando tais alterações exclusivas do TCE, foi então proposto que essas mudanças patológicas na substância branca fossem consequência direta das forças mecânicas na hora do trauma.

A partir daí, seguiu-se uma série de experimentos que dividiram o conhecimento da LAT em três períodos históricos principais (Ma *et al.*, 2016) e permitiram a sua caracterização formal (Adams *et al.*, 1982; Gennarelli *et al.*, 1982).

O primeiro período (1956-1961) foi marcado pela constatação de que acelerações rotacionais durante o trauma poderiam induzir forças de tração e cisalhamento difusas pelo tecido cerebral responsáveis pelo dano generalizado (Holbourn *AHS.*, 1943).

O segundo período (1961-1980) iniciou-se com a identificação de alargamentos bulbosos dos axônios (“bolas de retração”) em pacientes que sobreviveram apenas dias ou semanas após o TCE (Strich *et al.*, 1961). Diferentemente, naqueles que sobreviveram por anos após o TCE, degeneração difusa da substância branca foi encontrada no seu lugar. A constatação da existência dos alargamentos bulbosos, associada a suposições prévias de que eles representariam axônios seccionados (Ramon e Cajal, 1928), permitiu a criação da teoria da ruptura axonal no momento do impacto durante o TCE.

Essa teoria foi apoiada por estudos subsequentes que confirmaram que o dano axonal representava a lesão básica do TCE e que as bolas de retração e a invasão fagocitária prevaleciam nas fases iniciais, enquanto a degeneração da substância branca (degeneração Walleriana) prevalecia após semanas do trauma (Peerless *et al.*, 1967). Além disso, o uso de técnicas específicas de coloração da micróglia em pacientes que foram a óbito por TCE conseguiram confirmar não apenas o acúmulo das células fagocíticas, já anteriormente apontado como marcador de dano axonal, mas também constatar que lesão axonal independia do grau de severidade de TCE, ao encontrar injúria axonal em vítimas de trauma leve que vieram a falecer por outras causas (Clark JM., 1974).

Até esse momento, embora fosse claro que a LAT era uma entidade real, frequente em pacientes com TCE e que possuía relação direta com a mortalidade e morbidade pós-traumática, a maior parte dos estudos ainda a descreviam como secundária a outros fatores, tais como edema cerebral, elevação da pressão intracraniana e disfunção vascular.

Foi apenas no terceiro período (posterior a 1980), através do minucioso monitoramento anatomopatológico da distribuição da LAT em cérebros humanos, que conseguiu-se constatar que esta não era secundária às outras lesões intracranianas associada ao trauma, mas sim decorrente do próprio TCE (Adams *et al.*, 1982; Gennarelli *et al.*, 1982).

Apenas a partir daí o termo lesão axonal difusa foi oficializado para caracterizar os achados histológicos das vítimas de TCE moderado a grave que

eram expostas a grandes forças de aceleração/desaceleração e que se apresentavam, desde o momento do trauma, inconscientes.

Além da oficialização do termo, esses estudos (Adams et al., 1982; Gennarelli et al., 1982, 1999) ainda renderam a classificação histopatológica utilizada até os tempos atuais que gradua a LAT seguindo sua distribuição anatômica e a estratifica em três graus correlacionados com a evolução clínica do paciente.

Na presença de injúria axonal restrita aos hemisférios cerebrais, com predileção para a interface corticossubcortical, a LAT é classificada em grau 1; na extensão ao corpo caloso, em grau 2; e no acometimento subsequente da região rostral e dorso-lateral do tronco-encefálico, em grau 3 (Quadro 1). Ao correlacionar os graus histológicos aos graus de desabilidade clínica dos pacientes, as vítimas de LAT grau 1, apresentam incapacidade leve; as vítimas de LAT grau 2, incapacidade moderada; e nas com LAT grau 3, incapacidade severa por vezes com prolongado período de coma seguido de óbito.

Quadro 1 - Classificação histopatológica da LAT segundo Adams e Gennarelli (Adams et al., 1982; Gennarelli et al., 1982)

Grau 1	injúria axonal restrita aos hemisférios cerebrais
Grau 2	injúria axonal nos hemisférios cerebrais e no corpo caloso
Grau 3	injúria axonal nos hemisférios cerebrais, com envolvimento do corpo caloso e do tronco encefálico

3.2 Fisiopatologia da LAT

A LAT representa um tipo de injúria axonal disparada por uma força de tração e manifestada principalmente através de mudanças e ruptura axonal. Atualmente, sabe-se que o dano axonal é progressivo e dividido em primário e secundário, mas inicialmente a LAT foi descrita como uma lesão monofásica.

3.2.1 Injúria Axonal Primária

A axotomia primária é o rompimento das fibras axonais pelas forças mecânicas, levando à completa desconexão imediatamente após o trauma. Inicialmente acreditava-se que a sequência de dano axonal se iniciasse com o rompimento do axônio (axotomia primária) e prosseguisse com seu encolhimento, extrusão de parte do seu citoplasma e formação das chamadas “bolas de retração”. Assim, achava-se que a “bola de retração” fosse consequência apenas da axotomia primária.

Com a introdução do conceito de axotomia secundária (Povlishock *et al.*, 1983) e constatação da sua superioridade em relação à primária na determinação do dano à população axonal, mudou-se o conceito sobre a “bola de retração”, colocando-a não mais apenas como consequência da axotomia primária, mas também relacionada à axotomia secundária (Ma *et al.*, 2016).

Estudos posteriores confirmaram a fraca relação entre os locais de maior força de cisalhamento no momento do trauma e os sítios de injúria axonal e deixaram ainda mais evidente a insignificância da axotomia primária para o dano axonal total (Ma *et al.*, 2016).

Após a axotomia primária, o corpo celular do axônio que foi diretamente seccionado pelo trauma passa por um período de disfunção celular que pode ou não resultar em apoptose (Singleton *et al.*, 2002).

3.2.2 Injúria Axonal Secundária

A noção de axotomia secundária foi introduzida com a realização de experimentos em animais submetidos ao TCE leve (Povlishock *et al.*, 1983), através da injeção, previamente ao trauma, de traçadores anterógrados nos corpos celulares dos neurônios. Esses experimentos demonstraram que o trauma não determina imediata ruptura axonal e extravasamento do conteúdo citoplasmático, mas sim dispara uma série de mudanças focais intra-axonais que resultam em prejuízo do transporte anterógrado e acúmulo focal do traçador no retículo endoplasmático, cerca de uma hora após o trauma.

Nas horas subsequentes, esse acúmulo citoplasmático progride para outras organelas celulares, levando ao edema celular e à expansão do cilindro axonal. Com o tempo, o edema evolui para lobulações e, em cerca de 6-12 horas, para uma rápida desconexão axonal. Durante essa rápida ruptura, os cotos proximais e distais

do axônio se afastam, cada um envolto pela membrana axonal e recoberto por um revestimento de mielina (Erb & Povlishock, 1988). Surgiu-se assim, a compreensão da lesão tardia desencadeada pelo trauma e o conceito de axotomia secundária.

Estudos posteriores ampliariam a compreensão sobre a axotomia secundária, não a restringindo apenas ao trauma leve, mas extrapolando-a aos TCE moderado e severo (Erb & Povlishock, 1988).

A utilização de anticorpos específicos para as subunidades neurofilamentares, ao invés de apenas traçadores anterógrados, conseguiu demonstrar que o prejuízo no transporte intra-axonal observado era decorrente do desalinhamento da rede neurofilamentar e microtubular do axônio (Povlishock & Christman, 1995).

Por sua vez, o uso de traçadores extra-celulares para verificar a integridade da membrana axonal não apenas evidenciou perturbações na membrana neuronal, desencadeadas pelo trauma, com passagem desses marcadores do meio extra-celular para o intra-celular (Pettus & Povlishock, 1996), mas ainda demonstrou que essa perturbação na membrana dependia da severidade do TCE. Nos traumas leves e na maioria dos moderados, as anormalidades neurofilamentares eram imediatamente caracterizadas, independentemente de alterações na permeabilidade da membrana. Com o aumento da severidade do trauma, as alterações na permeabilidade da membrana axonal passavam a predominar e antecederiam o desalinhamento neurofilamentar, que ocorria num segundo momento, após perda gradual do seu arranjo e compactação.

Assim, foi possível demonstrar nos TCE leves um insulto direto no arranjo citoarquitetural e nos traumas mais graves, alterações na permeabilidade da membrana que então levam às mudanças do citoesqueleto.

Esses estudos, em conjunto, possibilitaram a introdução do conceito da axotomia secundária, a descrição do seu caráter dependente da gravidade do TCE, a evidência de participação do citoesqueleto e da membrana axonal. No entanto, a axotomia secundária ainda era compreendida como a formação progressiva de varicosidades axonais e posterior desconexão (Povlishock JT, 1992, 1993).

Foi apenas mais recentemente, que o conceito de dano axonal secundário foi redefinido como uma sequência de eventos oxidativos, excitotóxicos e inflamatórios que leva à morte neuronal final (Su & Bell, 2016). O início dessa cadeia de eventos depende de vários fatores, incluindo a força do trauma e a movimentação craniana durante este, com movimentos látero-laterais, apresentando maior incidência de lesões que movimentos ântero-posteriores, por exemplo (Yoganandan *et al.*, 2008).

Após o trauma, os axônios que não foram sujeitos à axotomia primária podem ser lesados pelo estiramento físico decorrente da deformação cerebral. Como já visto, esse estiramento físico pode, além de determinar um dano direto ao citoesqueleto, alterar a permeabilidade da membrana axonal e precipitar a despolarização.

A despolarização dispara a liberação de neurotransmissores excitatórios, como o glutamato, que em excesso age sobre os receptores NMDA e AMPA,

aumentando o influxo e concentração intra-axonal de cálcio (Su & Bell, 2016). O influxo intra-axonal de cálcio altera a permeabilidade mitocondrial à água e desregula o metabolismo oxidativo das mitocôndrias (Ma *et al*, 2016). O cálcio ainda ativa enzimas proteolíticas cálcio-dependentes, com destruição da estrutura citoarquitetural do axônio, consequente prejuízo do transporte axoplasmático, edema intra-axonal e compactação neurofilamentar.

A lesão mitocondrial ainda permite a liberação de substâncias pró-apoptóticas, ativando a cascata da morte das caspases e determinando proteólise estrutural irreversível, com posterior morte axonal (Su & Bell, 2016). Só então formam-se então as “bolas de retração”, com o axônio adquirindo um aspecto helicoidal pela retração da sua extremidade proximal.

Após cerca de 24 horas do trauma, inicia-se um processo de degeneração Walleriana no fragmento distal do axônio roto e aproximadamente após 72 horas do trauma, o segmento separado é consumido pela glia ativada (Su & Bell, 2016). Dispara-se então uma cadeia de processos neuroinflamatórios com ativação glial, que contribuem para o processo de injúria local e perduram por muito tempo após o insulto inicial (Ma *et al*, 2016).

3.2.3 Neuroinflamação e plasticidade neuronal

O dano axonal tem impacto na mielina que envolve o axônio, destruindo-a e produzindo debris de mielina. Apesar do dano axonal difuso, franca

desmielinização não é observada na primeira semana após o trauma, notando-se apenas mielina redundante e desordenada.

Embora o acesso às proteínas da bainha de mielina ainda seja difícil pela sua constante lise, estudos apontam que os debris são encontrados até meses após o trauma (Ludwin SK, 1990). Esses debris ativam as células da glia e disparam respostas inflamatórias indesejadas.

A ativação glial nada mais é do que a resposta das células gliais, ou seja, dos astrócitos, oligodendrócitos e da micróglia, com mudanças morfológicas e funcionais que objetivam fagocitar e eliminar os debris de mielina. A glia ativada tenta preencher cavidades, formar cicatrizes e produzir proteínas para reconstruir a matriz extracelular danificada (Ma *et al.*, 2016). Embora sua ativação objetive inicialmente a reparação do tecido lesado, por algum mecanismo ainda não bem esclarecido, as células da glia continuam ativadas, mesmo após a reparação tecidual inicial, levando à uma hiperativação glial que deixa de ser reparadora e se torna danosa.

As células gliais hiperativadas continuam a liberar fatores inflamatórios, isto é, as citocinas. As citocinas envolvidas na LAT incluem os mediadores comumente vistos no TCE, como a família das interleucinas 1 (IL-1), das IL-6, das IL-10 e o fator de necrose tumoral alfa (FNT- α) e começam a ser secretadas até uma hora após o trauma (Hans VH, 1999; Kita *et al.*, 2000; Lu *et al.*, 2005; Khuman *et al.*, 2011; Yan *et al.*, 2011). Essas citocinas têm caráter pró-inflamatório e pró-apoptótico e regulam a atividade de células inflamatórias como linfócitos e macrófagos, disparam mais

mediadores inflamatórios e atuam na secreção de fatores ativadores das plaquetas (Lin & Wen, 2013).

O processo de neuroinflamação observado na LAT se assemelha em muito ao observado em diversas doenças neurodegenerativas, incluindo a esclerose múltipla (Dheen *et al.*, 2007), doenças priônicas e doença de Parkinson (Chen *et al.*, 2009), inclusive com descrição recente de acúmulo focal de proteína precursora de amiloide (PPA), semelhante ao observado na doença de Alzheimer (Lee *et al.*, 2015).

O papel das proteínas da bainha de mielina na inibição do crescimento axonal, da regeneração e na destruição da mielina e axônios intactos também é bem caracterizado (Yang *et al.*, 2011). Com isso, há formação de mais debris de mielina e consequente hiperativação glial, determinando um ciclo vicioso que se retroalimenta e que aproxima a LAT das doenças com caráter degenerativo crônico (Figura 1).

A existência do processo degenerativo crônico é contrabalanceada, ao menos parcialmente, pela existência de um processo de recuperação axonal, mielínico e de plasticidade neuronal. Estudos em animais mostram aumento de precursores de oligodendrócitos a partir do terceiro dia após o trauma (Sullivan *et al.*, 2013) e evidenciam a expressão de fatores de crescimento epitelial e semelhantes à insulina pelas células gliais, numa tentativa de redução da morte neuronal (Park *et al.*, 2007). No entanto, o grau de relevância desse processo de

regeneração tecidual frente ao processo degenerativo ainda não está bem estabelecido (Sullivan *et al.*, 2013).

Figura 1- Esquema ilustrativo da fisiopatologia da LAT. Após o trauma, alguns axônios são sujeitos à axotomia primária, correspondendo a minoria dos axônios lesados no total. Outros, são expostos a alterações na membrana e no citoesqueleto arquitetural, que desencadearão a axotomia secundária. A axotomia secundária leva à posterior destruição da mielina periaxonal, com formação de debris mielínicos que determinam a ativação glial, numa tentativa de reparação do tecido lesado. No entanto, por mecanismos ainda desconhecidos, a ativação glial, inicialmente reparadora, evolui para um estado danoso de hiperativação, com produção de citocinas e destruição de axônios e mielina intacta. Há a formação de mais debris de mielina que determinarão mais ativação glial, num ciclo vicioso que se retroalimenta.

3.3 Epidemiologia da LAT

O TCE apresenta uma incidência mundial de 7 milhões de pessoas por ano (Song *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014), com expressividade máxima na faixa etária abaixo de 45 anos e no sexo masculino (Meythaler *et al.*, 2011). Dentre suas variadas causas, a primeira causa de TCE é queda, sobretudo na faixa etária mais alta, seguida do acidente automobilístico. Considerando apenas a faixa etária mais jovem, acidentes automobilísticos e traumas esportivos são as duas causas mais relevantes (Feigin *et al.*, 2013).

Nos Estados Unidos, o TCE determina 1,7 milhões de atendimentos médicos por ano (Lucas *et al.*, 2014), sendo que destes, aproximadamente 79% são tratados apenas no departamento de emergência, 19% dos casos requerem hospitalização e 3% são fatais. (Rutland-Brown *et al.*, 2006). O TCE impõe uma despesa econômica crescente, com uma perda anual estimada em 60 bilhões de dólares americanos (Finkelstein *et al.*, 2007), sendo considerado um grande problema de saúde pública e um fardo para a economia americana (Xiao *et al.*, 2015). Tais custos não são decorrentes apenas do tratamento, mas principalmente da perda de produtividade de seus sobreviventes (Finkelstein *et al.*, 2007; Sander *et al.*, 2010), chegando a 5,3 milhões de pessoas, ou seja, aproximadamente 1 a 2% da população, o número de americanos que vivem com incapacidade a longo prazo (Zaloshnja *et al.*, 2008).

Dados adquiridos através da maior análise mundial de TCE, baseada em um sistema multicêntrico de vigilância populacional, deixa clara a importância do TCE como um problema de saúde pública não apenas nos EUA, mas no mundo todo (Finkelstein *et al.*, 2007), sendo em muitos países referido atualmente como uma “epidemia silenciosa” (Wang *et al.*, 2013).

No Brasil, os dados sobre a incidência de TCE e o seu custo para o orçamento governamental são escassos e inconsistentes. Mas sabendo que a principal causa de TCE em adolescentes e adultos jovens é o acidente automobilístico (Corrigan *et al.*, 2010) e que a última avaliação anual disponível do DATASUS - 2015 (<http://tabnet.datasus.gov.br>), relata um número de vítimas fatais de acidentes de trânsito de 37.306, conseguimos projetar a relevância do seu dano para o sistema de saúde e para a economia nacional. Ainda conforme dados do DATASUS, em 2010, foram registrados no Brasil 143.256 óbitos por causas externas, abrangendo todas as faixas etárias. Dentre estes, 30,7% foram decorrentes de acidentes de trânsito, ocupando a segunda posição entre as causas de mortes e totalizando 94,6% dos óbitos na faixa etária entre cinco e 59 anos (Santos *et al.*, 2013).

Estima-se que o TCE seja a causa de 17,6% das mortes de vítimas relacionadas a acidentes de transporte terrestre no Brasil (Gaudêncio *et al.*, 2013) e que, dentre as diferentes formas de TCE, a LAT seja o mecanismo predominante de injúria encefálica em cerca de 40-50% das lesões cerebrais pós-trauma que

necessitam de admissão hospitalar (Li Y *et al.*, 2013) e a causa mais comum de estado vegetativo e desabilidade severa após o trauma (Adams *et al.*, 1984).

3.4 Achados de imagem na LAT

Devido à natureza progressiva da LAT, tanto os achados de imagem quanto os achados histológicos são significativamente afetados pelo tempo de avaliação (Su & Bell., 2016).

Embora promissor, o diagnóstico da LAT baseado na fisiopatologia ainda é inviável, tanto pela ausência de instrumentos específicos como pela indisponibilidade de marcadores biológicos precisos. Logo, o diagnóstico definitivo ainda depende fundamentalmente dos achados clínicos e de imagem e sua sensibilidade varia de acordo com o tempo da avaliação em relação ao TCE.

3.4.1 Análise qualitativa da imagem

3.4.1.1 Tomografia computadorizada

Devido ao baixo custo, curto tempo de exame, à alta disponibilidade, e compatibilidade com os equipamentos de suporte de vida da tomografia computadorizada (TC), esta ainda é o método de escolha para o diagnóstico da

maior parte das lesões traumáticas, especialmente nos casos de maior gravidade (Parizel *et al.*, 1998).

No contexto do TCE, a evidente vantagem da TC reside na sua rápida capacidade de detecção das lesões hemorrágicas grandes, sendo, portanto, um importante método de rastreamento de volumosos sangramentos agudos e de lesões que requerem intervenção cirúrgica imediata (Zen *et al.*, 2013; Tchekmedyian *et al.*, 2013).

No entanto, no contexto da LAT, onde apenas 20% das lesões apresentam conteúdo hemático e, quando apresentam, tendem a ser diminutas, sutis e abaixo do limite de detecção, a sensibilidade da TC reduz-se drasticamente (Tchekmedyian *et al.*, 2013). Ao considerar-se as lesões não hemorrágicas, a TC é um método ainda menos acurado, com uma sensibilidade desprezível (20%) quando comparada às sequências de RM, como a sequência ponderada em T2, cuja capacidade de detecção atinge 90% (Gentry *et al.*, 1989).

Ainda nos dias atuais, a principal classificação tomográfica utilizada para graduar o TCE agudo é a descrita por Marshall, a partir de um grande estudo realizado em 1990 (Marshall *et al.*, 1992). Quando aplicada ao TCE moderado e severo, a escala de Marshall ainda se mostra relevante na estimativa prognóstica e na predição do risco de evolução para hipertensão intracraniana. No entanto, a escala apresenta algumas limitações, incluindo a dificuldade de classificação de pacientes com diferentes tipos de lesão traumática e a padronização de alguns achados da TC (Saatman *et al.*, 2008).

Ela divide os pacientes em uma das seis categorias (I a VI) com base nos achados da TC encefálica sem contraste. Ela leva em consideração primariamente dois achados: (1) o grau de edema, determinado por desvio das estruturas da linha mediana e/ou apagamentos das cisternas da base e (2) a presença e o tamanho de lesões hemorrágicas com alto coeficiente de atenuação.

Quadro 2- Classificação tomográfica de Marshall para o TCE – Retirado de Marshall, 1992

CATEROGIA	ACHADOS TOMOGRÁFICOS
Lesão difusa I	Tomografia computadorizada sem lesões detectáveis
Lesão difusa II	Desvio da linha mediana de 0 a 5 mm Lesões focais hemorrágicas menores que 25 cm ³ Cisternas da base amplas
Lesão difusa III	Desvio da linha mediana de 0 a 5 mm Lesões focais hemorrágicas menores que 25 cm ³ Cisternas reduzidas ou apagadas
Lesão difusa IV	Desvio de linha mediana > 5 mm Lesões focais hemorrágicas menores que 25 cm ³
Lesão abordada cirurgicamente	Qualquer lesão focal abordada cirurgicamente
Lesão não abordada cirurgicamente	Lesão focal maior que 25 cm ³ , não abordada cirurgicamente

Seguindo essa escala, os achados tomográficos relacionados à LAT são geralmente sutis, classificados como Marshall II ou III. Quando presentes, os achados mais característicos da TC são pequenas lesões hiperatenuantes ou edema cerebral (Hamdeh *et al.*, 2017) (Figura 2).

Figura 2- Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) da TC de paciente com LAD, na fase aguda do trauma. Evidenciam-se sinais de edema cerebral difuso (setas azuis) e pequenas lesões hemorrágicas agudas na região corticossustriate frontal (setas verdes).

3.4.1.2 Ressonância magnética

Em relação à TC, a RM apresenta indiscutível superioridade na identificação e caracterização de (1) lesões parenquimatosas de pequenas dimensões, (2) lesões não hemorrágicas ou hemorrágicas fora da fase aguda, (3) lesões localizadas na fossa posterior e na SB profunda, (4) lesões secundárias, isto é, infarto, hipertensão intracraniana, herniações e hemorragias (Meythaler *et.al.*, 2001; Liu *et al.*, 2014).

No entanto, apesar das evidentes vantagens da RM em relação à TC, a RM ainda exibe uma alta taxa de resultados falso-negativos para a identificação de lesões muito pequenas e daquelas observadas no TCE leve. Na realidade, estima-se que a vasta maioria dos pacientes com trauma leve (que compreende mais de 90% dos TCE totais) apresentem TC e RM normais (Warner *et al.*, 1988), sendo os principais fatores relacionados à identificação de achados positivos na RM: a severidade do trauma, o tempo decorrido entre o trauma e a realização do exame e as sequências adquiridas (Chelly *et al.*, 2011).

As vantagens da RM não se limitam apenas ao seu potencial diagnóstico. Este método também apresenta vantagens significativas na estimativa prognóstica, com estudos mostrando piora do prognóstico de acordo com o número de lesões observadas logo após o trauma (Moen *et al.*, 2012), com o número e o volume das lesões identificadas na RM realizada com 48 horas da internação hospitalar (Schaefer *et al.*, 2004) e com o número de lesões hemorrágicas identificado pela sequência de susceptibilidade magnética (Paterakis *et al.*, 2000). Outros estudos ainda apontam lesões no corpo caloso e no tronco encefálico como fatores preditores de estado vegetativo persistente (Kampfl *et al.*, 1998) e a localização lesional como fator de risco independente para mortalidade e mau prognóstico (Chelly *et al.*, 2011).

Dentre as sequências da RM, as sequências mais sensíveis para a detecção das pequenas lesões hemorrágicas características da LAT, são as sequências gradiente eco, isto é T2* e *principles of echo shifting using a train of*

observations (PRESTO) e as de susceptibilidade magnética, ou seja, *SWI-susceptibility-weighted imaging (SWI)* e *susceptibility-weighted angiography (SWAN)* (Luccichenti *et al.*, 2010).

Nessas sequências, as lesões petequiais são definidas como pequenos focos ovalados, com diâmetro entre 2 e 10 mm, que apresentam marcado hipossinal e não correspondem a ossos, vasos, calcificações ou lesões artefatuais (Mori *et al.*, 2013). Tais focos, quando presentes na substância branca hemisférica superficial, são a marca radiológica da LAT (Figura 3). O efeito de suscetibilidade magnética dessas lesões é decorrente do efeito paramagnético do sangue. No TCE, o sangue extravasa dos pequenos vasos cerebrais após a ruptura destes (Zhang *et al.*, 2014) ou atravessa por diapedese, juntamente com as hemácias, as células endoteliais ou as aberturas transitórias da barreira hematoencefálica, observadas após o trauma (Zhong *et al.*, 2013). A degradação da hemoglobina, fora do vaso, determina distorção do campo magnético principal da RM e surgimento de foco de ausência de sinal, ou de hipossinal na imagem final (Liu *et al.*, 2014).

A sensibilidade na caracterização do número, da dimensão e da nitidez das microhemorragias varia de acordo com alguns fatores, como a sequência utilizada (Luccichenti *et al.*, 2010), determinados parâmetros de aquisição, como o tempo de eco (TE), a resolução espacial e a espessura de corte, e a intensidade do campo magnético (Liu *et al.*, 2012). Por exemplo, o *SWI* apresenta maior sensibilidade e resolução espacial para a detecção de sangue que o T2* (Chastain *et al.*, 2009) (Figura 3), TE mais longos aumentam o efeito de suscetibilidade (Tatsumi *et al.*,

2008) e a melhora da resolução espacial reduz o efeito de volume parcial, permitindo a identificação de hemorragias menores (Reichenbach *et al.*, 1997).

Figura 3- Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) do mesmo paciente da Figura 2, agora na fase subaguda. As lesões hemorrágicas características da LAD são evidenciadas como pequenos focos de marcado hipossinal tanto na sequência T2* (A) quanto na PRESTO (B), porém mais evidentes nesta última.

Em relação aos efeitos do campo magnético, esses são um pouco mais controversos. Enquanto alguns estudos mostram que aparelhos 3,0T são duas vezes mais sensíveis para a detecção das microhemorragias que aparelhos 1,5T (Luccichenti *et al.*, 2010; Scheid *et al.*, 2007), outros relatam um aumento menor que 30% na detecção das lesões petequiais ao se aumentar o campo de 1,5T para

3,0T (Stehling *et al.*, 2008). Ainda, estudos utilizando aparelhos com campo de 3,0T e de 7,0T evidenciaram melhora em 20% na detecção das microhemorragias, quando apenas se aumentou o campo e em 48% quando se aumentou o campo e mudaram-se alguns parâmetros de resolução do SWI (Moenninghoff *et al.*, 2015).

Além das lesões petequiais clássicas, também podem ser evidenciadas na LAD pequenas lesões hemorrágicas lineares distribuídas predominantemente na SB subcortical, notadamente das regiões parassagittais frontoparietais. Tais lesões seguem um trajeto vascular (tanto arterial quanto venoso) e, portanto, receberam o nome de lesão vascular difusa (LVD) (Kenney *et al.*, 2016). São observadas no TCE grave, sobretudo decorrentes de acidentes automobilísticos de alta velocidade e, geralmente, incompatíveis com a vida. A associação entre a LVD e a LAT severa sugere que ambas as lesões dependam do mesmo mecanismo de trauma, com muitos autores defendendo tratar-se na realidade de espectros diferentes da mesma doença (Pittella & Gusmão, 2003). Mas, independentemente da sua fisiopatologia, as sequências para a melhor identificação destas são as mesmas que para as pequenas lesões petequiais.

Em relação às lesões não-hemorrágicas e às lesões secundárias na LAT, as melhores sequências para a identificação delas são o T2 e o *fluid attenuation inversion recovery (FLAIR)*. Nessas duas sequências, as lesões primárias não-hemorrágicas geralmente são expressas como pequenos focos de hipersinal que provavelmente representam edema na fase aguda e gliose ou degeneração Walleriana na fase crônica (Liu *et al.*, 2014). Já as lesões hemorrágicas, tendem a

aparecer como focos de baixo sinal, com halo periférico de hipersinal. Ao comparar-se uma com a outra, o *FLAIR* apresenta maior sensibilidade que o T2, sendo a sequência de escolha na prática do radiologista (Figura 4B e 4C).

Embora eventualmente, tanto as lesões hemorrágicas quanto as não-hemorrágicas possam se apresentar como hipossinal no T1 (Figura 4A), na prática clínica essa sequência fica resguardada apenas para a melhor delimitação anatômica e classificação das lesões (Chen *et al.*, 2013).

Comparando os métodos e as sequências de RM entre si, estudos apontam uma expressiva diferença na sensibilidade da TC (21,9%) quando comparada ao T1 (84,4%) e mesmo deste quando comparado ao T2 (96,9%) na detecção de lesões agudas não-hemorrágicas na fossa posterior (Gentry *et al.*, 1989), bem como evidenciam superioridade do *FLAIR*, em relação ao T2 e à TC, na detecção das lesões da LAD (Liu *et al.*, 2014).

Figura 4- Mesmos planos de corte e paciente da Figura 3, agora nas sequências T1 (A), T2 (B) e FLAIR (C) da RM e na fase subaguda do TCE. Evidenciam-se as lesões como pequenos focos de hipossinal (setas verdes) em T1 e focos de hiper ou hipossinal em T2 (setas azuis) e FLAIR (setas brancas), dependendo do seu conteúdo hemático.

Finalmente, é possível ainda identificar alteração de sinal na sequência de difusão da RM em algumas lesões. A restrição à difusão ocorre ou pelo componente hemorrágico da lesão (pela susceptibilidade magnética da desoxiemoglobina e metaemoglobina), ou por edema citotóxico isquêmico quando há lesão isquêmica associada, ou simplesmente pela característica intrínseca da lesão axonal de ocasionar redução da difusão das moléculas de água, relacionada à tumefação

axonal. Neste último caso, a restrição pode se resolver após alguns dias ou pode deixar alterações residuais na sequência FLAIR (Liu *et al.*, 2014).

Um estudo mostrou que embora a difusão fosse capaz de detectar apenas 32% das lesões identificadas pelo FLAIR e o SWI, esta conseguiu caracterizar lesões não visibilizadas em nenhuma das outras sequências (Ezaki *et al.*, 2006). Além disso, a difusão mostrou relação com a evolução clínica; os pacientes com menor número de lesões no tronco encefálico apresentaram evolução clínica mais favorável.

Quadro 3- Principais contribuições da TC e de algumas sequências de RM na identificação e caracterização da LAT.

TC	para a exclusão de volumosas lesões vasculares e de lesões cirúrgicas e para o controle evolutivo
T1	para melhor delimitação anatômica e classificação das lesões
T2 / FLAIR	melhores sequências para a detecção das lesões macroscópicas não-hemorrágicas e dos danos secundários
DIFUSÃO	consegue caracterizar lesões não evidenciadas em nenhuma das outras sequências (*lesões isquêmicas e lesões com tumefação axonal)
SEQUÊNCIAS GRADIENTE ECO (T2*/PRESTO) E DE SUSCEPTIBILIDADE MAGNÉTICA (SWI/SWAN)	melhores sequências para a identificação das microhemorragias, dos sangramentos não agudos e das lesões vasculares difusas

3.4.2 Análise quantitativa da imagem

No sistema nervoso central (SNC), a mielina é principalmente encontrada na SB e corresponde a cerca de 50% do peso seco desta. Também é encontrada na SC, mas em quantidades muito menores.

A mielina atua como um isolante elétrico para os neurônios e aumenta a velocidade do potencial elétrico entre 10-100 vezes quando comparado a um axônio não mielinizado (Laule *et al.*, 2007). A aceleração na condução elétrica é fundamental para a realização de tarefas motoras e sensoriais complexas.

Além da função na condução elétrica, a mielina também atua no transporte e na regulação do pH, do volume líquido e da composição iônica axonal. Essa função de manutenção da integridade axonal ressalta a íntima relação entre a mielina e o axônio subjacente (Bjartmar *et al.*, 2001; Dyer *et al.*, 2002; Edgar *et al.*, 2004a). Assim, usar RM para mensurar dano axonal e mielínico separadamente é muito difícil.

Infelizmente, com a tecnologia disponível atualmente, ainda é difícil acessar diretamente a porção não aquosa da mielina. Isto porque o sinal dos prótons não aquosos reduz para zero em algumas dezenas de milissegundos e porque o sinal proveniente dos lipídeos e das proteínas da mielina é indistinguível daquele proveniente de outros prótons não aquosos de outros constituintes do tecido neural. Dos métodos para a imagem direta da mielina *in vivo*, talvez as imagens com TE ultracurto e a espectroscopia de prótons sejam as mais promissoras (Laule *et al.*,

2007). No entanto, ambos apresentam dificuldades a serem superadas: na imagem com TE ultracurto, o inconveniente da contaminação do sinal da água (Waldman *et al.*, 2003); na espectroscopia de prótons, os desafios relacionados à caracterização quantitativa do sinal do grupo fosfatidilcolina (Kilby *et al.*, 1991; Poon *et al.*, 1992). Assim, na prática, a imagem da mielina é adquirida por meios indiretos, através do acesso à sua porção aquosa.

Atualmente, quatro principais métodos quantitativos permitem o estudo indireto da mielina: o tensor de difusão, o tempo de relaxamento em T2, a ITM e a espectroscopia (Laule *et al.*, 2007; Wilhelm *et al.*, 2012; Spader *et al.*, 2013; Björk *et al.*, 2016).

3.4.2.1 Imagem de tensor de difusão

A sequência *diffusion tensor imaging* (DTI) é uma técnica de RM que mede a cinética da molécula de água. É formulada em termos de difusividade média (*mean diffusivity* - MD) e anisotropia fracionada (*fractional anisotropy*- FA), ou mais especificamente pelos elementos axial e radial do tensor de difusão da água.

Sabe-se que a mielina não é necessária para a existência da difusão da água em nervos (Beaulieu C, 2002). No entanto, recentemente, foi demonstrado em modelos animais que a perda da mielina resulta no aumento do componente radial (Song *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2003). Assim, sabe-se que o DTI é capaz de prover informações sobre mudanças na mielinização; no entanto não é um indicador

confiável de mielinização absoluta. Isso porque os componentes do tensor de difusão dependem da orientação das fibras do trato dentro do voxel.

O que se sabe até aqui sobre a interpretação das informações fornecidas pelo DTI é que a redução da anisotropia fracionada tem se mostrado indicadora de mudanças estruturais, incluindo a degradação das membranas axonal e mielínica, anormalidades da mielina e redução da densidade de axônios mielinizados. Já o aumento da difusividade é muito provavelmente reflexo da redução da densidade celular ou do edema extracelular, possivelmente pelo aumento da permeabilidade da membrana axonal.

Recentemente, foram publicados vários estudos sugerindo que o DTI pode ser mais sensível que as imagens convencionais de RM para a detecção, visualização e quantificação da LAT. Na fase aguda do trauma, alguns estudos apontam tanto redução (Newcombe *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2009; Ljungqvist *et al.*, 2011) quanto aumento da FA (Bazarian *et al.*, 2007; Wilde *et al.*, 2008). Há ainda evidência de correlação entre os achados de DTI e as disfunções neurocognitivas (Niogi *et al.*, 2008). Na fase crônica após o trauma, há maior consenso, com a maioria dos estudos mostrando redução da FA na substância branca dos pacientes (Nakayama *et al.*, 2006; Sidaros *et al.*, 2008; Xu *et al.*, 2007; Ljungqvist *et al.*, 2011) e aumento das difusividades média, paralela e perpendicular (Ljungqvist *et al.*, 2011).

Talvez uma explicação possível para os diferentes achados entre os estudos citados seja a de que os parâmetros do DTI demonstrem padrões de

mudanças diferentes de acordo com a fase do trauma (aguda, subaguda ou crônica) e com a intensidade do trauma (leve, moderado ou grave). Provavelmente nos TCE leves observe-se de forma mais habitual, na fase aguda, aumento da FA e redução da difusividade média devido ao edema axonal seguido ao trauma e à síndrome pós-concussional (Bazarian *et al.*, 2007). Já nos TCE moderados e graves, a FA geralmente tende à redução a difusividade à um aumento, logo após o trauma. Aparentemente, o padrão evolutivo sobretudo da FA, nas fases subsequentes apresenta estreita relação com a evolução clínica do paciente, tendendo a piorar naqueles com evolução desfavorável, provavelmente representando degeneração Walleriana. Ainda, alguns estudos longitudinais apontam normalização parcial da FA após o TCE, apontando que seu aumento com o passar do tempo poderia ocorrer durante a reabilitação do paciente (Skoglun *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2007).

3.4.2.2 Tempo de relaxamento em T2

Sabe-se que o sinal da RM é proveniente essencialmente da água. A partir do tempo de relaxamento em T2, o sinal da água no cérebro pode ser separado em três componentes: um componente com T2 longo (2 segundos), que corresponde ao líquido; um componente com T2 intermediário (100 ms), que corresponde à água intra e extracelular; e um componente com curto T2 (20 ms) que acredita-se corresponder à água presa entre as camadas da bainha de mielina (Laule *et al.*, 2007).

A água “aprisionada” entre as camadas da mielina, isto é, a fração da água que apresenta tempo de decaimento em T2 entre 10 ms e 50ms, é uma extensão do espaço extracelular e sua porcentagem em relação ao conteúdo total de água pode ser calculada dividindo-se a área do sinal do T2 atribuída apenas à mielina pela área total do sinal em T2 (Figura 5).

Estima-se que esse valor do sinal em T2 varie entre 7 a 12 % do total da água (Oh *et al.*, 2006) e que apresente forte correlação com achados histológicos de densidade da mielina.

Diferentemente do DTI, que basicamente fornece informações sobre as interações mielina-axônio, esse método fornece valores quantitativos com uma alta sensibilidade à mielina, em nível de *voxel* (Spader *et al.*, 2018). Assim, há sólidas evidências sobre a alta sensibilidade dessa técnica à mielinização, com estudos evidenciando significativa redução da fração da água mielínica com a idade (Dean *et al.*, 2016; Dean *et al.*, 2017), em doenças neurodegenerativas como o Alzheimer (Dean *et al.*, 2017) e a esclerose lateral primária (Kolind *et al.*, 2012), e em pacientes com esclerose múltipla (Kolind *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014).

Em relação ao TCE, estudos evidenciam uma redução nas primeiras semanas (Wright *et al.*, 2016), com posterior aumento (Wright *et al.*, 2016; Spader *et al.*, 2018).

Figura 5- Gráfico da variação de sinal em T2 da água nos diferentes compartimentos do tecido neural. Enquanto a água entre as camadas da mielina apresenta ascensão e decaimento do sinal antes de 50ms, a água intra/extracelular apresenta variação do sinal após 50 ms, tornando possível a diferenciação de ambos os compartimentos.

No entanto, vários desafios ainda são associados a essa técnica. Dentre eles, destaca-se a dificuldade na aquisição de curvas de decaimento T2 suficientemente acuradas, a complexidade da análise da curva por se tratar da soma de componentes exponenciais e obstáculos relacionados ao desenvolvimento de modelos de interpretação como uma superimposição dos sinais dos diferentes compartimentos de água do sistema nervoso.

Assim, convencionou-se em interpretar o sinal que aparece no tempo menor que 50 ms, como aquele referente à água entre as camadas de mielina e, aquele que aparece após 50 ms, como referente ao compartimento intra e extracelular.

A adoção desse modelo presume que a troca entre os diferentes compartimentos, que resultaria numa redução da fração de água mielínica, seja

muito lenta em relação à escala de tempo T2. No entanto, há evidência de que, embora essa troca seja relativamente lenta, ela não é totalmente negligenciável no tecido neural (Doe *et al.*, 1998).

Outro viés da adoção dessa padronização é o pressuposto de que a relação entre a parcela aquosa da mielina e a não aquosa seja fixa (Laule *et al.*, 2007). Assim, mais estudos são necessários para a validação e aplicação desse método.

3.4.2.3 Imagem de transferência de magnetização

Uma das principais vantagens da RM em relação aos outros métodos diagnósticos é sua grande variedade de contraste nos tecidos. Os principais mecanismos de contraste usados na RM para diferenciar o tecido saudável e do não saudável são aqueles consequentes às diferentes densidades de *spins*, ao relaxamento longitudinal ou *spin-lattice* (T1) e ao relaxamento transversal *spin-spin* (T2). No entanto, outros mecanismos podem ser utilizados pela RM para criar mudanças específicas e sutis no contraste dos tecidos, tais como os decorrentes da susceptibilidade magnética, da transferência de magnetização, da difusão, perfusão, do fluxo e dos agentes de contraste (de Boer RW, 1995a).

O contraste de transferência de magnetização na RM foi descoberto durante um experimento nos rins, onde tentava-se realizar a transferência de *spins* saturando seletivamente a uréia e buscando uma leve supressão do sinal da água

(Wolff *et al.*, 1989). Em vez disso, eles encontraram uma acentuada perda de intensidade de sinal dos prótons no tecido, que independia da frequência do pulso de radiação. Essa supressão generalizada de sinal, conhecida como contraste de transferência de magnetização, foi aceita como uma nova forma de gerar contraste na RM, diferente de T1 e T2 (de Boer RW, 1995a; Henkelman *et al.*, 2001).

A transferência de magnetização é possível pelo fato de nos tecidos biológicos os núcleos de hidrogênio, ou prótons, existirem em duas reservas distintas (“*pools*”). A reserva denominada de reserva-livre consiste no volume de prótons relativamente livres das moléculas de água e de alguns lipídeos. Essa reserva de prótons, que tem uma linha espectral de ressonância reduzida, entre 10 e 100 Hz (Figura 6) e um T2 relativamente longo (isto é, maior que 10-100 ms), é a responsável pelo sinal nos métodos de contraste mais comuns da RM (T1 e T2).

A segunda reserva, ou reserva de prótons não-livres, consiste no volume de prótons ligados às proteínas, às outras macromoléculas e às membranas celulares. Essa reserva apresenta um T2 muito curto, menor que 0,1 ms, mas espectro de absorção de radiofrequência maior e mais constante que os prótons livres, entre 10 e 50 kHz (Figura 6). Essas duas características, ao mesmo tempo que impedem os prótons não-livres de contribuir diretamente para o sinal da RM, tornando-os “invisíveis” nas sequências convencionais de RM (Volz *et al.*, 2009; Henkelman *et al.*, 2001), também os torna cerca de 10^6 vezes mais sensíveis à um pulso apropriado de radiofrequência, *off-resonance*.

A invisibilidade dessa reserva é decorrente do fato de a RM só ser capaz de detectar o sinal de prótons que tenham tempo de relaxamento T2 suficientemente longo, isto é, maior que 10 ms. Esse é o tempo mínimo necessário para que os gradientes de codificação espacial, acionados entre o período de excitação dos *spins* e a aquisição da imagem, consigam rodar antes que o sinal tenha caído completamente (Laule *et al.*, 2007).

Em circunstâncias normais, há uma troca de magnetização entre a reserva de prótons livres para a reserva de prótons não-livres e vice e versa, resultando num equilíbrio. A perturbação da magnetização, por exemplo através de um pulso excitatório de radiofrequência, dos prótons em uma das duas reservas, determina subsequente mudanças em ambas as reservas.

Figura 6- Radiofrequência comparativa entre os prótons das macromoléculas e os prótons "livres", antes e após o pulso de saturação. (A) Os prótons das macromoléculas exibem uma variedade muito maior e constante de frequência de ressonância que os prótons livres, podendo ser preferencialmente saturados usando um pulso de radiofrequência *off-resonance*. (B) O pulso aplicado dista em 5 a 10 kHz da faixa de frequência de ressonância dos prótons livres, saturando apenas os prótons ligados às macromoléculas. Após o pulso, há transferência da magnetização dos prótons das macromoléculas aos livres e consequente redução do sinal gerado pelo *pool* de prótons livres.

Quando a reserva de próton não-livres é saturada seletivamente, não há formação de rede magnética nesse volume de prótons e assim cria-se uma diferença na magnetização entre ambas as reservas. No momento seguinte, através de mecanismos de relaxamento cruzado, há transferência da magnetização da reserva de prótons livres para os prótons não-livres (Figura 7). Essa transferência implica numa redução da magnetização total da reserva de prótons livres e, embora haja concomitante aumento da magnetização dos prótons não-livres, devido ao fato desses não colaborarem para o sinal mensurável da RM, o que se observa é uma redução da magnetização longitudinal total de todo o tecido, com redução do sinal-ruído (Figura 7).

Figura 7- Desenho esquemático de um tecido hipotético para demonstração do fenômeno de transferência de magnetização. Nesse tecido, há quatro prótons ligados à água (prótons “livres”) e quatro prótons ligados a uma macromolécula. Antes do pulso de saturação (imagem superior esquerda), há uma rede de magnetização positiva em ambas as reservas, formada pela soma da magnetização de cada próton. Os prótons livres e não livres podem transferir magnetização entre si e estão em equilíbrio, totalizando um sinal ruído de 4 (os prótons não livres não colaboram para o sinal). Após um pulso de radiofrequência que satura apenas os prótons ligados à macromolécula (imagem superior direita), há anulação da rede de magnetização da reserva não-livre. Nessa etapa, as setas para cima indicam uma unidade de sinal mensurável de RM para os prótons livres e as setas para baixo representam ausência de sinal de RM. Ainda não há alteração da magnetização da reserva livre. Posteriormente (imagem inferior), há relaxamento cruzado entre os *spins* de ambas as reservas, troca de magnetização entre dois prótons da reserva livre e dois prótons da reserva não-livre e redução pela metade do sinal-ruído (para 2). Assim, se o pulso de saturação for mantido, cria-se uma nova situação de equilíbrio onde o tecido tem menor magnetização longitudinal disponível e menor sinal de RM.

Diante da saturação seletiva e sustentada da reserva de prótons não-livres, não há apenas redução do tempo de relaxamento em T1 do tecido, mas também

mudança da magnetização total do estado de equilíbrio deste tecido. Isto quer dizer que, agora, após qualquer excitação, os prótons livres voltarão mais rápido para um novo estado de relaxamento (redução no tempo do relaxamento longitudinal), que apresenta um valor de magnetização menor que no tecido original (redução na magnetização longitudinal total) (Figura 8).

Figura 8- Comparação do tempo de relaxamento T1 e da magnetização de equilíbrio na reserva de prótons livres antes (M_0) e após (M_{sat}) a saturação. Num regime de saturação mantida dos prótons não-livres, não apenas há redução do tempo de relaxamento em T1, como há redução da magnetização do estado de equilíbrio.

Uma das consequências da transferência de magnetização é a geração do contraste de transferência de magnetização (Dixon *et al.*, 1990; Santyr GE, 1993). Esse contraste surge entre dois tecidos: o tecido em que ocorre a transferência da magnetização (tecido A) e o tecido circunjacente (tecido B). O tecido A é composto pelos prótons não-livres, ligados às macromoléculas, e pelos prótons livres das moléculas de água imediatamente adjacente (camada de água da superfície). O tecido B é composto apenas pelos prótons livres que estão distantes o suficiente das macromoléculas para que nenhuma troca ocorra entre eles (Figura 9).

Antes do pulso de saturação, os dois tecidos têm sinal-ruído igual, o que implica em ausência de contraste entre eles (Figura 9). Após o pulso de saturação e transferência de magnetização, o tecido composto pelas macromoléculas e as moléculas de água circunjacentes (tecido A), apresenta redução do sinal-ruído. Essa redução do sinal-ruído não é observada no tecido B, determinando diferença de sinal entre os tecidos no novo estado de equilíbrio e diferença de contraste nas imagens de RM (Figura 9).

Figura 9- Desenho esquemático de como a transferência de magnetização aumenta o contraste entre os tecidos. Antes do pulso de radiação e ocorrência de todos os eventos subsequentes (desenho superior), tanto o tecido A quanto B apresentam mesmo sinal-ruído. Após a cascata de eventos da transferência de magnetização (desenho inferior), o tecido que foi saturado e suas moléculas de água ao redor (tecido A) apresentam redução do sinal-ruído. Essa redução do sinal-ruído não é observada nas moléculas de água mais distantes (tecido B), gerando então o contraste.

Há basicamente duas formas de suprimir seletivamente os prótons não-livres (Ordidge *et al.*, 1991, Yeung & Aisen, 1992; Hua *et al.*, 1995). A primeira forma utiliza a diferença na frequência de precessão entre os prótons não-livres e livres (Figura 6-A). Para isso, são utilizados pulsos de radiofrequência, com frequências seletivas que distam o suficiente da frequência central de precessão dos prótons livres para não os influenciar (Figura 6-B). Esses pulsos, denominados *off-*

resonance, ao serem aplicados, não anulam apenas os *spins* que têm exatamente a mesma frequência de precessão, mas, devido à difusão entre *spins*, terminam afetando todos os prótons de macromoléculas.

O pulso *off resonance* é um pulso único e preciso de radiofrequência com uma estreita faixa de excitação que depende da forma e da duração do pulso. Dois parâmetros básicos influenciam a quantidade de saturação: a magnitude do pulso e o desvio da frequência escolhida em relação à frequência dos prótons livre. O aumento do B_1 resultará em uma maior saturação. Já a escolha de uma frequência mais perto da frequência de ressonância dos prótons livres, embora aumente a saturação dos prótons não-livres, se for muito perto da frequência dos prótons livres, resulta numa excitação direta também destes. Assim, na prática, utiliza-se um desvio de frequência de 1500 Hz.

A segunda forma de suprimir seletivamente os prótons não-livres baseia-se na diferença do tempo T2 entre ambas as reservas (de Boer RW, 1995a). Pulsos binomiais com um ângulo de pulso resultante de zero grau são *transmitidos on resonance*. Diferentemente do pulso *off resonance*, o pulso *on resonance* não é único, mas compreende uma cadeia de pulsos de radiofrequência (Yeung & Aisen, 1992; Hua *et al.*, 1995). Durante esta cadeia de pulsos, a amplitude da magnetização dos próton-livres não é mudada, mas sua direção é mudada de acordo com o *flip angle* de cada elemento da radiofrequência.

Devido ao longo T2 da reserva de prótons livres, muito mais longo do que a duração dos elementos da radiofrequência, ao final do pulso binomial, a

magnetização é retornada ao eixo z. Já a magnetização dos prótons não-livres, que apresentam T2 muito curto, é anulada, porque a perda de fase no eixo transversal é muito mais rápida do que a duração dos elementos da radiofrequência. Assim, o efeito final dessa cadeia de pulsos é a inalteração da magnetização da reserva de prótons livres e a anulação da magnetização da reserva de prótons não-livres (Sepponen *et al.*, 1992; Brown & Koenig, 1992).

Ambas as formas devem ser consideradas pré-pulsos de contraste de transferência de magnetização que podem ser intercalados com os pulsos das sequências padrões de RM. Como a transferência de magnetização é um processo dinâmico, os pré-pulsos devem ser repetidos para manter a reserva de prótons não-livres saturada. Geralmente 10 a 20 pulsos por segundo são o suficiente para uma saturação completa (Schneider *et al.*, 1993). Independentemente da forma de saturação escolhida, os resultados são bem semelhantes no efeito de transferência de magnetização.

Nas imagens encefálicas, essa técnica pode ser usada nas imagens de angio-RM, para suprimir o tecido de fundo nas imagens sem contraste, aumentando o detalhamento dos pequenos vasos nas imagens *time of flight* (TOF), e para destacar o realce pelo gadolínio nas imagens pós-contraste (Elster *et al.*, 1994; Mathews *et al.*, 1995).

No entanto, o efeito de transferência de magnetização não é apenas proposital e sempre vantajoso. Ele pode ser acidentalmente gerado em várias sequências padrões de RM onde são aplicados pulsos *off resonance* (Dixon *et al.*,

1990). Um exemplo é a sequência *spin echo*, em que a excitação seletiva de determinados cortes e os pulsos de refocagem podem ser considerados pulsos *off resonance* para os cortes vizinhos. Esse efeito também é observado em imagens 3D e de supressão de gordura e são significativos nas sequências *multislice fast spin echo*, devido aos vários pulsos de refocagem de 180° (Santyr *et al.*, 1993). Assim, foi demonstrado que a atenuação do sinal na SC e SB encefálica em sequências *multislice* é diretamente proporcional ao número de cortes adquiridos (Melki *et al.*, 1992).

Além de mudanças no contraste dos diferentes tecidos na imagem, a técnica de transferência de magnetização tem a habilidade de mostrar indiretamente as macromoléculas, através da redução do sinal gerado pelos prótons livres. Como no SNC, as principais macromoléculas são as proteínas e os esfingolípídeos das membranas axonais e mielínicas, o efeito de transferência de magnetização pode ser usado para investigar a integridade do axônio e da mielina.

A análise quantitativa da ITM nos fornece, dentre outros parâmetros, a razão de transferência de magnetização (RTM). Essa razão é obtida a partir de duas medidas: uma medida de referência e uma medida após o pulso de saturação. A RTM é calculada pela diferença relativa do sinal e medida em unidades percentuais. Assim, ela representa o decaimento do sinal entre as imagens antes e após o pulso de saturação e, portanto, a quantidade de magnetização transferida (Vavasour *et al.*, 2011).

Baixos valores de RTM indicam redução da capacidade da água livre de trocar magnetização com a matriz do parênquima neural, com o qual a água estabelece íntimo contato, logo, quanto menor a concentração de macromoléculas em um tecido, menor a queda da intensidade de sinal e, portanto, menor a RTM.

No líquido, por exemplo, onde praticamente não há macromoléculas e, portanto, nenhuma transferência de magnetização, o sinal não é afetado pelos pulsos de saturação e a RTM se aproxima de zero (Filippi *et al.*, 2004). Já no tecido neural preservado, onde a magnetização cai significativamente após a saturação dos prótons das macromoléculas, uma RTM de 40% a 50% pode ser vista, dependendo da sequência de pulso usada (Filippi *et al.*, 2004).

No entanto, cada vez mais observa-se que a RTM não varia apenas de acordo com a redução das macromoléculas. Na realidade, a RTM reflete a interação entre as duas reservas de prótons, então alterações em qualquer uma das reservas muda o valor final dela. A redução da RTM pode ser causada pela diminuição da reserva de prótons ligados às macromoléculas, pelo aumento da reserva dos prótons livres ou por ambos. Por outro lado, seu aumento pode ser consequente ao aumento da reserva de prótons ligados às macromoléculas, à redução da reserva de prótons livres ou à ambos.

A obtenção de dados quantitativos demanda habilidades técnicas e longos tempos de aquisição de exame e a correta análise dos efeitos de transferência de magnetização requer a quantificação de vários parâmetros físicos, como o tamanho relativo das reservas de prótons, a energia trocada entre eles e o tempo de

relaxamento dos seus *spins*. As medidas da RTM não são absolutas, mas sim suscetíveis a erros relacionados à movimentação durante a aquisição e a variações significativas na forma, largura da banda e na frequência *offset* do pulso de saturação (<http://mrquestions.com/mt-imagingcontrast.html>).

Além disso, embora nas ITM a intenção seja manipular indiretamente a reserva de prótons livres através da saturação da reserva de prótons não-livres, uma pequena saturação direta dos prótons livres é inevitável nesse processo e deve ser incluída na análise quantitativa do efeito de transferência de magnetização. Assim, a otimização cuidadosa da sequência da ITM é necessária para uma quantificação confiável (Gareau *et al.*, 2000).

As maiores contribuições das medidas obtidas a partir da ITM estão no estudo e monitoramento de doenças da SB (Fillipi *et al.*, 2004). Significativa redução da RTM foi observada na esclerose múltipla, tanto nas lesões da SB (Dousset *et al.*, 1992; Gass *et al.*, 1994; Hiehle *et al.*, 1994; Tomiak *et al.*, 1994) quanto na SB aparentemente normal (Dousset *et al.*, 1992; Hiehle *et al.*, 1994; Filippi *et al.*, 1995; Loevner *et al.*, 1995, Pike *et al.*, 2000). Esta redução tende a ser leve na SB aparentemente normal e altamente variável nas lesões da SB, de acordo com a fase da lesão e o grau de desmielinização (Eng *et al.*, 1991; Dousset *et al.*, 1992; Gass *et al.*, 1994; Hiehle *et al.*, 1994; Grossman *et al.*, 1994) e precedem, em anos, o surgimento de lesões nas imagens T2 (Pike *et al.*, 2000).

Reduções da RTM também foram caracterizadas na degeneração Walleriana (Lexa *et al.*, 1994), na neurite óptica (Thorpe *et al.*, 1995), na doença de

Alzheimer (Kabani *et al.*, 2002; Bozzali *et al.*, 2001; van der Flier *et al.*, 2002; van Es *et al.*, 2006; Ridha *et al.*, 2007), nas áreas de infarto e de penumbra na doença cerebrovascular oclusiva (Mehta *et al.*, 1995; Tourdias *et al.*, 2007; Kado *et al.*, 2001), nos tratos corticoespinhais e nas cápsulas internas de pacientes com esclerose lateral amiotrófica (Kato *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2011; Borsodi *et al.*, 2017); em várias áreas cerebrais de pacientes com esquizofrenia (Mandl *et al.*, 2010); em encefalite por HIV (Dousset *et al.*, 1997; Ge *et al.*, 2003) e em outras doenças infecciosas (Gupta *et al.*, 1999; Gupta R, 2002) e autoimunes do SNC (Campi *et al.*, 1996; Rovaris *et al.*, 1999).

Finalmente, no cenário do TCE, estudos evidenciam significativa redução da RTM na SB e no corpo caloso em pacientes com TCE leve, com alta sensibilidade para detecção daqueles sob risco de desenvolver déficits cognitivos (McGowan *et al.*, 2000; Hofman *et al.*, 2002; Narayana *et al.*, 2015). Ainda relatam redução da RTM da SB aparentemente normal em vítimas de TCE moderado e grave (Bagley *et al.*, 2000; Mamere *et al.*, 2009) e em modelos animais (Albensi *et al.*, 2000; Mac Donald *et al.*, 2007; Tu *et al.*, 2016).

3.4.2.4 Espectroscopia de prótons

Enquanto a ITM fornece informações estruturais sobre o tecido, a espectroscopia de prótons permite a detecção das alterações neuroquímicas de um dado tecido, como a creatina, a colina, o N-acetil-aspartato (NAA) e o lactato.

A espectroscopia de prótons é um bom método para detectar desmielinização ativa, mas não é capaz de acessar diretamente a mielina intacta. Assim, ela fornece informações apenas indiretas sobre a mielina, através do surgimento do pico de lipídeos neutros, associados à perda da mielina e, em alguns casos, do aumento do pico de colina, provavelmente associado à degradação da fofatidilcolina (Laule *et al.*, 2007).

No TCE, vários fatores influenciam as alterações encontradas na espectroscopia de prótons, dentre eles a região analisada (Mamere *et al.*, 2008), o tempo de realização do exame após o trauma (Govind *et al.*, 2010), a intensidade do trauma (Rubin *et al.*, 1997) e o prognóstico dos pacientes (Choe *et al.*, 1995; Sinson *et al.*, 2001). Traumas leves tendem a mostrar elevações sutis dos níveis de creatina (Govind *et al.*, 2010; Yeo *et al.*, 2011), de fosfocreatina (Yeo *et al.*, 2011) e de glutamina-glutamato (Gasparovic *et al.*, 2009; Yeo *et al.*, 2011) e discretas reduções na relação de NAA/Creatina e de NAA/Colina (Vagnozzi *et al.*, 2010). Já os TCE moderado e severo mostraram reduções mais expressivas das relações NAA/Creatina e NAA/Colina (Choe *et al.*, 1995; Sinson *et al.*, 2001) e acentuado aumento da colina (Marino *et al.*, 2007; Govind *et al.*, 2010).

Embora o lactato normalmente encontre-se aumentado em diversas condições que, assim como o TCE, cursem com prejuízo do metabolismo oxidativo e infiltração de células inflamatórias, no cenário do trauma, ele é pouco mencionado na literatura. Tal fato provavelmente seja explicado pelo rápido aumento e declínio, dificultando sua caracterização, já que a grande maioria dos estudos são realizados

com dias a semanas após o TCE, quando seus níveis já se normalizaram (Marino *et al.*, 2011).

O acompanhamento a longo prazo desses pacientes com TCE mostra que essas alterações tendem a melhorar com o tempo (Vagnozzi *et al.*, 2010; Yeo *et al.*, 2011). No entanto, essa melhora depende da gravidade do trauma (Signoretti *et al.*, 2001) e da evolução clínica do paciente (Signoretti *et al.*, 2002; Garnett *et al.*, 2000). Assim, apesar da aparente sensibilidade da espectroscopia no diagnóstico e monitoramento evolutivo dos pacientes com LAT, as dificuldades técnicas e limitações relacionadas à essa modalidade (incluindo as inúmeras variações dos parâmetros de aquisição e susceptibilidade a artefatos), reduzem drasticamente a confiabilidade e reprodutibilidade dos seus achados (Marino *et al.*, 2011).

3.4.2.5 Métodos automatizados de volumetria

A RM é uma excelente modalidade para estimação de atrofia tanto regionais, quanto globais (Narayana *et al.*, 2015). A análise volumétrica encefálica implica no isolamento e segmentação de estruturas encefálicas volumétricas específicas, a partir do contraste entre elas e os tecidos adjacentes. Pode basear-se no parcelamento automático ou no desenho manual tridimensional, a partir de imagens de RM. A morfologia e o volume dessas estruturas são capazes de mostrar os efeitos de variadas doenças e sua análise é ideal para estudar tanto o dano físico

direto do TCE quanto a aparência evolutiva cerebral no decorrer do tempo (Su & Bell, 2016).

Pode-se dividir os métodos de volumetria de diferentes formas, como entre semi-automatizados e automatizados, ou entre os que utilizam algoritmos de registro não lineares (*FLIRT*) e os que usam algoritmos de registro lineares (*FNIRT*, *MedINRIA*, *DTI-TK*, *SyN ANTs*). Os que utilizam registros não lineares, ainda podem ser divididos nos que realizam a análise morfométrica baseada no *voxel*, ou *voxel-a-voxel* (*voxel-based morphometry – VBM*) e os que realizam a análise morfométrica baseada no tensor (*tensor-based morphometry – TBM*), por exemplo. Nesse estudo utilizou-se um método automatizado, com método de registro linear (programa *FLS* com o uso do pacote *SIENA/SIENAX*).

O *FLS*, junto com o *Freesurfer* e o *Statistical Parametric Mapping (SPM)*, são os métodos automatizado mais utilizados atualmente. Eles mostram boa concordância com a segmentação manual (Heinen *et al.*, 2016), mas seus resultados podem ser influenciados por fatores técnicos, como ruído elétrico, baixa razão sinal-ruído, não homogeneidade do campo magnético e efeitos de volume parcial (Zhang *et al.*, 2001).

Embora a comparação entre eles mostre alguns resultados conflitantes (Morey *et al.*, 2008; Steenwijk *et al.*, 2013; Tudorascu *et al.*, 2016; Heinen *et al.*, 2016; Schoemaker *et al.*, 2016; Vidal-Jordana *et al.*, 2017; Rane *et al.*, 2017), no geral há boa concordância entre seus resultados, sobretudo entre os programas *FSL* e *Freesurfer* (Morey *et al.*; 2008; Heinen *et al.*, 2016; Jordana *et al.*, 2017; Rane

et al., 2017). Essa concordância varia de acordo com a região encefálica, sendo por exemplo, maior para o cérebro total, tálamo, núcleo caudado e lentiforme e menor para as amígdalas, o núcleo *accumbens* e hipocampo (Morey *et al.*, 2010; Perlaki *et al.*, 2017; Rane *et al.*, 2017).

Comparando-se SC e SB, alguns estudos sugerem maior acurácia do *FSL* para estimativa da SB e do *FreeSurfer* para a SC (Klauschen *et al.*, 2009), enquanto outros referem adequada concordância entre os métodos na estimativa do volume subcortical (Vidal-Jordana *et al.*, 2017). Já a comparação entre exames realizados em diferentes aparelhos evidencia maior consistência nos resultados do *FreeSurfer* e do *FSL* (variação menor que 1%), do que do *SPM* (variação de 5%) tanto para o encéfalo total, quanto para a SC e SB (Heinen *et al.*, 2016). Independentemente do programa escolhido, todos os métodos automatizados apresentam imperfeições nas máscaras padrões da SC e SB; o programa *FSL*, por exemplo, considera na sua máscara de SC menos parênquima dos núcleos da base e dos tálamos que o programa *SPM* (Heinen *et al.*, 2016).

No contexto do TCE leve, estudos que investigaram a redução volumétrica encefálica (Hofman *et al.*, 2002; Cohen *et al.*, 2007; Ross *et al.*, 2012; Ling *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2013; Lannsjö *et al.*, 2013), mostraram atrofia evidente a partir de cerca de 1 ano após o trauma, na fase crônica (MacKenzie *et al.*, 2002; Ross *et al.*, 2012; Zhou *et al.*, 2013), que pode ser tanto global (MacKenzie *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2013) quanto regional (Zhou *et al.*, 2013; Ross *et al.*, 2013). No TCE moderado e grave, a atrofia cerebral começa a ser evidente a partir de 1 a 3 semanas após o trauma (Blatter *et al.*, 1997; Bendlin *et al.*, 2008; Wright *et al.*, 2013) e se torna mais

prevalente com 6 a 12 meses (Sato *et al.*, 2001; Povlishock *et al.*, 2005; Warner *et al.*, 2010).

Essa atrofia não é limitada apenas às áreas de trauma direto (Bigler *et al.*, 1997; Gale *et al.*, 1993; Yount *et al.*, 2002; Tomaiuolo *et al.*, 2004), com alguns estudos mostrando que a coroa radiada e o cíngulo são particularmente suscetíveis às lesões relacionadas ao trauma (Yount *et al.*, 2002; Levine *et al.*, 2008; Hudak *et al.*, 2011). Ainda mostraram que o grau da atrofia é região-dependente, com as maiores taxas de atrofia ocorrendo no cíngulo anterior, no istmo do cíngulo e na SC do pré-cúneo (Zhou *et al.*, 2013; Ledig *et al.*, 2017).

Tanto no TCE leve, quanto no TCE moderado e grave, acredita-se que a taxa de atrofia observada tenha correlação com o tempo de perda de consciência (Trivedi *et al.*, 2007) e com o prognóstico do paciente (Cullum *et al.*, 1986; Hofman *et al.*, 2002; MacKenzie *et al.*, 2002; Warner *et al.*, 2010). Mas, independentemente do grau do TCE, ainda pouco se sabe sobre o padrão da redução volumétrica. Faltam ainda dados para estipular se a atrofia segue um padrão linear, exponencial, ou mesmo se tem períodos de piora e de estabilização (Ross DE, 2011).

Em relação à LAT, dados recentes histopatológicos de autópsia sugerem que a esta determine maior perda neuronal no córtex pré-frontal do que os mecanismos não difusos de TCE (Maxwell *et al.*, 2010), enquanto a análise *in vivo* revela maiores taxas de atrofia na amígdala, no pré-cúneo, nos lobos paracentrais e no córtex parietal (Warner *et al.*, 2010).

A relação entre atrofia e prognóstico clínico também tem sido avaliada na LAT. Num estudo onde foi realizada a análise volumétrica em 24 adultos com LAT severa, observou-se que o volume da SB afetada se correlacionava significativamente com a escala prognóstica de Glasgow (EPG) realizada após 6 meses do trauma (Marquez de la Plata *et al.*, 2007). Em outro, identificou-se que mudanças longitudinais no volume de áreas com alta conectividade, como o hipocampo, o tálamo, o córtex pré-frontal e o córtex do cíngulo conseguem prever o prognóstico na neuroreabilitação (Strangman *et al.*, 2010).

Um dos maiores desafios nessas técnicas de mensuração volumétrica reside no fato da morfometria ser altamente dependente do alto grau de definição do tecido, com resultados facilmente enviesados por erros de mensuração (Su & Bell, 2016). Por exemplo, o edema, comumente encontrado no contexto do TCE, afeta a aparência das estruturas, tanto na TC quanto na RM. Além disso, a natureza heterogênea da LAT, especialmente quando associada à acentuada deformidade cerebral, colabora ainda no prejuízo da segmentação das estruturas envolvidas, tanto nas técnicas automatizadas, quanto nas técnicas manuais (Irimia *et al.*, 2012). Outro fator que dificulta os estudos volumétricos de pacientes com LAT está relacionado ao desenho do estudo, sendo raros os artigos que incluam apenas pacientes com LAT pura, não associada a outros achados, como contusões (Green *et al.*, 2014).

4. Métodos

4.1 Caracterização do estudo

Foi realizado um estudo observacional, longitudinal prospectivo baseado na comparação da análise quantitativa das imagens de RM de um grupo de pacientes com TCE moderado e grave com diagnóstico clínico e radiológico final de LAD.

O estudo foi desenvolvido no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), localizado na região metropolitana de São Paulo. Trata-se de uma instituição que presta assistência em complexidade de nível terciário e de reabilitação aos pacientes do Sistema Único de Saúde.

Houve envolvimento dos departamentos de Radiologia e Oncologia (InRad – Instituto de Radiologia), de Neurologia e de Neurocirurgia da Faculdade de Medicina da USP. Não houve fonte de financiamento. A aprovação do Comitê de Ética ocorreu em 26 de março de 2014 (ANEXO A).

Os dados utilizados foram colhidos no período de 3 anos, de 2012 a 2015. Os dados clínicos foram coletados por neurocirurgiões e por profissionais da equipe de neuropsicologia do Serviço de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Os dados de imagem foram coletados na presença do radiologista.

O recrutamento de pacientes com LAT exclusiva, sem outras lesões intracranianas associadas, foi apenas possível pela criação de uma unidade de LAT dentro do ambulatório de neurotrauma do Serviço de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

O ambulatório de neurotrauma concentra vítimas de trauma cranioencefálico, a maior parte encaminhada após internação no próprio complexo hospitalar do Hospital das Clínicas, durante a fase aguda, embora uma minoria seja proveniente de internações em outros serviços.

Após o cadastramento desses pacientes no ambulatório de trauma, os que apresentaram dados clínicos e exames de imagem compatíveis com LAT foram recrutados para a unidade de LAT. O exame de imagem considerado para essa triagem foi a pior TC realizada durante a internação, ou seja, geralmente a primeira (realizada na entrada do paciente ao Pronto Atendimento) ou a segunda (realizada seis horas após a sua entrada). A repetição da TC em seis horas do trauma, caso a TC inicial seja normal, faz parte da rotina de atendimento de vítimas de TCE no setor de Pronto Atendimento do Hospital das Clínicas, pois não incomumente a primeira é normal e a segunda, alterada.

A partir daí os pacientes selecionados para a unidade de LAT foram submetidos a uma RM inicial, para a investigação de lesões cerebrais mais sutis. Também foram sujeitos a uma avaliação neuropsicológica inicial superficial (primeira avaliação neuropsicológica), cuja principal finalidade foi a de adquirir dados epidemiológicos e clínicos gerais para evitar vieses de seleção, como depressão e o uso de drogas ilícitas, dados sobre o cuidador e sobre o trauma. Nesta avaliação, os pacientes não foram submetidos a testes neuropsicológicos mais específicos pois os resultados poderiam ser subestimados pelo quadro confusional, ainda observado na maioria dos casos. Foram seguidas as recomendações do NIH (*National Institute of Health*), que orienta aguardar o

prazo médio de seis meses do trauma para a realização de uma avaliação neuropsicológica completa.

De todos os pacientes submetidos à RM e à avaliação neuropsicológica inicial, foram selecionados aqueles que preenchiam os critérios epidemiológicos, clínicos e de imagem do estudo, e cujo trauma ainda datava menos que dois meses (Figura 9). Assim, neste estudo foram incluídos pacientes adultos, de ambos sexos, vítimas de TCE de moderada e severa intensidade, que apresentaram o diagnóstico clínico e radiológico de LAT e que concordaram com o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE (ANEXO B).

Figura 10- Fluxograma de recrutamento dos pacientes.

Esses pacientes foram encaminhados para a realização de mais dois exames de RM subsequentes, efetuados cerca de 6 meses e 12 meses após o

trauma. A aderência dos pacientes ao estudo foi facilitada pela adequação das datas dos exames de imagem com as datas do retorno clínico e da avaliação neuropsicológica, as três sempre marcadas para o mesmo dia, e, esta última, para conforto do paciente, realizada geralmente numa sala ao lado da sala de RM.

Os pacientes que no exame inicial de RM apresentaram algum dos critérios de exclusão, embora afastados do estudo, foram conduzidos da forma considerada mais adequada. Esta incluiu desde apenas prosseguimento do acompanhamento ambulatorial até encaminhamento imediato para o Pronto Atendimento após a RM inicial, diante de achados que requisitaram reavaliação emergencial.

4.2 População do estudo

Neste estudo, incluíram-se somente os pacientes com diagnóstico clínico e tomográfico de LAT. O estudo tomográfico foi realizado no momento da admissão do paciente, como parte da rotina assistencial. Aqueles com TC grau I, II e III de Marshall foram incluídos no estudo e, aqueles com contusões maiores de 10 cm³, com desvio da linha média maior que 0,5 cm, ou com presença de coleção extra-axial que apresentasse efeito de massa sobre a superfície encefálica, excluídos. Os valores de 10 cm³ para contusões e de 0,5 cm para desvio da linha média foram selecionadas a partir de outros trabalhos com pacientes com LAT (Ding *et al.*, 2008) e de medidas convencionadas como critério de elegibilidade cirúrgica na prática neurocirúrgica.

Critérios de inclusão

1. Pacientes adultos (idade maior 18 anos) com lesão encefálica difusa identificada clinicamente no momento do trauma;
2. Escala de Coma de Glasgow admissional entre 3 e 12;
3. Rebaixamento de consciência imediata e prolongada decorrente de evento traumático documentado, sem outra causa justificável além da lesão encefálica primária;
4. Diagnóstico de LAT pela pior TC cranioencefálica realizada durante a fase aguda, através da caracterização de hemorragias puntiformes menores que 10 mm de diâmetro na transição entre a substância cinzenta e branca nos hemisférios cerebrais, nos gânglios basais, corpo caloso, porção superior do tronco encefálico, ou uma combinação delas;
5. Habilidade de compreender e seguir instruções em português.

Critérios de exclusão

1. Tratamento cirúrgico craniano prévio;
2. Lesões encefálicas com efeito expansivo;
3. Hipoxemia ($pO_2 < 60\%$ ou saturação de $O_2 < 90\%$ por mais de 5 minutos) documentada como causa do coma na fase aguda;
4. Parada cardíaca ou respiratória documentada;
5. Próteses metálicas não compatíveis com o campo magnético;
6. Comprometimento motor limitante para a realização do exame de RM;

7. Uso de drogas ilícitas ou medicamentos que atrapalhassem a orientação do paciente;
8. Não ter a data do diagnóstico de lesão encefálica traumática definida;
9. Pacientes cujas imagens apresentavam artefatos de movimentação incompatíveis com a análise automatizada;
10. Perda do seguimento durante o período de estudo.

4.3 Procedimentos

Ao todo, os pacientes foram avaliados em três momentos distintos:

1) Momento 1 (fase aguda tardia/subaguda precoce): aproximadamente 2 meses após o TCE, os pacientes foram atendidos na unidade de LAT do ambulatório de trauma do Serviço de Neurocirurgia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e submetidos a avaliação clínica pelo neurocirurgião, onde foram adquiridas informações básicas sobre o trauma, a partir de seus prontuários. Após esta avaliação, os pacientes foram encaminhados ao Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, para realização do primeiro exame de RM e na sequência foram submetidos a uma avaliação inicial superficial com a neuropsicóloga.

2) Momento 2 (fase crônica precoce): com cerca de 6 meses após o TCE, os pacientes foram novamente atendidos pelo neurocirurgião no ambulatório de trauma da Disciplina de Neurocirurgia do Departamento de Neurologia, passaram pela avaliação neuropsicológica completa e realizaram o

segundo exame de RM, tudo, se possível, realizado no mesmo dia ou no máximo com poucos dias de diferença.

3) Momento 3 (fase crônica tardia) – aproximadamente 12 meses após o TCE, os pacientes passaram por uma sequência de avaliações idênticas às descritas no momento 2, com atendimento clínico, neuropsicológico e realização do terceiro exame de RM.

4.3.1 Avaliação clínica

As informações sobre os dados demográficos e clínicos dos indivíduos foram coletadas seguindo o Protocolo Clínico Pré-Estabelecido (ANEXO C). Todos os indivíduos foram submetidos à anamnese e exame físico pelo médico neurocirurgião, sendo o exame neurológico realizado seguindo a rotina do ambulatório de trauma do HC-FMUSP. Além disso, também foram adquiridos alguns dados de imagem específicos a partir das tomografias realizadas durante a internação. Foram coletadas, dentre outras informações:

- mecanismo de trauma
- tempo entre o trauma e admissão
- modalidade de transporte até o hospital
- gravidade do trauma
- Escala de coma de Glasgow (ECG) na admissão
- pupilas
- déficits motores
- presença de hipóxia ou hipotensão

- Escala de Marshall na TC na fase aguda
- Presença de hemorragia subaracnoide (HSA) ou ventricular na TC
- Escala prognóstica de Glasgow (EPG)
- uso de medicamentos

A escala prognóstica de Glasgow (EPG) foi realizada após 12 meses do trauma e varia de 1 a 5, de acordo com o grau de incapacidade do paciente (Jennett *et al.*, 1975) (Quadro 3).

Quadro 4- Escala prognóstica de Glasgow

1. Morte	Trauma severo ou morte, sem recuperação do nível de consciência
2. Estado vegetativo persistente	Dano severo com estado arresponsivo prolongado e ausência de funções cerebrais superiores
3. Incapacidade severa	Dano severo com necessidade permanente de ajuda para realização das atividades diárias
4. Incapacidade moderada	Não necessita ajuda para a realização das atividades diárias. O retorno ao mercado de trabalho é possível, mas pode requisitar equipamento especial
5. Incapacidade leve	Dano leve com déficits neurológicos e psicológicos discretos

4.3.2 Avaliação por imagem

4.3.2.1 Aquisição das imagens

Os exames de RM de crânio foram realizados com bobina de prótons (1H) de cabeça de 8 canais, em aparelho de 3,0T (Intera Achieva, PHILIPS Healthcare, Best, The Netherlands), obtido pelo programa CInAPCe da FAPESP (Processo 05/56447-7).

Para as análises propostas neste estudo, foram utilizadas três sequências:

- Sequência gradiente eco adquirida no plano axial com a técnica *Principles of Echo Shifting with a Train of Observations (PRESTO)* 3D-T1FFE e os seguintes parâmetros: 130 cortes; tempo de eco (TE) / tempo de repetição (TR) = 29/22 ms; *flip angle* = 10°; *field of view (FOV)* = 220 x 182 mm; tamanho da matriz = 224 x 224; tamanho do voxel = 0,98 mm x 0,98 mm x 1,0 mm; *SENSE* = 2(R-L); duração média de aquisição: 3 min 14s.
- Sequência 3D ponderada em T1, com a técnica *Fast Field Echo* (3DT1-FFE), adquirida no plano sagital, e utilizando os seguintes parâmetros: 180 cortes; TE/TR = 2,7/6,2 ms; tempo de inversão (TI) = 700 ms; *flip angle* = 8°; FOV = 240 x 240 mm; matriz = 240 x 240; resolução do voxel = 1 mm³ (isométrico); duração média de aquisição: 4 min 13 s.
- Sequência de transferência de magnetização adquirida no plano axial, com a técnica *Fast Field Echo* (3DT1-FFE), com (M_{on}) e sem pulso (M_{off}) de saturação, com os seguintes parâmetros: 48 cortes; TE / TR = 7,3 / 3,6 ms; *flip angle* = 8°; FOV = 240 x 240 mm; matriz de aquisição = 240 x 240; matriz de

reconstrução = 480 x 480. Tamanho do voxel de aquisição = 1,0 x 1,0 x 3,0 mm; tamanho do voxel de reconstrução = 0,5 x 0,5 x 3,0 mm; duração média de aquisição: 4 min 28,5s.

4.3.2.2 Processamento das imagens

Para o processamento das imagens PRESTO, T1, ITM e para o cálculo do volume foi utilizado o programa *Functional Magnetic Resonance Imaging of the Brain Software Library – FMRIB SL*, ou FSL v5.0.1 (<https://fsl.fmrib.ox.ac.uk>).

4.3.2.2.1 Processamento das imagens de susceptibilidade magnética para obtenção da máscara com as lesões hemorrágicas

Pela possibilidade do conteúdo hemático por si só reduzir o valor final da RTM, optou-se por excluir do cálculo da RTM as hemorragias petequais no grupo dos pacientes e assim evitar resultados enviesados. Devido ao grupo controle, ser formado por indivíduos jovens sem hemorragias petequiais, essa etapa não foi julgada necessária.

Para a criação das máscaras com as lesões a serem posteriormente subtraídas das máscaras de SB e SC, utilizaram-se as imagens PRESTO. Assim, os focos hemorrágicos foram excluídos do cálculo final da RTM.

Na primeira parte do processamento das imagens PRESTO, elas foram submetidas à reorientação através do comando *fslreorient2std* do programa FSL. O objetivo dessa etapa foi o de reorientar as imagens para obedecerem à mesma

disposição que a imagem padrão cerebral fornecido pelo Instituto de Neurologia de Montreal (*Montreal Neurological Institute template - MNI152_T1_1mm*) (Jenkinson *et al.*, 2001, 2002) sem, contudo, realizar-se o registro entre essas imagens. Assim foram apenas aplicadas rotações de 90, 180 e 270 graus nos diferentes eixos das imagens originais e o resultado dessa etapa, denominado de PRESTO_reoriented.

Em seguida, a ferramenta *Brain Extraction Tool* (BET) foi usada nas imagens PRESTO_reoriented para realizar a extração do tecido encefálico dos tecidos adjacentes, incluindo a calota craniana e tecidos superficiais extracranianos. Para manter o máximo de tecido neural e evitar perdas na superfície cortical, optou-se por utilizar um valor de corte de intensidade fracionária de 0,5 (ANEXO D). Nomearam-se as imagens extraídas de PRESTO_brain (Figura 11).

Na sequência, usou-se a ferramenta *FMRIB's Automated Segmentation Tool* (FAST) para a segmentação do conteúdo intracraniano da imagem PRESTO_brain em diferentes tecidos. Observou-se que alterando o número de classes de segmentação de três para quatro, foi possível separar o conteúdo intracraniano não apenas em líquido cefalorraquidiano, SB e SC, mas também numa quarta classe, que serviria como máscara das lesões hemáticas parenquimatosas, denominada *Lesion_mask.nii.gz*. Embora essa classe incluísse alguns voxels no espaço subaracnoide, que representavam o líquido cefalorraquidiano com baixo sinal por artefato de fluxo, ela destacou predominantemente o conteúdo hemático, intra ou extravascular. Assim, no parênquima, ela selecionou com fidelidade as lesões hemáticas na SB e SC

evidenciadas nas imagens PRESTO (Figura 11).

Figura 11- Imagens obtidas com o auxílio do programa *FSL v5.0.1.*, a partir das imagens de suscetibilidade magnéticas originais (imagens PRESTO). As pequenas lesões hemorrágicas parenquimatosas caracterizam-se como focos de hipossinal nas imagens PRESTO após a extração do tecido neural em relação aos tecidos adjacentes (PRESTO_brain) (A). Elas também são apreciáveis na máscara do conteúdo hemático (B), obtida após a segmentação da imagem em A e na sobreposição de ambas as imagens A e B (C), com adequada correspondência entre elas.

A utilização da segmentação automática das lesões petequiais apresenta várias vantagens em relação à segmentação manual, como expressiva redução do tempo de processamento e dos erros relacionados à dificuldade na caracterização e no correto delineamento das margens das lesões, devido às suas diminutas dimensões.

Além de melhores resultados na identificação das lesões e preservação

do parênquima sem hemorragia, por a segmentação automática ser baseada na intensidade de sinal dos *voxels*, incluiu-se nessa máscara todos os *voxels* com baixo sinal, seja por depósito de sangue, depósito de cálcio/minerais, ar ou acúmulo de gordura. Assim, selecionou-se também o baixo sinal nos globos pálidos relacionado à deposição de metais (inerente à idade e/ou outros fatores não relacionados ao trauma), excluindo-os do cálculo da RTM da SC (Figura 12).

Figura 12- Imagens semelhantes às anteriores, obtidas após parte do processamento das imagens de suscetibilidade magnética originais (imagens PRESTO), com o auxílio do programa *FSL v5.0.1*. Os focos de mineralização nos globos pálidos são caracterizados como baixo sinal (seta verde) nas imagens PRESTO_brain (A) e como focos amarelo-alaranjados (seta branca) na máscara do conteúdo hemático (B). Após a sobreposição de ambas as imagens (C), observa-se adequada correspondência dos focos de baixo sinal com os focos amarelo-alaranjados (seta azul).

4.3.2.2.2 Processamento das imagens T1 para obtenção das máscaras de SC e SB

Tanto para o grupo dos pacientes quanto para os controles, a primeira parte do processamento das imagens T1 consistiu na reorientação das imagens através da utilização do mesmo comando *fsloreorient2std* usado nas imagens PRESTO. O resultado foi o realinhamento das imagens T1 à imagem padrão no espaço MNI-152 e obtenção da imagem T1_reoriented.nii.gz (Figura 13).

O próximo passo incluiu a extração das partes moles e ósseas periencefálicas das imagens T1, com isolamento do tecido neural das estruturas adjacentes, utilizando-se para isso a mesma ferramenta usada na extração do tecido neural das imagens PRESTO (ferramenta BET). No entanto, diferentemente da extração realizada na imagem PRESTO, para um adequado delineamento dos sulcos cerebrais das imagens T1 e subtração da região cervical, optou-se por um valor de corte de intensidade fracionária de 0,35 e adição de auxílio de limpeza cervical e correção de viés do campo, já que o FOV das imagens T1 foi maior que do PRESTO (ANEXO D). O resultado dessa etapa foi a imagem T1_brain (Figura 13).

Figura 13- Imagens sagital, coronal e axial originais T1, antes da etapa de reorientação (A), após a reorientação (B) a após a extração do tecido encefálico (C) com o uso do programa *FSL*. Destaca-se o alinhamento incorreto das imagens originais T1 (A), com inversão nos três planos.

Na sequência, realizou-se a segmentação do conteúdo intracraniano em três tecidos: líquido cefalorraquidiano (T1_brain_pve_0), SC (T1_brain_pve_1) e SB (T1_brain_pve_2). Mesmo após a correção das máscaras de SC e SB, através da determinação de um valor de corte maior que 1,0 para SB (excluindo os voxels com valor menor que 1,0) e binarização da máscara da SC (transformando todos os valores diferentes de zero em 1,0), o resultado da segmentação automática não ficou satisfatório. A máscara da SC ficou com o córtex muito espesso e a máscara da SB incluiu os globos pálidos, amígdala, hipocampo e parte do tálamo (Figura 14).

Figura 14- Imagens axiais das máscaras não adequadas (em verde) da SC (A) e SB (B), que foram inicialmente geradas pela ferramenta *FAST* a partir das imagens T1, sobrepostas à imagem T1_brain. Observa-se a inadequada inclusão de parte do tálamo e dos globos pálidos como SB.

Assim, optou-se por corrigir as máscaras da SC e SB geradas pelo FAST, utilizando-se para isso o FIRST. O FIRST é uma ferramenta de registro e segmentação que procura em diferentes modelos, construídos a partir de segmentações manuais fornecidas pelo Centro de Análise Morfométrica (*Center for Morphometric Analysis- CMA, MGH, Boston*), a forma mais provável dadas as intensidades observadas na imagem ponderada em T1 (Patenaude *et al.*, 2011). Assim, conseguiu-se uma acurada segmentação da SC profunda, com aprimorada segmentação dos putames, globos pálidos, tálamos, hipocampus, amígdalas e núcleos *accumbens*, que se denominou de NB_mask (Figura 15).

Figura 15- Imagens sagitais, coronais e axiais da máscara da SC profunda geradas pela ferramenta *FIRST* a partir das imagens T1, sobrepostas à imagem T1_brain. Os cortes cerebrais vão da direita e região anterossuperior (A) para a esquerda e região póstero-inferior (C). Observa-se adequado delineamento do tálamo, dos globos pálidos, putames, caudados, melhores demonstrados em (A) e (B), bem como dos hipocampus e amígdalas, melhores caracterizados em (B) e (C).

Essa máscara foi então aplicada às máscaras da SC (T1_brain_pve_1) e SB (T1_brain_pve_2) da seguinte maneira: para a SB, subtraiu-se a NB_mask (Figura 15), da máscara T1_brain_pve_2 (Figura 14B) aplicou-se um valor de corte de 0,5, incluindo-se todos os valores maiores que 0,5 e realizou-se a binarização. O resultado chamou-se de WM_mask (Figura 16A).

Para a SC, aplicou-se à máscara T1_brain_pve_1 (Figura 14A) um valor de corte de 0,5 e o produto foi denominado GM_mask_temp. Na sequência,

adicionou-se a NB_mask (Figura 15) à máscara GM_mask_temp, binarizou-se o produto e denominou-o GM_mask (Figura 16B e 16C).

Figura 16- Imagens sagitais, coronais e axiais das máscaras da SC (A), SB (B) e ambas (C), após aplicação das máscaras da SC profunda gerada pelo FIRST sobre as máscaras imprecisas adquiridas inicialmente pelo FAST, com inclusão adequada dos tálamos e dos globos pálidos na máscara de SC.

O resultado dessa etapa foram duas máscaras alinhadas ao T1, uma discriminando a SC e incluindo o córtex cerebral, o córtex cerebelar, os núcleos da base, a amígdala e o hipocampo e outra discriminando a SB, sem contaminação da SC profunda (Figura 16).

4.3.2.2.3 Subtração das lesões hemorrágicas das máscaras da SB e SC

A próxima etapa consistiu em subtrair das máscaras da SC e SB as lesões segmentadas na máscara *Lesion_mask* no grupo dos pacientes. No grupo controle as máscaras acima geradas já eram as máscaras finais usadas na aplicação sobre o mapa de RTM e no cálculo volumétrico.

As máscaras da SC e SB foram extraídas das imagens T1 e, portanto, seguiam o alinhamento desta. Já a máscara das lesões hemorrágicas foi extraída a partir do PRESTO e, portanto, estava alinhada a este.

Assim, o primeiro passo consistiu no alinhamento entre as três máscaras para assim poder realizar a subtração. A forma mais facilmente encontrada foi a de se alinhar as imagens PRESTO ao T1, ambas após extração do tecido encefálico (PRESTO_brain e T1_brain), utilizando-se para isso a ferramenta FLIRT. Como a imagem PRESTO é cortada parcialmente em relação ao T1, foi importante manter os parâmetros desse alinhamento rígidos, optando-se por um grau de liberdade de apenas 6 parâmetros e selecionando-se a opção de imagens já virtualmente alinhadas, isto é, por ângulos de mudança mínimo e máximo de 0 grau (ANEXO D).

Em seguida, extraiu-se desse corregristo, a matriz e aplicou-a diretamente na máscara das lesões, com consequente alinhamento desta ao T1. Foi possível então subtrair a máscara das lesões realinhada ao T1, às máscaras da SC e SB, através do comando *fslmaths* (ANEXO D). Após essa subtração, um valor de corte de 1 foi aplicado, selecionando apenas os *voxels* com valor maior que 1. Finalmente obteve-se a máscara da SC e SB sem as lesões

hemorrágicas, as quais denominaram-se GM_no_lesion_mask e WM_no_lesion_mask, respectivamente (Figura 17).

Figura 17- Imagens axiais em cortes de superior (esquerda) para inferior (direita) das imagens PRESTO_brain (A), das máscaras finais da SC (em azul) e SB (em verde) após a subtração das lesões hemorrágicas, quando sobrepostas ao PRESTO_brain (B) e ao T1_brain (C). Evidencia-se adequada subtração das lesões das máscaras finais tanto de SC quanto de SB (setas brancas). Essas máscaras finais foram aplicadas numa etapa posterior ao mapa de RTM.

4.3.2.2.4 Processamento das imagens de transferência de magnetização

As ITM com e sem pulso de saturação foram obtidas em conjunto durante a aquisição do exame. Assim, a primeira etapa do processamento

consistiu na separação entre as imagens com pulso (M_{on} ou MT_0001) e sem pulso de saturação (M_{off} ou MT_0000), através do comando *fs/split* do programa FSL (Figura 18).

Figura 18- Imagens de transferência de magnetização, MT_0000 (A) e MT_0001 (B), adquiridas antes e após o pulso de saturação, respectivamente.

Após a separação, as imagens MT_0000 e MT_0001 foram submetidas à reorientação, através do comando *fs/reorient2std*, com o resultado sendo as imagens MT0_reoriented e MT1_reoriented.

Na sequência realizou-se o cálculo do mapa da razão de transferência de magnetização (RTM), através da aplicação da seguinte equação nas imagens MT0_reoriented.nii.gz (ou M_{off}) e MT1_reoriented.nii.gz.(ou M_{on}) :

$$RTM = \frac{Moff - Mon}{Moff} \times 100$$

Paralelamente ao cálculo do mapa de RTM, realizou-se a extração do tecido encefálico da imagem de magnetização reorientada com pulso de saturação (MT1_reoriented), obtendo-se a imagem com apenas o encéfalo (MT1_brain) e uma máscara do tecido encefálico isolado (MT1_brain_mask).

Para isso utilizaram-se os parâmetros padrões da ferramenta BET, ou seja, um valor de corte de intensidade fracionária de 0,5 (ANEXO D). Foi então realizada a sobreposição do mapa de RTM com a MT1_brain_mask, utilizando-se a ferramenta *fslmaths* (ANEXO D). O resultado foi a obtenção do mapa de RTM (imagem MTR.nii) apenas do tecido encefálico (MTR_brain.nii) (Figura 19).

Figura 19- Mapa de transferência de magnetização antes (A) e após a extração da calota craniana e dos tecidos superficiais MTR_brain (B).

Em seguida, realizou-se o alinhamento da imagem MT1_brain com a imagem T1_brain, utilizando-se novamente a ferramenta FLIRT com 6 graus de liberdade e com ângulos de busca mínimo e máximo de 90 graus (ANEXO D). Dessa etapa, obteve-se a imagem MT1_brain alinhada ao T1, a qual denominou-se MT1_brain_FLIRT.

Finalmente, com a imagem MT1_brain alinhada ao T1_brain (imagem MT1_brain_FLIRT) a qual denominamos, para fins didáticos, de operação A, foi possível alinhar as máscaras finais da SC (GM_no_lesion_mask) e SB (WM_no_lesion_mask) ao mapa de RTM. Para isso, foi necessário calcular a matriz inversa da operação A através do comando *convert_xfm*, e aplicar essa matriz inversa às máscaras (ANEXO D). O produto desta etapa foram as GM_no_lesion_FLIRT.nii e WM_no_lesion_FLIRT.nii, que após aplicação de um valor de corte de 0,4 e do comando de transformação binária (ANEXO D), forneceram as máscaras binárias finais GM_no_lesion e WM_no_lesion (Figura 20).

Figura 20- Imagens axiais de inferior (esquerda) para superior (direita) das máscaras de SB, em amarelo (A), de SC, em laranja (B), e de todo o encéfalo, em vermelho (C), com as lesões hemáticas subtraídas. As máscaras estão sobrepostas ao mapa de transferência de magnetização, após a extração da calota craniana e dos tecidos superficiais (MTR_brain).

4.3.2.2.5 Cálculo do histograma de RTM

Finalmente, o último passo das ITM foi o cálculo dos histogramas de SC e SB e a obtenção da RTM média e dos percentis 25, 50 e 75 de cada um dos histogramas, através do comando *fs/stats* do próprio FSL (ANEXO D). Assim, geraram-se três histogramas para cada paciente, de SC, de SB e do ET,

excluindo-se do cálculo os focos de hemorragia.

Cada histograma apresentou um total de 100 colunas, cada uma delas com um intervalo de 1 de largura. Logo, o valor de RTM calculado foi de 1 a 100 (Figura 21). O eixo y mostrou o número de *voxels* com o determinado valor de RTM da coluna, e o eixo x, os valores de RTM que correspondem ao percentual de perda de sinal após a saturação das macromoléculas. Quanto maior a quantidade de macromoléculas no tecido cerebral, maior a queda do sinal e, portanto, a RTM.

Figura 21- Sobreposição dos histogramas da SC (laranja), da SB (cinza) e do ET (vermelho). Podemos observar que o histograma da SB tem pico com maior altura e localizado mais à direita do que a SC. Esse achado indica maior heterogeneidade de valores de RTM média e maior quantidade de *voxels* com valores mais alto de RTM.

Devido ao desenho longitudinal do nosso estudo, no grupo de pacientes,

cada histograma de RTM, da SC, SB e ET, foi gerado três vezes ao longo de um ano: com cerca de dois meses, seis meses e um ano após o TCE. Já no grupo controle, eles foram gerados apenas uma vez (ANEXO E), pois não havia motivos para variações da RTM no curto prazo do estudo. Assim, ao longo do estudo, cada paciente apresentou no total nove histogramas e cada controle, três.

4.3.2.2.6 Cálculo do volume

O cálculo do volume encefálico foi realizado utilizando-se o conjunto de comandos fornecido pelo FSL denominado SIENAX (*Structural Image Evaluation, Using Normalization, of Atrophy Cross-sectional*), que utiliza diferentes ferramentas para calcular o volume transversal, isto é, restrito a apenas um ponto específico temporal. As principais vantagens em se utilizar o SIENAX são: 1) de todas as etapas serem realizadas automaticamente, 2) dos resultados serem corrigidos pelo tamanho da calota craniana, possibilitando a comparação entre indivíduos e 3) de permitirem a análise de imagens de RM não-ideais, adquiridas com diferentes sequências e com distintas espessuras de corte (Smith et al., 2001).

O SIENAX inicia o processamento realizando a extração do cérebro das estruturas adjacentes, usando para isto a ferramenta BET, já descrita anteriormente. Utilizou-se como valor de corte da intensidade fracionária 0,35 no grupo de pacientes e 0,3 no grupo-controle.

Como resultado dessa etapa, obteve-se a imagem cerebral segmentada, uma máscara binária cerebral e uma imagem da superfície externa da calota craniana, utilizada no registro da imagem cerebral (Figura 22 e 23). Tanto o cerebelo quanto parte do tronco cerebral foram incluídos na segmentação (Figura 23A). A partir da imagem do crânio obtida, obteve-se o fator de escala volumétrica que seria usado posteriormente para a normalização do volume de acordo com o tamanho craniano. Na sequência, o cérebro fornecido foi registrado a um encéfalo padrão no espaço MNI-152 (Figuras 22 e 23).

Figura 22- Esquema das etapas do processamento SIENAX.

Figura 23- Imagens sagitais, coronais e axiais do resultado da extração encefálica realizada com o uso da ferramenta *BET* (A) e do registro com o encéfalo padrão no espaço MNI (B). Em (C), observa-se a sobreposição da máscara padrão (em vermelho) com a máscara original extraída das imagens T1 (em azul) e em verde a intersecção dos dois, durante o processamento *SIENAX*.

Finalmente, foi realizada a segmentação encefálica do T1 de acordo com o tipo de tecido, em SB, SC, SC superficial e compartimento liquórico e seus respectivos volumes estimados para assim se calcular o volume cerebral total (Figura 24).

Figura 24- Imagens sagitais, coronais e axiais do resultado da segmentação encefálica realizada através da ferramenta *FAST*. Em (A), segmentação do encéfalo total, em (B) da SC cortical cerebral e em (C) do conteúdo líquido, em (D) da SC total e em (E) da SB.

No entanto, a segmentação da SC cortical, diferentemente da realizada no cálculo da RTM não inclui a SC cortical cerebelar. Além disso, como o SIENAX utiliza a ferramenta *FAST* para a segmentação e, portanto, parâmetros

básicos pré-estabelecidos, a mesma perda de qualidade da segmentação da SC profunda observada anteriormente na separação do T1 para o cálculo da RTM, foi observada aqui. Assim, considerou-se o volume cerebral total reportado pelo SIENAX adequado, mas não os volumes de SC cortical nem o de SC profunda.

Para adquirir o volume da SC profunda, da SC total e da SB total optou-se por usar a máscara dos núcleos da base (NB_mask) gerada pela ferramenta FIRST *que foi* utilizada para correção das máscaras de SC e SB do processamento T1, antes da exclusão das lesões hemorrágicas subtraídas.

Como o volume de cada *voxel* é conhecido, a multiplicação de seu número pelo seu volume fornece o volume total da SC e SB extraído pelas máscaras.

O cálculo por contagem de número de *voxels* através de uma máscara sempre denota uma sutil perda de volume em relação à imagem inicial. Isso porque a própria geração da máscara implica na perda de alguns *voxels*. Para corrigir esse pequeno desvio e manter o volume o mais fidedigno possível, utilizou-se como padrão-ouro o volume encefálico fornecido pelo SIENAX. Dividindo-o pelo volume encefálico calculado pela soma do volume da GM_mask e da WM_mask, conseguimos um “fator de correção”. Multiplicando-se o volume de cada máscara (GM_mask e WM_masks) por esse fator, obteve-se o volume mais acurado possível por esse programa. A soma do volume das máscaras denominamos de volume encefálico total (Figura 25).

Além disso, uma das maiores vantagens do SIENAX é sua capacidade de fornecer volumes não normalizados e normalizados, isto é, ajustados pelo valor de correção que muda de acordo com o tamanho da calota craniana de

cada paciente. Novamente, a extração desse novo fator de normalização é obtida através da divisão do volume encefálico normalizado pelo não normalizado fornecidos pelo SIENAX. Assim, multiplicando-se o volume total encefálico (gerado pela soma e correção das máscaras) por esse novo fator de normalização, obteve-se o volume de cada compartimento corrigido pelo tamanho do crânio (Figura 25).

Figura 25- Síntese do cálculo do volume da SB e da SC não normalizado e normalizado.

4.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo pesquisador responsável, com o uso do programa RStudio versão 1.1.447 (2009-2018) e, posteriormente, revisadas por um profissional em estatística (MHT), com o uso do programa IBM-SSPM *Statistics* versão 17.0.

4.4.1 Estatística descritiva

A suposição de normalidade da amostra foi verificada com o teste Kolmogorov-Smirnov. Valor de $p < 0,05$ indicou que a suposição de normalidade não foi satisfeita.

No grupo controle, a RTM média, os percentis 25, 50 e 75 da RTM, os volumes e os desvio-padrões apresentaram distribuição normal (ANEXO I). No grupo de pacientes, as únicas variáveis que não apresentaram distribuição normal foram: a EPG e o desvio padrão da RTM média de todo o encéfalo no segundo exame (seis meses após o trauma), quando a RTM foi calculada desconsiderando as lesões hemorrágicas (ANEXO I).

4.4.2 Análise estatística das variáveis entre os grupos

Para verificar se houve alteração significativa nas médias das variáveis entre os grupos, isto é, entre o grupo controle e o grupo dos pacientes, seja neste último comparando todos os exames de uma só vez ou separadamente, foram realizados testes t para comparação de amostras independentes. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$, indicando que há diferença entre os grupos.

4.4.3 Análise estatística da RTM média nos diferentes compartimentos encefálicos entre os exames dos pacientes

No grupo dos pacientes, para verificar se houve mudanças entre os

exames, isto é, ao longo do período de um ano, da RTM média e dos seus percentis nos diferentes compartimentos avaliados (SC, SB e encéfalo total) foi realizado o teste de Friedman. Este teste foi optado por se tratar de medições dependentes, repetidas no mesmo indivíduo (dependência intra-indivíduo). Quando uma diferença significativa foi caracterizada ($p < 0,05$), realizaram-se comparações múltiplas para detectar os períodos que diferiram entre si.

4.4.4 Análise estatística do volume nos diferentes compartimentos encefálicos entre os exames dos pacientes

Para verificar se houve mudança no volume dos compartimentos avaliados (SC, SB e encéfalo total) entre os exames dos pacientes, foi também realizado o teste de Friedmann, por motivos já explicados acima. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$ e em casos de diferença significativa, também se realizaram as comparações múltiplas para detectar os períodos que diferiram entre si.

4.4.5 Análise estatística da correlação entre a variação da RTM média nos diferentes compartimentos cerebrais e a idade

A investigação da correlação entre a RTM média dos diferentes compartimentos e a idade foi realizada tanto no grupo controle quanto no grupo dos pacientes, através do teste de Pearson, pois todas as variáveis apresentaram distribuição normal. Foram consideradas significativas

correlações com valores de $p < 0,05$.

4.4.6 Análise estatística da correlação entre a variação do volume nos diferentes compartimentos cerebrais e a idade

Pelo mesmo motivo, a investigação da correlação entre o volume dos diferentes compartimentos e a idade também foi realizada nos dois grupos (controles e pacientes) através do teste de Pearson e consideradas significativas quando $p < 0,05$.

4.4.7 Análise estatística da correlação entre a variação da RTM média e do volume nos diferentes compartimentos cerebrais

Foi avaliada a correlação entre a RTM média e o volume, tanto de cada exame dos pacientes, quanto para cada um dos períodos de variação (isto é, a variação dessas variáveis entre o primeiro e o segundo exame, entre o segundo e o terceiro exame e entre o primeiro e terceiro exame). Para isso foi utilizado o teste de correlação de Pearson já que ambas as variáveis em questão (RTM e volume) apresentaram distribuição normal. Foram considerados como significativo, correlações com um valor de $p < 0,05$.

4.4.8 Análise estatística da correlação entre os resultados da escala prognóstica de Glasgow e a RTM de cada compartimento encefálico

Para avaliar a correlação entre o valor de RTM média de cada

compartimento encefálico, em cada exame dos pacientes e a EPG, foi utilizado o teste de Spearman, pois a EPG não possui distribuição normal. O mesmo teste foi utilizado para avaliar a correlação entre a variação da RTM média nos dez meses de estudo e a EPG. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

4.4.9 Análise estatística da correlação entre os resultados da escala prognóstica de Glasgow e o volume de cada compartimento encefálico

Para avaliar a correlação entre o volume de cada compartimento em cada um dos três exames e a EPG, foi utilizado o teste de Spearman. O mesmo teste foi utilizado para avaliar a correlação entre a variação do volume durante o estudo e a EPG. Foram considerados significativo valores de $p < 0,05$.

4.4.10 Análise da eficiência de cada variável em diferenciar os pacientes com prognóstico bom e ruim

Para avaliar a eficiência das variáveis em discriminar os pacientes com prognóstico bom (EPG=5), dos ruins (EPG entre 1 e 4), foi realizada a curva ROC e calculada a área sob a curva. Foram considerados eficientes, variáveis que apresentaram uma área maior que 0,8.

5. Resultados

5.1 Participantes

Dos 225 pacientes com LAT, vítimas de TCE moderado e grave, registrados na unidade de LAT do ambulatório de neurotrauma, 84 foram submetidos à avaliação neuropsicológica e 73 realizaram a RM. Os 152 pacientes que não foram selecionados para a RM, foram excluídos por não preencherem os critérios epidemiológicos ou clínicos do estudo e principalmente, por não preencherem os critérios radiológicos de inclusão, sendo as principais causas, a presença de hematomas intra ou extra-axiais e contusões cerebrais maiores do que 10 cm³ na TC.

Dos 73 que realizaram a primeira RM, 27 foram excluídos porque estavam fora da janela do primeiro exame de RM, ou seja, tinham mais de 3 meses da data do trauma. Dos 46 que permaneceram, 7 foram excluídos por achados na RM que inviabilizaram sua permanência no estudo, como contusões maiores que o volume tolerado nos critérios de inclusão (1), coleções extra-axiais com efeito expansivo sobre o parênquima subjacente (2), presença de materiais metálicos que prejudicavam a aquisição da imagem (2) e uso de substâncias ilícitas que inviabilizaram a aderência e/ou o acompanhamento neuropsicológico (2). Ainda, dos 39 remanescentes, 12 abandonaram o estudo durante o seguimento, 1 foi a óbito e apenas 26 concluíram o estudo, com 3 exames de RM realizadas na janela de tempo pré-determinado (Tabela 1).

Tabela 1- Distribuição dos 73 pacientes que realizaram a RM inicial

TOTAL DE RM INICIAL	73
FORA DA DATA DO TRAUMA	27
EXCLUÍDOS POR OUTRAS CAUSAS	7
ABANDONARAM	12
ÓBITO	1
CONCLUÍDOS	26

Dos 26 pacientes (idade média de $28,3 \pm 9,2$ anos) que conseguiram completar as 3 avaliações por RM, 22 eram do sexo masculino (idade média de $28,3 \pm 9,4$ anos) e 4 do sexo feminino (idade média de $28,7 \pm 9,6$ anos). Neste grupo, o grau de escolaridade médio foi estimado em $10 \text{ anos} \pm 2,7 \text{ anos}$.

A média do intervalo entre o trauma e a admissão hospitalar foi de 39 minutos (intervalo de 20 a 77 minutos). Quatorze pacientes foram vítimas de acidentes de moto, seis de acidente de carro, quatro foram vítimas de atropelamento e dois de agressão física (Tabela 2).

Tabela 2- Dados demográficos, clínicos e do trauma no grupo de pacientes

Idade média	28 anos (DP 9,27 anos, intervalo 18 - 49 anos)
Sexo	Masculino=22, Feminino=4
Mecanismo de trauma	Acidente de carro = 6 Acidente de moto = 14 Atropelamento = 4 Agressão = 2
Escolaridade	10 anos (DP 2,8 anos)
Gravidade do trauma	Moderado (ECG 9 -12) = 10 Grave (ECG < 8) = 16
Escala Prognóstica de Glasgow (EPG)	Boa recuperação (5) = 11 Recuperação ruim (1-4) = 15
Intervalo entre TCE e hospitalização	39 minutos (DP 15,8 minutos)

Dos 3 exames de RM realizados pelos pacientes que concluíram o estudo, a primeira RM foi realizada em média 64 dias (DP 82 dias) após o TCE, a segunda RM em média de 204 dias (DP 76 dias) após o TCE e a terceira 378 dias (DP 74 dias) após o trauma (Tabela 3).

Tabela 3- Tempo médio da realização dos exames de RM nos pacientes

EXAMES DE RM	MÉDIA DE DIAS EM RELAÇÃO AO TCE (DP)
PRIMEIRO EXAME	64 ($\pm$ 82 dias)
SEGUNDO EXAME	204 ($\pm$ 76 dias)
TERCEIRO EXAME	378 ($\pm$ 74 dias)

Dos 26 controles (idade média de $28,80 \pm 3,6$ anos), 22 eram do sexo masculino (idade média $29,2 \pm 3,5$) e 4 do sexo feminino (idade média de $26,5 \pm 3,6$ anos). Neste grupo, a média do grau de escolaridade foi estimado em cerca de $15,96 \pm 3,2$ anos.

5.2 Resultados dos achados clínicos e da TC durante a internação

Todos os pacientes apresentaram um escore na escala de coma de Glasgow (ECG) durante a admissão hospitalar menor que 13, sendo que destes, 10 pacientes apresentaram ECG entre 9 e 12, configurando o trauma como moderado, e 16 pacientes apresentaram ECG inicial menor que 8, qualificando-o como grave.

Ainda, durante a internação hospitalar, quatro pacientes apresentaram na TC escore de Marshall I e vinte e dois, apresentaram escore II. Quatro pacientes apresentaram hemorragia subaracnoide traumática, um apresentou hemorragia ventricular e um evoluiu com hipóxia.

5.3 Resultados do prognóstico

Todos os pacientes que concluíram nosso estudo foram submetidos à EPG, realizada com 12 meses após o TCE. Dentre eles, onze apresentaram escore de 5; quatorze apresentaram escore de 4 e um apresentou escore de 3 (Tabela 4).

Para maior facilidade de correlação entre a EPG com o prognóstico a longo prazo, convencionou-se como bom prognóstico aqueles que apresentaram escore

5 na EPG e os demais (EPG de 1 a 4), como prognóstico ruim (Sinson *et al.*, 2001). Ao relacionarmos os valores da escala com o prognóstico, 11 apresentaram bom prognóstico (EPG de 5) e 15 apresentaram prognóstico ruim (EPG entre 1 a 4).

Tabela 4- Estimativa da evolução funcional a partir da escala prognóstica de Glasgow

Paciente	EPG	Prognóstico
P1	5	bom
P2	5	bom
P3	4	ruim
P4	4	ruim
P5	5	bom
P6	5	bom
P7	4	ruim
P8	4	ruim
P9	3	ruim
P10	4	ruim
P11	4	ruim
P12	5	bom
P13	4	ruim
P14	5	bom
P15	4	ruim
P16	5	bom
P17	5	bom
P18	5	bom
P19	4	ruim
P20	4	ruim
P21	5	bom
P22	4	ruim
P23	4	ruim
P24	4	ruim
P25	4	ruim
P26	5	bom
n: 26	-----	11 bons : 15 ruins

5.4 Resultados das imagens

5.4.1 Resultados da ITM

A partir dos histogramas gerados após o processamento das ITM, optou-se em analisar a média da RTM média e de seus percentis 25, 50 e 75, adquiridas nos três compartimentos encefálicos anteriormente relatados: SC, SB e ET. Os valores destas variáveis para cada exame de cada paciente e para cada indivíduo

do grupo controle estão discriminados em anexo (ANEXO I).

5.4.1.1 Resultados da substância cinzenta

Entende-se por substância cinzenta a soma da SC cortical cerebral, cortical cerebelar e a SC profunda, isto é, putames, globos pálidos, tálamos, núcleos *accumbens*, amídalas e hipocampos.

As médias da RTM média e dos seus percentis na SC foram comparadas entre o grupo controle e cada um dos exames dos pacientes, ou seja, entre o grupo controle e o primeiro exame do grupo dos pacientes, entre o grupo controle e o segundo exame dos pacientes e entre o grupo controle e o terceiro exame dos pacientes.

No grupo dos pacientes, a média da RTM na SC foi de $50,53 \pm 1,03$ no primeiro exame, de $50,31 \pm 0,95$ no segundo exame e de $49,95 \pm 0,96$ no terceiro exame. No grupo controle, a média da RTM foi de $49,32 \pm 1,25$ (Figura 26 e ANEXO L).

Figura 26- Médias da RTM média da SC de cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e do único exame de RM dos controles.

Comparando-se os grupos entre si, a média da RTM foi significativamente ($p < 0,05$) mais alta que a dos controles nos três exames dos pacientes. A diferença das médias entre os grupos foi maior no primeiro exame dos pacientes (1,203), do que no segundo (0,982) e no terceiro (0,627) (ANEXO L). Além disso, os percentis 25 e 50 foram significativamente maiores no primeiro e segundo exame dos pacientes do que nos controles, com a maior diferença (1,4) encontrada entre o percentil 25 do primeiro exame dos pacientes e o único exame dos controles. No terceiro exame dos pacientes, apenas o percentil 25 foi significativamente maior que dos controles (ANEXO L).

Ao analisar-se apenas o grupo de pacientes e comparar os valores obtidos em cada um dos seus exames, observou-se redução significativa na média da RTM entre o segundo e terceiro exame ($p = 0,015$) e entre o primeiro e terceiro exame ($p = 0,006$), mas não entre o primeiro e segundo exame ($p = 0,1$) (Figura 27 e ANEXO

M). As taxas de redução foram de $0,44\% \pm 1,34$ entre o primeiro e segundo exame e de $0,7\% \pm 1,37$ entre o segundo e terceiro exame, totalizando um decaimento de $1,14\% \pm 1,93$ durante todo o estudo (Figura 27 e ANEXOS M e N).

Figura 27- Comparação das taxas de variação da média da RTM no grupo dos pacientes, entre o primeiro e segundo exame (períodos 2 vs 1) e o segundo e terceiro exames (período 3 vs 2).

Em relação aos percentis da RTM média, o percentil 75 foi o único que sofreu redução significativa entre o primeiro e segundo exame (taxa de $0,6\% \pm 1,3$) e entre o segundo e terceiro (taxa de $0,3\% \pm 0,8$). Os demais percentis apresentaram redução significativa apenas entre o segundo e terceiro exame (de $0,8\% \pm 1,8$ para o percentil 25 e de $0,5\% \pm 0,9$ para o percentil 50) (ANEXOS M e N).

5.4.1.2 Resultados da substância branca

Por SB, entende-se toda a substância branca encefálica a partir do forame magno, incluindo-se o tronco encefálico, a SB cerebelar e a SB cerebral, tanto profunda quanto superficial. Optou-se por incluir o tronco encefálico por terem sido observados nas imagens estruturais da RM (T2 e FLAIR), não incomumente, sinais de degeneração Walleriana do trato corticoespinal, incluindo sua porção mesencefálica e pontina.

No grupo dos pacientes, a média da RTM na SB foi de $56,54 \pm 0,97$ no primeiro exame, de $55,97 \pm 1,06$ no segundo e de $55,76 \pm 0,99$ no terceiro exame. No grupo controle, a média da RTM foi de $56,45 \pm 1,14$ (Figura 28 e ANEXO L).

Figura 28- Médias da RTM média da SB em cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e no único exame de RM dos controles.

Comparando-se os grupos de pacientes e controles entre si, a média da RTM da SB foi significativamente menor ($p=0,024$) nos pacientes que nos controles apenas no terceiro exame, quando uma diferença de 0,7 entre as médias foi observada (ANEXO L). O primeiro e segundo exame dos pacientes não foi capaz de diferenciá-los dos controles ($p>0,05$). Também foram significativamente mais baixas as médias dos percentis 50 e 75 da RTM no segundo e terceiro exames dos pacientes em relação aos controles, com a maior diferença entre os grupos (de 1,0), no percentil 75 do terceiro exame (ANEXO L). Não houve diferença significativa no percentil 25 em nenhum dos exames dos pacientes em relação aos controles.

Ao se comparar as variações da média da RTM da SB entre os exames, observou-se redução significativa ($p<0,001$) entre o primeiro e o segundo exame (taxa de redução de $1\% \pm 1,2$) e entre o primeiro e terceiro exame (taxa de redução de $1,3\% \pm 1,7$). Não houve redução significativa ($p=0,15$) entre o segundo e terceiro exame (taxa de redução de $0,35\% \pm 1,2$) (Figura 27 e ANEXOS M e N).

Em relação à média dos percentis, observou-se redução significativa nos três percentis entre o primeiro e segundo exame, com decaimento de $1\% \pm 1,6$ para o percentil 25, de $1,2\% \pm 1,2$ para o percentil 50 e, de $1,0\% \pm 1,0$ para o percentil 75. Entre o segundo e terceiro exame, houve redução significativa apenas do percentil 50, com taxa de decaimento estimada em $0,3\% \pm 0,8$ (ANEXOS M e N).

5.4.1.3 Resultados do encéfalo total

Os valores da média da RTM no ET foram de $53,56 \pm 1,0$ no primeiro exame dos pacientes, de $53,14 \pm 1,0$ no segundo, e de $52,82 \pm 1,0$ no terceiro exame. No grupo controle, a média da RTM do ET foi de $52,43 \pm 1,13$ (Figura 29 e ANEXO L).

Figura 29- Médias da RTM média do ET em cada exame de RM (1, 2 e 3) dos pacientes e no único exame de RM dos controles.

A média da RTM do ET foi significativamente maior no primeiro ($p < 0,001$) e segundo ($p = 0,022$) exames dos pacientes quando comparada aos controles. Os valores dessa diferença foram de 1,12 entre o primeiro exame e os controles e de 0,7 entre o segundo exame e os controles. Não houve diferença significativa ($p = 0,198$) entre a média da RTM do terceiro exame dos pacientes e dos controles (ANEXO L).

Em relação às demais variáveis, as médias do percentil 25 foram significativamente maiores nos três exames dos pacientes do que nos controles. A maior diferença encontrada (de 1,23) foi entre a média do primeiro exame dos pacientes e dos controles. Ainda, a média do percentil 50 foi significativamente maior no primeiro e segundo exame dos pacientes e a do percentil 75 significativamente maior no terceiro exame dos pacientes quando comparadas aos controles (ANEXO L).

A comparação entre os exames no grupo dos pacientes, identificou redução significativa da RTM média do ET entre o primeiro e o segundo exames ($p=0,002$), entre o segundo e terceiro ($p=0,027$), e entre o primeiro e terceiro exames ($p=0,001$), com taxas de redução estimadas em $0,8\% \pm 1,2$, em $0,6\% \pm 1,2$ e $1,4\% \pm 1,8$, respectivamente (Figura 27 e ANEXOS M e N).

Em relação as médias dos percentis, entre o primeiro e segundo exame dos pacientes, houve redução significativa ($p=0$) do percentil 50 (taxa de decaimento de $0,9\% \pm 1,1$) e do percentil 75 (taxa de $1,1\% \pm 1,0$). Entre o segundo e terceiro exame, houve redução significativa dos três percentis, com taxas de decaimento de $0,6\% \pm 1,4$ para o percentil 25; de $0,5\% \pm 0,9$ para o percentil 50 e, de $0,3\% \pm 0,7$ para o percentil 75. (ANEXOS M e N).

5.4.2 Resultados do volume

Para a análise dos volumes, usou-se exatamente a mesma máscara e, portanto, a mesma segmentação usada na análise das ITM. Os resultados do volume de cada compartimento, em cada exame dos pacientes e no exame dos

controles estão discriminados em anexo (ANEXO J).

5.4.2.1 Resultados da substância cinzenta

O volume médio da SC foi de $788.616 \pm 53153,12 \text{ mm}^3$ no primeiro exame, de $795.445 \pm 55870 \text{ mm}^3$ no segundo exame e de $788.581 \pm 56210,54 \text{ mm}^3$ no terceiro exame. O volume médio da SC no único exame dos pacientes foi de $848.925,11 \pm 42980,32 \text{ mm}^3$ (Figura 30 e ANEXO L).

Figura 30- Volume médio da SC em cada um dos exames de RM (1, 2 e 3) dos pacientes no único exame de RM dos controles.

O volume da SC foi significativamente menor ($p < 0,001$) nos três exames dos pacientes em relação aos controles com a maior diferença (de 60.344 mm^3) sendo entre o volume do terceiro exame dos pacientes e dos controles (ANEXO L).

Comparando-se os exames dos pacientes entre si, não se observou alterações significativas do volume de SC entre nenhum dos exames, com aumento

de $0,84\% \pm 2,9$ entre o primeiro e o segundo exames e redução de $0,88\% \pm 2,5$ entre o segundo e o terceiro exames, totalizando uma redução de $0,04\% \pm 2,1$ durante todo o estudo (Figura 31 e ANEXOS M e N).

Figura 31- Comparação das taxas de variação da média do volume no grupo dos pacientes, entre o primeiro e segundo exames (períodos 2 vs 1) e o segundo e terceiro exames (período 3 vs 2).

5.4.2.2 Resultados da substância branca

O volume médio de SB foi de $680.085 \pm 54969,57 \text{ mm}^3$ no primeiro exame dos pacientes, de $674.642 \pm 50877,62 \text{ mm}^3$ no segundo exame e de $658.299 \pm 51789,56 \text{ mm}^3$ no terceiro. O volume médio da SB no único exame dos controles foi de $691.501,36 \pm 35445,15 \text{ mm}^3$ (Figura 32 e ANEXO L).

Figura 32- Volume médio da SB em cada exame dos pacientes (1, 2 e 3) e no único exame dos controles.

O volume da SB dos pacientes foi significativamente ($p < 0,001$) menor do que dos controles apenas no terceiro exame, com uma redução estimada em $33.202,39 \text{ mm}^3$. Não houve diferença significativa entre o primeiro exame dos pacientes e o exame dos controles, tampouco entre o segundo exame dos pacientes e o exame dos controles (ANEXO L).

A análise comparativa entre os exames dos pacientes não evidenciou redução significativa de volume da SB entre o primeiro e o segundo exame ($p = 0,13$), com uma taxa de decaimento estimada em $0,76\% \pm 2,51$. No entanto, houve redução significativa do volume da SB entre o segundo e o terceiro exame ($p < 0,001$) e entre o primeiro e terceiro exames ($p < 0,001$), com taxa de redução estimada, respectivamente, em $2,4\% \pm 2,8$ e $3,2\% \pm 3,0$ (Figura 31 e ANEXOS M e N).

5.4.2.3 Resultados do encéfalo total

No grupo dos pacientes, o volume do ET médio foi de $1.468.701 \pm 97125,14 \text{ mm}^3$ no primeiro exame, de $1.470.088 \pm 95921,68 \text{ mm}^3$ no segundo exame e de $1.446.880 \pm 99921,27 \text{ mm}^3$ no terceiro exame. No único exame realizado no grupo-controle, o volume encefálico médio foi de $1.540.426,48 \pm 56.997,63 \text{ mm}^3$ (Figura 33 e ANEXO L).

Figura 33- Volume médio encefálico em cada exame dos pacientes (1, 2 e 3) e no único exame dos controles.

O volume do ET foi significativamente ($p < 0,05$) inferior nos três exames dos pacientes quando comparados aos controles, com a maior diferença encontrada entre o terceiro exame dos pacientes e os controles ($93.546,43 \text{ mm}^3$) (ANEXO L).

Comparando-se os três exames dos pacientes entre si, observou-se uma redução volumétrica significativa entre o segundo e terceiro exame ($p < 0,001$) e

entre o primeiro e terceiro exames ($p=0,001$), com taxas de decaimento de $1,6\% \pm 1,9$ e de $1,5\% \pm 2,0$, respectivamente (Figura 31 e ANEXOS M e N).

5.4.3 Testes de correlação

5.4.3.1 Teste de correlação entre a RTM média e a idade

Ao testar-se correlação entre a RTM média e a idade, não se observou correlação entre ambas em nenhum dos compartimentos no grupo controle ($p>0,05$). No entanto, observou-se correlação entre a RTM média e a idade nos três exames dos pacientes para a SC e nos dois primeiros exames (com dois meses e seis meses após o TCE) para a SB e o encéfalo total (ANEXO O).

5.4.3.2 Teste de correlação entre o volume e a idade

Houve correlação positiva entre o volume da SC e a idade no exame do grupo controle ($p=0,008$) e no segundo exame dos pacientes ($p=0,034$). Não houve correlação entre os demais volumes e idade (ANEXO O).

5.4.3.3 Teste de correlação entre a variação da RTM média e do volume nos diferentes compartimentos cerebrais

Foram realizados testes de correlação entre as variáveis da RTM média e do volume, para cada compartimento. Não houve correlação significativa entre a RTM e o volume de nenhum dos compartimentos no grupo de pacientes, nem em

relação aos valores absolutos dessas métricas em cada exame dos pacientes, nem em relação à taxa de variação delas durante os exames (ANEXOS P e Q). Já no grupo controle observou-se, no único exame realizado neste grupo, correlação positiva entre a média da RTM e seu volume ($r=0,4$) na SC (ANEXO P).

5.4.3.4 Teste de correlação entre a escala prognóstica de Glasgow e a RTM média nos diferentes compartimentos cerebrais

Foi avaliada a correlação entre o prognóstico, representado pela EPG realizada um ano após o TCE, e o valor da média da RTM de cada compartimento em cada um dos exames dos pacientes (ANEXO R).

Não foi observada correlação entre os valores da RTM média no primeiro e segundo exames e a EPG ($p>0,05$). Houve correlação, no entanto, entre o valor da RTM média no terceiro exame e a EPG, com p-valor de 0,03 para a SC e para o ET e, de 0,033, para a SB. Ao se avaliar a correlação entre a pontuação da EPG e a redução da RTM média durante o estudo, não se observou relação significativa com nenhum dos compartimentos ($p>0,05$) (ANEXO S).

5.4.3.5 Teste de correlação entre a escala prognóstica de Glasgow e o volume nos diferentes compartimentos cerebrais

Foi avaliada a correlação entre a pontuação da EPG e o volume de cada compartimento, em cada exame dos pacientes (ANEXO R).

Não houve correlação entre a EPG e o volume de nenhum dos compartimentos, em nenhum dos três exames dos pacientes. No entanto, ao se

avaliar a correlação entre a pontuação da EPG e redução do volume durante todo o estudo, observou-se fraca relação da EPG com a redução volumétrica da SB ($p=0,03$; $r=0,41$) (ANEXO S).

5.4.3.6 Avaliação da eficiência de cada variável na discriminação entre prognóstico bom e ruim

Foi avaliada a eficiência de cada variável na discriminação entre prognóstico bom (EPG=5) e ruim (EPG entre 1 e 4), para cada exame do paciente. Apenas o percentil 75 da SB (área de 0,83) e do ET (área de 0,82) no terceiro exame dos pacientes apresentaram boa eficácia para a discriminação de ambos (ANEXO T).

6. Discussão

Comparação entre os grupos dos pacientes e controles:

Neste estudo, a média da RTM e do volume dos diferentes compartimentos encefálicos foram parâmetros capazes de diferenciar os pacientes dos controles. No entanto, as alterações observadas em ambos os parâmetros e o momento em que elas passaram a ser perceptíveis em relação ao grupo controle diferiram para a SC e SB.

Comparados aos controles, os histogramas da RTM média dos pacientes apresentaram redução da altura do pico, em todos os compartimentos. Além disso, o histograma da SB dos pacientes apresentou-se deslocado para a esquerda em relação ao dos controles (Figura 34). Isso indica uma homogeneização dos *voxels* em relação aos seus valores de RTM média, em todos os compartimentos, e uma redução do número de *voxels* com valores mais altos de RTM, na SB.

Em ambos os grupos, os histogramas da SC e da SB apresentaram distribuição unimodal e simétrica, com a posição do pico (que representa o valor mais comum da RTM ou moda) tendendo a corresponder ao percentil 50 (mediana), e o histograma da SB se localizou à direita do da SC (Figura 34). Este último achado também é descrito em indivíduos normais e relacionado à maior quantidade de mielina na SB (Ge Y *et al.*, 2002b; Fisniku *et al.*, 2009; Ropele & Fazekas, 2009). Como mudanças da RTM no SNC são atribuídas predominantemente ao conteúdo

de mielina (Wolf *et al.*, 1989; Chen *et al.*, 2005; Giacomini *et al.*, 2009), o fato de a SB ter mais mielina garante à esta *voxels* com maiores valores de RTM.

No entanto, a mielina não é a única responsável pela RTM (Deloire-Grassin *et al.*, 2000; Schmierer *et al.*, 2004). Estudos histopatológicos mostram que embora a razão entre os valores de RTM da SC e SB seja geralmente de 50% ou mais, a SC tem apenas 10 a 20% da quantidade de mielina da SB (Sled *et al.*, 2004). Isso sugere que outros fatores participem da determinação da RTM, sendo os mais descritos, o aumento no conteúdo da água, decorrente do edema ou da inflamação (Gareau *et al.*, 2000; Cook *et al.*, 2004; Laule *et al.*, 2007; McCreary *et al.*, 2009), a contagem de macrófagos e a densidade axonal (Stanisz *et al.*, 1999; Schmierer *et al.*, 2004; Blezer *et al.*, 2007; Laule *et al.*, 2007). Assim, atribuir mudanças nos valores de RTM à apenas um único elemento fisiológico pode ser um método inacurado.

Isso se torna especialmente verdadeiro quando tenta-se diferenciar dano mielínico e axonal baseado apenas na RTM, pois há uma íntima relação entre ambos, com a mielina funcionando como isolante elétrico para os neurônios e como responsável pela manutenção do transporte, da integridade, do pH, do volume líquido e da composição iônica do axônio (Morell *et al.*, 1989; Van De Graaff *et al.*, 2002). Com isso, há uma verdadeira dependência entre axônio e mielina que justifica porque o dano de uma dessas estruturas leva ao prejuízo da outra.

Figura 34- Gráficos de densidade comparando as médias da RTM nos compartimentos de SC (verde) e SB (azul) do grupo dos pacientes (linha contínua) e no grupo dos controles (linha descontínua).

A associação dos dados volumétricos com a RTM possibilitou o afastamento da participação do edema na redução da média da RTM (Vavasour *et al.*, 2000), já que sua presença determinaria um aumento volumétrico, e não redução, nos diferentes compartimentos como caracterizado. No entanto, uma tentativa de diferenciação entre dano axonal e mielínico, bem como exclusão da participação dos demais fatores para o cálculo final da RTM seria falho e vai além da capacidade desse trabalho.

Embora a LAT seja uma doença predominantemente de SB, nesse estudo optou-se por incluir a análise da SC. Essa determinação foi tomada a partir da demonstração, em outras doenças predominantes da SB, da íntima relação entre a lesão axonal e o dano na SC. Estudos histopatológicos em esclerose múltipla evidenciaram extensa desmielinização da SC tanto cortical (Kutzelnigg *et al.*, 2005; Moll *et al.*, 2008) quando profunda (Cifelli *et al.*, 2002; Vercellino *et al.*, 2005), demonstraram redução dos valores de RTM no córtex desmielinizado em relação ao mielinizado (Chen *et al.*, 2013) e mostraram correlação direta entre os valores de RTM na SC e a perda de mielina na imunohistoquímica (Fjær *et al.*, 2013, 2015). Por sua vez, estudos clínicos em esclerose múltipla evidenciaram a forte associação entre redução da RTM na SC e piora clínica (Oreja-Guevara *et al.*, 2006; Fisniku *et al.*, 2009), deterioração cognitiva e incapacidade a longo prazo (Fisniku *et al.*, 2009; Filippi *et al.*, 2013).

Essa íntima relação entre dano da SB e SC foi mostrada também em diversos estudos com o uso de tomografia por emissão de pósitron (*Positron Emission Tomography* - PET), tanto em pacientes com esclerose múltipla

(Blinkenberg *et al.*, 2000, 2012), quanto em pacientes com TCE (Vespa *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2010). Neles, caracterizou-se uma redução global significativa da taxa metabólica cortical, mesmo em áreas não diretamente envolvidas na injúria primária, sugerindo relação direta entre a desconexão axonal com o córtex e a disfunção do corpo celular do neurônio (Kumar *et al.*, 2003).

No entanto, diferentemente do esperado, neste estudo não se encontrou redução da média da RTM da SC aparentemente normal dos pacientes, como descrita em estudos em pacientes com doenças desmielinizantes (Ge *et al.*, 2001; Filippi *et al.*, 2013), degenerativas (Kabani *et al.*, 2002; van Es *et al.*, 2006; Ridha *et al.*, 2007) e vítimas de TCE (Kumar *et al.*, 2003). Ao contrário, encontrou-se aumento da média da RTM na SC e no ET dos pacientes, quanto comparados aos controles.

Uma possível justificativa para esse achado pode ser a forma com que as ITM foram processadas. Nos pacientes, os focos de calcificação/sangramentos petequiais foram excluídas do cálculo final da RTM média, ou seja, nesse estudo, ao se mencionar SC e SB, na realidade refere-se à SC e SB aparentemente normal. O mesmo não foi julgado necessário nos controles, já a faixa etária dos indivíduos nesse grupo era baixa e não se esperariam calcificações evidentes inerentes ao envelhecimento. Esse fato foi confirmado pelas imagens estruturais de RM; no entanto, os resultados dessa amostra apontam um desvio padrão da média da RTM tão pequeno, que leves variações dos seus valores são o suficiente para determinar diferenças entre os grupos. Assim, não se pode descartar completamente a possibilidade de que, mesmo calcificações mínimas e escassas, possam ter

influenciado a média da RTM, reduzindo-a no grupo controle e colaborando para o seu aumento relativo no grupo dos pacientes.

A comparação dos valores da RTM média encontrados nesse estudo com outros trabalhos descritos na literatura deve ser feito com cautela, pois poucos selecionaram apenas pacientes com TCE moderado e severo (Mamere *et al.*, 2009); em quase todos, foram incluídos também pacientes com TCE leve (Bagley *et al.*, 2000; Sinson *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2003). Pequeno também é o número de estudos que selecionaram apenas pacientes com LAT e não TCE *lato senso* (Sinson *et al.*, 2001; Bagley *et al.*, 2000) e que realizaram a RM na fase crônica, mesmo que em momentos bem distintos do nosso estudo, como cerca de 2,5 anos após o TCE (Mamere *et al.*, 2009) e entre 1 e 11 anos após o trauma (Kumar *et al.*, 2003). Guardadas as particularidades dos valores da RTM, em dois desses estudos também se encontraram valores de RTM significativamente menores na SB aparentemente normal dos pacientes, em relação aos controles (Kumar *et al.*, 2003; Mamere *et al.*, 2009).

A comparação dos dados volumétricos entre os grupos mostrou significativa redução do volume da SC, SB e do ET dos pacientes em relação aos controles. Esse achado está de acordo com outros trabalhos, tanto em animais (Smith *et al.*, 1997; Bramlett *et al.*, 2002), quanto em humanos (Gale *et al.*, 2005; Ding *et al.*, 2008; Bendlin *et al.*, 2008; Warner *et al.*, 2010; Vannorsdall *et al.*, 2010; Cole *et al.*, 2018), que mostram redução do volume da SC e SB após o TCE.

Os mecanismos que determinam essa atrofia são mais compreendidos em

estudos em animais; a lesão do TCE leva à necrose e apoptose difusa, com subsequente remoção de debris celulares por macrófagos, que resultam numa expressiva redução tecidual (Farkas & Povlishock, 2007; Kelley *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Takeuchi & Nawashiro, 2011). Em humanos, embora a atrofia seja atribuída, ao menos parcialmente, à perda neuronal e axonal irreversível (De Stefano *et al.*, 2003), a dinamicidade e diversidade do processo de lesão e reparação dificultam o esclarecimento da causa diretamente responsável pela perda tecidual. Além disso, outros fatores não relacionados ao TCE também colaboram para a natureza e gravidade da neurodegeneração pós-traumática, como a presença de comorbidades, o nível educacional e basal de inteligência e a predisposição genética (Moretti *et al.*, 2012).

Alguns estudos que tentaram elucidar as mudanças celulares e moleculares crônicas que determinam a atrofia no TCE, sugerem que as mudanças a longo prazo no TCE podem estar associadas à disrupção da rede citoesquelética intracelular ou das fibras da SB (Povlishock & Christman, 1995; Engel *et al.*, 2000; Farkas & Povlishock, 2007; Kelley *et al.*, 2007; Lifshitz *et al.*, 2007). A deaferentação dessas fibras por sua vez, determinaria uma desconexão anterógrada entre o axônio e o corpo celular que resultaria em degeneração Walleriana capaz de perdurar por até meses após a injúria (Graham *et al.*, 2000; Singleton *et al.*, 2002).

Estudos mais recentes, mostram que no TCE há acúmulo de várias proteínas anormais associadas à neurodegeneração, incluindo a proteína tau, β -amiloide, α -sinucleína e proteína ligante de DNA TAR-43 (McKee *et al.*, 2015a;

2015b). De qualquer forma, a heterogeneidade das lesões traumáticas fala a favor da redução volumétrica ser decorrente de diferentes processos que coexistem, com a predominância de um sobre o outro dependendo da fase da avaliação.

Uma vantagem do desenho do nosso estudo foi a possibilidade de delineação temporal do momento em que as diferenças se tornaram significativas entre os grupos para cada compartimento. Na SC e no ET, pode-se observar uma RTM média, respectivamente, 2,5% e 2,0% maior nos pacientes em relação aos controles, já no primeiro exame (fase aguda tardia/ subaguda precoce). Na SB, essa diferença entre os grupos se tornou significativa ($p=0,024$) apenas no terceiro exame dos pacientes, quando a média da RTM foi cerca de 1,3% menor do que a dos controles.

A mesma diferença temporal na RTM média da SC e da SB foi caracterizada nos seus volumes. Os volumes da SC e do ET nos pacientes foram, respectivamente, 7,1% ($60.308,89 \text{ mm}^3$) e 4,7% ($71.724,66 \text{ mm}^3$) menores que nos controles, já no primeiro exame destes; o volume de SB dos pacientes se diferiu dos controles apenas no terceiro exame dos pacientes, quando se tornou 4,8% ($33.202,39 \text{ mm}^3$) menor.

Esses achados sugerem que a atrofia da SB seja mais tardia e prolongada do que da SC, fato que poderia explicar o aumento do risco que esses pacientes têm de desenvolver doenças psiquiátricas, distúrbios metabólicos e neuroendócrinos (Whitnall *et al.*, 2006; Farbota *et al.*, 2012; Dikmen *et al.*, 2009; Bombardier *et al.*, 2010). Achados semelhantes foram também reportados em

vítimas de TCE submetidas a RM dois meses, um ano e quatro anos do trauma (Farbota *et al.*, 2012). Nos dois períodos, os pacientes apresentaram maior atrofia do que os controles durante o mesmo intervalo de tempo; no entanto o primeiro intervalo (entre o primeiro e segundo exame) foi marcado por uma atrofia cortical; enquanto que o segundo, foi caracterizado por uma atrofia predominantemente da SB, com relativa preservação da SC.

Comparação entre os exames dos pacientes:

Além da comparação entre grupos, o desenho longitudinal desse estudo permitiu o controle evolutivo dos pacientes. Constatou-se uma redução gradual da média da RTM entre os exames, na SC, SB e no ET, caracterizando a progressão do dano mielínico/axonal até após um ano do TCE. Apesar dessa redução, a média da RTM da SC no grupo dos pacientes continuou significativamente mais alta do no grupo controle, inclusive no último exame destes. O mesmo não foi caracterizado no ET, onde a redução progressiva da RTM terminou aproximando a RTM média entre os grupos e anulando a diferença entre eles no terceiro exame dos pacientes.

As taxas de redução da RTM média foram diferentes na SC e na SB. Na SC, a taxa no primeiro período (entre primeiro e segundo exame) foi quase metade (0,4%) da taxa no segundo período (0,7%); na SB, a redução volumétrica foi cerca de três vezes maior no primeiro período (1%) do que no segundo (0,3%).

Um caráter progressivo também foi identificado na atrofia da SB e do ET,

mas foi significativo apenas no segundo período, quando atingiu 2,4% e 1,5%, respectivamente, totalizando 3,2% e 1,5% de atrofia durante todo o estudo. Não houve progressão significativa da atrofia da SC durante os dez meses de estudo (taxa de 0,04%). Essa diferença entre SC e SB existe mesmo em indivíduos normais, com estudos recentes mostrando que a SC apresenta uma redução linear que se inicia entre o início da adolescência (Richards *et al.*, 2015) e vinte anos de idade (Ge *et al.* 2002a; Smith *et al.*, 2007), enquanto que a SB segue um padrão de variação quadrático, com um leve aumento até cerca de 35 a 40 anos seguido de redução (Ge *et al.* 2002a; Salat *et al.*, 2009).

Em termos numéricos, a taxa anual de redução volumétrica cerebral normal varia entre 0,1 e 0,3% aos 35 anos, até 0,52% aos 70 anos (Takao *et al.*, 2012; Schippling *et al.*, 2017). Na SC, essa taxa é estimada entre 0,32 e 0,55% e, na SB, entre 0,02 e 0,47%. Assim, de acordo com esses dados, a taxa de redução da SB dos pacientes, observada durante os dez meses desse estudo, foi o equivalente à observada em sete anos ou mais num indivíduo saudável.

Um fato inesperado foi o aumento volumétrico de 0,8% observado na SC entre o primeiro e segundo exame dos pacientes ($p=0,14$). Esse aumento pode estar relacionado a fatores de difícil controle, como o posicionamento do paciente e a seleção exata do FOV (Maclaren *et al.*, 2014), o seu grau de hidratação (Duning *et al.*, 2005; Kempton *et al.*, 2011) e até o período do ciclo menstrual em que o exame foi realizado nas mulheres da amostra (Hagemann *et al.*, 2011). Esses fatores são descritos na literatura como possíveis confundidores da variação do volume entre exames, juntamente a outros que foram contornados nesse estudo,

como a mudança de aparelho de RM entre exames, o uso de diferentes protocolos de imagem e de distintas versões do programa para o processamento dos dados (Maclaren *et al.*, 2014).

Os achados volumétricos da SC devem ser interpretados com parcimônia, primeiro, porque a mensuração longitudinal do volume cortical na RM não é uma tarefa fácil devido à sua fina espessura e às convoluções cerebrais. Segundo porque a análise global da SC nesse estudo, não a separando em SC cortical da profunda, pode ter ofuscado mudanças significativas no volume de regiões menores, como os gânglios da base. De fato, estudos mostram que a SC cortical e profunda tem padrões bem diferentes de atrofia, com a profunda sendo mais vulnerável à atrofia e se correlacionado melhor com déficits funcionais do que superficial (Gale *et al.*, 2005; Warner *et al.*, 2010; Feltrin *et al.*, 2018). Inclusive, trabalhos que exploram o uso de *TBM* apontam certas regiões de SC, como o tálamo, putame e o córtex do giro do cíngulo, como as áreas encefálicas mais suscetíveis à atrofia no TCE (Kim *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009; Farbota *et al.*, 2012).

Redução do volume cerebral total, da SC e da SB nos meses subsequentes ao TCE já foram relatados em diversos estudos volumétricos (Blatter *et al.*, 1997; MacKenzie *et al.*, 2002; Trivedi *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2008; Ng *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009; Cole *et al.*, 2018).

Num estudo com amostra e desenho bem semelhantes a este, foram reportadas taxas de atrofia 1,55% para a SC; 1,49% para a SB e 1,5% para o

cérebro total após um ano do TCE moderado e grave (Cole *et al.*, 2018). Em outros trabalhos onde utilizou-se o mesmo método automatizado (SIENAX/SIENA) para a medida da atrofia no TCE (Trivedi *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009), foi reportada significativa redução volumétrica entre a fase aguda e crônica do TCE (Ding *et al.*, 2008), com taxas de atrofia do ET de 1,43% entre cerca de 79 dias após o TCE e 409 dias (Triverdi *et al.*, 2007).

Esses achados indicam que o método SIENAX/SIENA é capaz de fornecer resultados confiáveis e reproduzíveis. Ele tem se mostrado um bom método para a medida volumétrica normalizada transversal, com uma acurácia da estimativa do volume cerebral de 0,5 a 1%, para a avaliação única. Ainda ele tem a vantagem de ter sido associado com sucesso à segmentação tecidual e extração encefálica e, de poder ser utilizado em pacientes com grandes perdas parenquimatosas (Smith *et al.*, 2001, 2003).

Recentemente a confiabilidade desse método foi demonstrada em outras condições neurológicas, como esclerose múltipla e doença de Alzheimer (Anderson *et al.*, 2007, 2012; Smith *et al.*, 2007) e destacada sua relativa insensibilidade à mudanças nos parâmetros de aquisição da imagem. Em pacientes com esclerose múltipla e atrofia cerebral, observou-se uma concordância entre aparelhos de 0,94, independentemente da força do campo magnético e dos parâmetros selecionados nos protocolos (Jasperse *et al.*, 2007).

É importante ressaltar, no entanto, que os valores de atrofia variam de acordo com outros fatores além dos programas utilizados para o processamento,

como o momento em que a primeira RM foi realizada, o período em que a atrofia foi estudada e a gravidade do TCE predominante na amostra. Não incomumente, a primeira RM é realizada ainda na fase aguda (Ding *et al.*, 2008; Warner *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010), atribuindo-se grande parte da redução volumétrica à resolução do edema. A gravidade do TCE talvez justifique as taxas mais altas de atrofia encontradas em alguns trabalhos que incluíram mais pacientes com TCE grave (Sidaros *et al.*, 2009; Warner *et al.*, 2010), onde taxa de redução volumétrica de 4,0% foram descritas no primeiro ano do trauma para o ET (Sidaros *et al.*, 2009) e de 4,5% e 5,8%, para o ET e para a SB, respectivamente, entre o primeiro dia e 8 meses após o TCE (Warner *et al.*, 2010).

Uma possível solução para se contornar a variabilidade dos resultados de acordo com o intervalo de tempo do estudo é, em vez de se normalizar a atrofia pelo volume intracraniano, comparar a atrofia ao volume cerebral inicial, corrigida para o período de um ano, calculando-se assim uma taxa de atrofia anual, que pode ser mais facilmente usada para futuras comparações (Ross DE, 2011).

De qualquer forma, a atrofia encontrada nesse estudo está de acordo com a atrofia genérica após o TCE relatada em outros trabalhos, que varia de 1,4% a 7,8% entre o exame inicial (realizado entre 1 a 61 semanas) e o exame de acompanhamento, realizado entre 6 a 30 meses do trauma (MacKenzie *et al.*, 2002; Sidaros *et al.*, 2009; Trivedi *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2010). Esses estudos ainda mostram que o grau da atrofia depende da extensão inicial da injúria e do número de lesões na fase aguda (Marquez de la Plata *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2008) e evidenciam que a redução volumétrica pode envolver estruturas importantes como

o hipocampo e se correlacionar com o desempenho cognitivo a longo prazo (Wilde *et al*, 2005; Levine *et al*, 2008).

Correlação entre a RTM média e o volume:

A análise comparativa entre os parâmetros permitiu a identificação da desincronia entre o período de maior alteração microscópica, revelada pela redução da RTM, e o de maior mudança macroscópica, mostrada pela atrofia. Essa observação sugere que os dois parâmetros reflitam aspectos complementares da fisiopatologia da LAD e que alguns elementos intrínsecos do dano parenquimatoso sejam independentes da perda tecidual ou a precedam (Khaleeli *et al.*, 2007).

A independência relativa entre a RTM e a atrofia foi observada em um estudo experimental em animais com encefalomielite induzida, onde não se encontrou nenhuma associação entre a desmielinização cortical regional e a atrofia, concluindo-se que a primeira não era a responsável pela maior parte da perda parenquimatosa, sendo esta última, provavelmente decorrente de fatores difusos e mais remotos (Pomeroy *et al.*, 2008). Num outro estudo em pacientes com EM, observou-se redução da RTM sem atrofia em algumas áreas cerebrais, como nos giros pré-central esquerdo, frontal superior esquerdo, temporal superior bilateral, ínsula direita e córtex visual (Khaleeli *et al.*, 2007). Ainda, num terceiro estudo, dessa vez em pacientes com Alzheimer, também se observou independência entre a redução da RTM média e a atrofia nos pacientes (Ridha *et al.*, 2007).

Baseando-se em estudos anteriores que indicam que melhoras regionais microestruturais da SB e SC podem coexistir com a atrofia volumétrica e que mostram que, após o TCE, o encéfalo passa por um longo período de mudanças degenerativas que são paradoxalmente acompanhadas pela recuperação cognitiva (Cernich *et al.*, 2012; Dikmen *et al.*, 2009), é cabível a ideia de que as reduções volumétricas possam ser, ao menos em parte, reorganizacionais ou adaptativas (Farbota *et al.*, 2012). Assim, a atrofia não representaria apenas degeneração Walleriana ou dano neuronal irreversível, mas um processo de reestruturação tecidual e das redes de conexões neurais onde a regeneração, de alguma forma, prevalece sobre a destruição parenquimatosa.

Correlação entre os parâmetros quantitativos e a evolução funcional:

A correlação entre os valores do volume e da RTM média de cada compartimento (SC e SB) com a EPG, evidenciou relação entre esta e a RTM média dos três compartimentos encefálicos apenas no terceiro exame. Não houve correlação entre os parâmetros nas fases subaguda e crônica precoce e a EPG. O estudo da EPG com a variação de cada parâmetro durante todo o estudo caracterizou fraca correlação entre esta e apenas a redução volumétrica da SB ($r=0.41$).

Ao analisar a capacidade de cada variável em cada exame em discriminar os pacientes com bom prognóstico (EPG=5) daqueles com prognóstico ruim (EPG

entre 1-4), também nenhuma das variáveis se mostrou eficaz, concluindo-se então que tanto a RTM quanto os cálculos volumétricos não apresentam sensibilidade e especificidade na discriminação do prognóstico funcional dos pacientes.

A ausência de valor prognóstico da RTM média encontrada neste estudo está de acordo com o descrito em outros trabalhos (Sinson *et al.*, 2001; Bagley *et al.*, 2000), onde nenhuma correlação entre a EPG e RTM média na SB foi reportada em vítimas de TCE leve, moderado ou grave (Sinson *et al.*, 2001). No segundo estudo, apenas uma fraca tendência à associação entre déficits neurológicos persistentes e redução da RTM foi observada (Bagley *et al.*, 2000). Entretanto, diferenças entre esses estudos e o nosso tornam a comparação pouco precisa; 1) as RTM médias foram obtidas apenas em pequenas regiões de interesse da SB aparentemente normal, 2) os exames foram realizados em espaços de tempo muito variáveis, entre 2-1129 dias do trauma (Sinson *et al.*, 2001) e entre 1-29 dias do TCE (Bagley *et al.*, 2000) e 3) a EPG foi realizada entre 3 meses a 3 anos após o TCE (Sinson *et al.*, 2001; Bagley *et al.*, 2000).

Em relação à ausência de valor prognóstico dos achados volumétricos, este achado não está de acordo com o encontrado em outros estudos que analisaram a relação entre a atrofia após o TCE e evolução funcional (Tomaiuolo *et al.*, 2004, 2005; Gale *et al.*, 2005; Ding *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009).

Embora a atrofia apresente relação mais forte com os indicadores da gravidade do trauma, incluindo a Escala de Coma de Glasgow (ECG) e a duração do coma e da amnésia pós-traumática, do que com evolução funcional (Bigler, 2001;

Wilde et al., 2015; Trivedi et al., 2007; Ding *et al.*, 2008), alguns estudos mostram correlação entre a evolução funcional e as taxas de atrofia do ET, da SC (Ding *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009; Warner *et al.*, 2010) e da SB (Ding *et al.*, 2008).

Em um desses estudos não apenas se caracterizou o valor prognóstico da atrofia cerebral total, da SC e de algumas regiões corticais específicas, mas ainda estimou-se o risco de déficit funcional de acordo com a taxa de atrofia (de 10% nos pacientes sem atrofia cerebral entre os exames, de 37% naqueles que apresentaram 5% de atrofia cerebral, e de 76% nos que apresentaram atrofia de 10%) (Warner *et al.*, 2010). Outros trabalhos ainda avaliam a participação de áreas específicas na determinação do prognóstico (Warner *et al.*, 2010; Strangman *et al.*, 2010; Irimia *et al.*, 2012; Ledig *et al.*, 2017) e mostraram que o hipocampo, o núcleo *accumbens* e a amígdala (Ledig *et al.*, 2017), bem como o córtex pré-frontal, tálamos e giro do cíngulo (Strangman *et al.*, 2010) são algumas das áreas mais preditoras de evolução clínica.

É importante reconhecermos, no entanto, que a nossa amostra apresentou valores de EPG muito semelhantes, variando praticamente entre 4 e 5. A seleção de uma amostra com maior variabilidade dos resultados na EPG (entre 1 e 5) talvez fornecesse resultados diferentes. Outro fator complicador para comparações entre estudos é que a EPG de 5 abrange um espectro muito grande de desempenho funcional, incluindo desde pacientes sem nenhum déficit até pacientes com déficits leves. Isso torna essa escala pouco sensível a menores taxas de lesão neuronal ou atrofia e possibilita que pacientes que mantiveram perda neuronal, mas que foram capazes de compensar esse dano na sua reintegração às atividades exercidas

antes do TCE, apresentem anormalidades nos parâmetros mesmo com EPG de 5 (Sinson *et al.*, 2001).

Limitações, desafios e perspectivas futuras:

Este estudo apresentou limitações relacionadas ao processamento, à sua amostra e ao seu desenho que valem a pena serem mencionadas. Em relação ao processamento, há considerações especiais que devem ser feitas, tanto em relação as ITM quanto à volumetria (Hunter *et al.*, 2012; Wilde *et al.*, 2015).

Em relação às ITMs, primeiro elas têm longo tempo de aquisição, aumentando sua vulnerabilidade aos artefatos de movimento, o que pode influenciar substancialmente os valores de RTM. Segundo, os resultados quantitativos obtidos com diferentes parâmetros de aquisição ou máquinas de RM com versões e programas distintos podem não ser diretamente comparáveis entre si (Pagani *et al.*, 2008). Terceiro, apesar da RTM ser considerada sensível para alterações microestruturais tecidual, sua capacidade em relevar de forma específica a patologia subjacente (ou seja, inflamação, edema, degeneração Walleriana, demielinização ou dano axonal) requer maior investigação, particularmente no TCE, onde múltiplas patologias podem coexistir (Wilde *et al.*, 2015). Quarto, nem todos os estudos encontraram uma associação nítida entre as métricas derivadas da ITM e a evolução clínica (Bagley *et al.*, 2000; Petrie *et al.*, 2014), necessitando-se de estudos adicionais nessa área.

Outro fator relevante é a influência inevitável do efeito de volume parcial na mensuração da RTM, decorrente da média da RTM ser calculada a partir da cópia das regiões segmentadas no T1 volumétrico aos mapas correspondentes de RTM, o que pode resultar na inclusão ou exclusão inapropriada de *voxels*, particularmente adjacentes à transição líquórica-encefálica. O grupo dos pacientes é particularmente sujeito a esse efeito, pois a atrofia caracterizada neles pode resultar em maior susceptibilidade a efeitos de volume parcial (Ridha *et al.*, 2007). Embora esse efeito seja um fator confundidor inevitável, causando aparente redução da média da RTM como resultado da atrofia, o uso de imagens de alta resolução tanto para o volume quanto para as medidas de RTM e o cuidado na segmentação da SC e SB foram medidas tomadas neste estudo para tentar minimizar sua influência sobre o valor final da RTM média.

Apesar dessas limitações, a ITM demonstra-se promissora na detecção de mudanças sutis da SC e SB aparentemente normal e tem potencial para avançar o conhecimento sobre as mudanças microestruturais transitórias e persistentes associadas ao TCE. O desenvolvimento de novas medidas quantitativas de transferência de magnetização, incluindo a concentração da reserva de macromoléculas, a proporção do tamanho da reserva de prótons livres e as taxas de troca entre as reservas (Dortch *et al.*, 2013) poderá trazer informações adicionais sobre o processo patológico subjacente. Novos métodos de ITM que não requerem um pulso separado de saturação estão em desenvolvimento e poderão render maior RTM, maior sinal-ruído e melhor contraste entre SC e SB, num menor espaço de tempo (entre 1 a 2 minutos) (Barker *et al.*, 2015). Ainda, alternativas ao método

gradiente eco, como as imagens de precessão livre equilibrada em estado estacionário (*balanced steady state free precession - bSSFP*) também prometem reduzir o tempo de aquisição da ITM consideravelmente (Amann *et al.*, 2015). Recentemente, tem-se observado alguns estudos interessantes sobre o uso da ITM no monitoramento da recuperação neurológica (Choe *et al.*, 2013), da plasticidade axonal após a lesão (Lin *et al.*, 2015) e nos efeitos da intervenção farmacológica (Zivadinov *et al.*, 2014).

Em relação ao processamento dos volumes, a técnica escolhida para a avaliação volumétrica longitudinal apresentou algumas desvantagens. O uso do *SIENAX* do *FSL* foi escolhido pela possibilidade de se utilizar o mesmo programa para o cálculo da RTM e do volume. Com isso, esperava-se reduzir o viés entre diferentes programas e versões e permitir o uso da mesma máscara de SC e SB em ambas as análises. No entanto, essa escolha implicou no registro linear das imagens (usado pelo *FLIRT* e consequentemente o *SIENAX*) e na comparação entre os exames dos pacientes a partir do contraste entre suas médias. Métodos de análise volumétrica que utilizam registros não lineares, como por exemplo o VBM ou TBM, têm mostrado maior sensibilidade na detecção de mudanças volumétricas sutis nas estruturas cerebrais (Ashburner *et al.*, 2000; Leow *et al.*, 2006) e no acompanhamento evolutivo da atrofia cerebral de pacientes com doenças neurodegenerativas, como Alzheimer (Hua *et al.*, 2013) e mesmo o TCE (Sidaros *et al.*, 2009; Cole *et al.*, 2018).

Em relação à amostra, esta se mostrou heterogênea em relação ao gênero, com apenas quatro indivíduos femininos em cada um dos grupos. Além disso, houve

diferenças no nível de educação entre os pacientes e os controles, com esses últimos apresentando maior grau de escolaridade. Idealmente, os pacientes devem ser comparados a indivíduos saudáveis que se assemelhem o máximo possível a eles; no entanto, as vítimas de TCE são mais comumente do sexo masculino e com menor grau de escolaridade do que a população normal. Além disso, estudos prévios que investigaram a atrofia volumétrica em vítimas de TCE usando um grupo controle sem disparidades em relação ao gênero e ao nível educacional (Kim *et al.*, 2008; Sidaros *et al.*, 2009), encontraram resultados semelhantes àqueles que utilizaram controles bem diferentes dos pacientes (Bendlin *et al.*, 2008; Trivedi *et al.*, 2007).

Finalmente, uma limitação relacionada ao desenho do estudo, foi o fato de o desenho longitudinal ter sido aplicado no grupo dos pacientes, mas não nos controles. Desenhos semelhantes foram observados em outros estudos longitudinais em pacientes com TCE (Ding *et al.*, 2008; Ng *et al.*, 2008; Warner *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2010; Ross *et al.*, 2012; Tomaiuolo *et al.*, 2012; Brezova *et al.*, 2014), que defendem um ano ser um período muito pequeno para se observar variações expressivas o suficiente nos parâmetros para serem fatores confundidores. No entanto, a comparação ideal do padrão evolutivo entre dois grupos, com minimização da influência do tempo do estudo, só é possível através da instituição do padrão temporal de aquisição dos exames em ambos os grupos, como observado em alguns trabalhos longitudinais de TCE (Triverdi *et al.*, 2007; Cole *et al.*, 2018).

7. Conclusões

1. Houve caracterização da progressão do dano axonal/mielínico e da perda macroscópica parenquimatosa, através da redução gradual da RTM média e do volume ao longo do estudo, respectivamente, sobretudo na SB, onde as mudanças foram mais expressivas.
2. Observou-se significativa redução da RTM média na SB e aumento na SC e no ET dos pacientes em relação aos controles.
3. Não houve correlação entre o período de maior redução da RTM média e de maior redução do volume entre os exames, em nenhum dos compartimentos, com a maior dissincronia entre os períodos caracterizada na SB.
4. Não houve correlação entre a variação dos parâmetros ao longo do estudo e a evolução funcional dos pacientes.

8. Anexos

ANEXO A: TERMO DE APROVAÇÃO DA CAPEPESQ

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA USP -
HCFMUSP**

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo multiparamétrico de ressonância magnética de pacientes com lesão axonal difusa traumática.

Pesquisador: Claudia da Costa Leite

Área Temática: Versão: 1

CAAE: 13533314.0.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 569.173

Data da Relatoria: 12/03/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que utilizará dados de RM colhidos no projeto “Estudo prospectivo dos aspectos neuropsicológicos e qualidade de vida em pacientes com lesão axonal difusa traumática” sob responsabilidade do Prof. Dr. Manoel Jacobsen Teixeira CAPPESQ 0728/10. No total foram estudados 28 pacientes na avaliação inicial e 17 pacientes com controle evolutivo de 12 meses.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar os achados de transferência de magnetização e espectroscopia de prótons na LAD em aparelho de 3,0 T, entre 2 e 12 meses após o traumatismo e descrever as alterações longitudinalmente; utilizar a RM [3,0 T] e descrever longitudinalmente as alterações que ocorrem nos parâmetros quantitativos através das sequências de espectroscopia de prótons e transferência de magnetização.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco mínimo.

Benefício justifica o risco.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se da utilização de exames não invasivos realizados em outro projeto de pesquisa (aos dois, seis e doze meses de lesão axonal difusa). Já foram obtidas imagens de 28 pacientes na fase inicial e, destes, 17 realizaram até o controle de 12 meses. A coleta de dados clínicos já é realizada durante o atendimento dos pacientes no Ambulatório de Trauma do Grupo de Emergências Neurocirúrgicas da Disciplina de Clínica Neurocirúrgica, do Departamento de Neurologia no Prédio dos Ambulatórios e no Instituto Central do HC-FMUSP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

Recomendações:

n.d.n.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5o andar

Bairro: Cerqueira Cesar **UF:** SP **Município:** **Telefone:** (11)2661-7585

CEP: 05.403-010 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

SAO PAULO

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA USP -
HCFMUSP**

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com o item IX.2 da Resolução CNS no 196/96 cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

SAO PAULO, 26 de março de 2014

Assinado por:

Alfredo José Mansur (Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5o andar
Bairro: Cerqueira Cesar **UF:** SP **Município:** **Telefone:** (11)2661-7585
CEP: 05.403-010 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** marcia.carvalho@hc.fm.usp.br
SAO PAULO

ANEXO B: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO****DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE
 CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....
 NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

 DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ☐ F ☐
 DATA NASCIMENTO.:/...../.....
 ENDEREÇO: Nº APTO:
 BAIRRO: CIDADE:
 CEP: TELEFONE: DDD
 (.....)

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “Estudo multiparamétrico de ressonância magnética de pacientes com lesão axonal difusa.”

PESQUISADORES: Fabíola Bezerra de Carvalho Macruz

CARGO/FUNÇÃO: Médica

INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 141443

UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia

2. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO x RISCO MÉDIO ☐
 RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 1 ano

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

1 – Você está sendo convidado a participar de um estudo cujo objetivo será avaliar ao longo do tempo os achados de ressonância magnética relacionadas à lesão axonal difusa traumática. Este é um convite, que você pode não aceitar sem que exista qualquer prejuízo ao tratamento.

2 – O participante do estudo será avaliado em três momentos: 1) cerca de 1 mês após o trauma (acidente que sofreu) ou sua inclusão no estudo; 2) seis meses após trauma ou sua inclusão no estudo e 3) um ano após trauma ou sua inclusão no estudo, nos quais serão realizados exames de ressonância magnética. O participante fará um exame de ressonância magnética que terá duração de cerca de 45 minutos a uma hora. Não será injetado meio de contraste endovenoso.

3 – A ressonância magnética não oferece riscos à saúde. O paciente entra num tubo, onde ouve um barulho e as imagens são adquiridas.

4 – Não há benefício direto para o participante. Trata-se de estudo investigativo na qual pretende testar a hipótese que achados de ressonância magnética se correlacionam com a evolução observada após o trauma e se achados da fase aguda (Inicial) podem predizer o a chance de evoluir melhor ou pior.

5 – Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a Dra Fabíola Bezerra de Carvalho Macruz, que pode ser encontrada no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas no telefone 2661-8097 ou no celular número 011-995715906. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: cappesq@hcnet.usp.br.

6 – É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

7 – Direito de confidencialidade – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgado a identificação de nenhum paciente.

10 - Compromisso do pesquisador de utilizar os dados e o material coletado somente para esta pesquisa.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Estudo multiparamétrico de ressonância magnética de pacientes com lesão axonal difusa”.

Eu discuti com a Dra Fabíola Bezerra de Carvalho Macruz sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data / /

Assinatura da testemunha _____ Data ____ / ____ / ____

para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo

Data ____/____/____

ANEXO C: PROTOCOLO CLÍNICO DE AVALIAÇÃO

PROTOCOLO LESÃO AXONAL DIFUSA

Grupo de Emergências Neurocirúrgicas Traumáticas do PSNC – HC - FMUSP

Médico: _____ Data: ____ / ____ / ____ .

DADOS IDENTIFICAÇÃO:

Nome do paciente: _____ Data Nascimento: ____ / ____ / ____ .

Endereço _____ completo: _____

DADOS ADMISSÃO: Dia do traumatismo: ____ / ____ / ____ . Hora: Àt: ____
 Seg / Ter / Qua / Qui / Sex / Sab / Dom Pré-Hospitalar: SAMU-UR // Águia // Outro:
 Mecanismo do traumatismo: _____
 Glasgow na Cena do Trauma: _____ Glasgow Admissão: _____
 Pupilas: Isocóricas X Anisocóricas Déficit Motor: () Não () Sim
 Hipotensão: () Não () Sim Hipóxia: () Não () Sim
 Monitoração da PIC: () Não () Sim Hipertensão Intracr.: () Não () Sim

DADOS RADIOLOGICOS E DE IMAGEM:

Tipo de Lesão Encefálica Difusa pela TC segundo Marshall [Marshall, 1991](38):

- I - sem lesão intracraniana visível na TC
- II - cisternas presentes + DLM 0-5 mm e/ou lesões densidade alta ou mista <= 25 ml
- III - cisternas comprimidas ou ausentes + DLM 0-5 mm e/ou lesões densidade alta ou mista <= 25 ml
- IV - DLM > 5 mm sem lesões densidade alta ou mista > 25 ml

Localização da Lesão Encefálica Difusa pela RM segundo Gennarelli [Gennarelli, 1982](37):

- LAD I - transição entre a substância cinzenta e branca nos hemisférios cerebrais
- LAD II - corpo caloso + LAD I
- LAD III - porção superior do tronco encefálico + LAD II

Classificação das Lesões Encefálicas pela RM segundo Gentry [Gentry, 1988](7):

- I – Contusão cortical
- II – Lesão axonal difusa
- III – Lesão da substância cinzenta subcortical
- IV – Lesão do tronco encefálico

Classificação das Lesões Encefálicas pela RM segundo Firsching [Firsching, 2001](45):

- I – Lesão restrita aos hemisférios cerebrais
II – Lesão unilateral em qualquer localização no tronco encefálico com ou sem I
III – Lesão bilateral no mesencéfalo com ou sem I e/ou II
IV – Lesão bilateral da ponte com ou sem I e/ou II e/ou III

DADOS SEGUIMENTO (após 2, 6 e 12 meses do traumatismo):

	2 m	6 m	12 m
Número de Lesões T2*			
Volume			
Relação Cho/Cre			
Anisotropia fracionada			
Razão de Transferência de Magnetização			

ANEXO D: ROTEIRO DO PROCESSAMENTO DAS ITM NO GRUPO DOS PACIENTES EM LINGUAGEM DE COMANDO *BASH*

```

echo "Reorientando as imagens T1 e PRESTO para a orientação padrão"
fslreorient2std T1.nii T1_reoriented.nii.gz
fslreorient2std PRESTO.nii PRESTO_reoriented.nii.gz

echo "Extraindo brain do T1_reoriented"
bet T1_reoriented.nii.gz T1_brain -B -f 0.35 -g 0 -m

echo "Segmentando o T1_brain"
fast -t 1 -n 3 -H 0.1 -l 4 -l 20.0 -o T1_brain.nii.gz T1_brain

echo "Extraindo os núcleos da base"
run_first_all -i T1_brain.nii.gz -o brain_nb -b -s
L_Accu,L_Amyg,L_Caud,L_Hipp,L_Pall,L_Puta,L_Thal,R_Accu,R_Amyg,R_Caud,R_Hipp,R_Pall,R_Puta,R_Thal

echo "Checando se houve erros"
cat brain_nb.logs/*.e*

echo "Checando o co-registro"
/usr/local/fsl/bin/slicesdir -p /usr/local/fsl/data/standard/MNI152_T1_1mm.nii.gz *_to_std_sub.nii.gz

echo "Checando a segmentação"
first_roi_slicesdir T1_brain.nii.gz brain_*_firstseg.nii.gz

echo "Renomeando a máscara dos núcleos da base"
mv brain_nb_all_none_firstseg.nii.gz NB_mask.nii.gz

echo "Corrigindo as máscaras de SB e SC"
fslmaths T1_brain_pve_2.nii.gz -sub NB_mask.nii.gz -thr 0 WM_mask_temp
fslmaths WM_mask_temp -thr 0.5 -bin WM_mask

fslmaths T1_brain_pve_1.nii.gz -thr 0.5 GM_mask_temp
fslmaths GM_mask_temp -add NB_mask.nii.gz -bin GM_mask

echo "Calculando os volumes a partir da contagem de voxels das máscaras"
fslstats T1_brain.nii.gz -V >> Vol_T1_brain.txt
fslstats GM_mask.nii.gz -V >> Vol_GM_mask.txt
fslstats WM_mask.nii.gz -V >> Vol_WM_masks.txt
fslstats NB_mask.nii.gz -V >> Vol_NB_mask.txt

echo "Criando pasta FIRST_NB"
mkdir FIRST_NB

echo "Transferindo arquivos para pasta"
mv brain_nb* FIRST_NB
mv slicesdir FIRST_NB
mv *_to_std_sub* FIRST_NB

echo "Extraindo brain do PRESTO_reoriented.nii"
bet PRESTO_reoriented.nii.gz PRESTO_brain -f 0.5 -g 0 -m

echo "Segmentando PRESTO_brain"
fast -t 2 -n 4 -H 0.1 -l 4 -l 20.0 -o PRESTO_brain.nii

echo "Renomeando a máscara com conteúdo hemático"
mv PRESTO_brain_pve_3.nii.gz Lesion_mask.nii.gz

echo "Fazendo o co-registro da imagem de PRESTO_brain para o T1_brain"

```



```

flirt -in PRESTO_brain.nii.gz -ref T1_brain.nii.gz -out PRESTO_brain_FLIRT.nii.gz -omat
PRESTO_brain_FLIRT.mat -bins 256 -cost corratio -searchrx 0 0 -searchry 0 0 -searchrz 0 0 -dof 6 -
interp trilinear

echo "Fazendo co-registro Lesion_mask.nii para o T1_brain"
flirt -in Lesion_mask.nii.gz -applyxfm -init PRESTO_brain_FLIRT.mat -out Lesion_mask_FLIRT.nii.gz -
paddingsize 0.0 -interp trilinear -ref T1_brain.nii.gz

echo "Subtraindo as lesões da WM_mask"
fslmaths WM_mask -sub Lesion_mask_FLIRT.nii.gz -thr 1 WM_no_lesion_mask

echo "Subtraindo as lesões da GM_mask"
fslmaths GM_mask -sub Lesion_mask_FLIRT.nii.gz -thr 1 GM_no_lesion_mask

echo "Separando as imagens MT on e off"
fslsplit MT.nii MT_ -t

echo "Reorientando as imagens MT para a orientação padrão"
fslreorient2std MT_0000.nii.gz MT0_reoriented.nii.gz
fslreorient2std MT_0001.nii.gz MT1_reoriented.nii.gz

echo "Calculando o mapa de RTM"
fslmaths MT0_reoriented.nii.gz -sub MT1_reoriented.nii.gz -mul 100 -div MT0_reoriented.nii.gz MTR

echo "Extraíndo brain do MT1_reoriented"
bet MT1_reoriented MT1_brain -f 0.5 -g 0 -m

echo "Aplicando a máscara do MT1_brain no mapa de RTM"
fslmaths MTR.nii.gz -mul MT1_brain_mask.nii.gz MTR_brain

echo "Fazendo co-registro da imagem de M1_brain para o T1_brain"
flirt -in MT1_brain.nii.gz -ref T1_brain.nii.gz -out MT1_brain_FLIRT.nii.gz -omat MT1_brain_FLIRT.mat -
bins 256 -cost corratio -searchrx -90 90 -searchry -90 90 -searchrz -90 90 -dof 6 -interp trilinear

echo "Calculando a matriz inversa da transformação do M1_brain para o T1_brain"
convert_xfm -omat MT1_brain_FLIRT_INV.mat -inverse MT1_brain_FLIRT.mat

echo "Aplicando a matriz inversa na máscara da SB sem lesões"
flirt -in WM_no_lesion_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIRT_INV.mat -out
WM_no_lesion_FLIRT.nii.gz -paddingsize 0.0 -interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "Aplicando a matriz inversa na máscara da SC sem lesões"
flirt -in WM_no_lesion_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIRT_INV.mat -out
GM_no_lesion_FLIRT.nii.gz -paddingsize 0.0 -interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "Transformando a WM_no_lesion_FLIRT em máscara binária"
fslmaths WM_no_lesion_FLIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin WM_no_lesion

echo "Transformando a GM_no_lesion_FLIRT em máscara binária"
fslmaths GM_no_lesion_FLIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin GM_no_lesion

echo "Calculando histograma, média e percentis da SB sem lesões"
fslstats MTR_brain -k WM_no_lesion -M -S >> WM_no_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k WM_no_lesion -P 25 >> WM_no_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k WM_no_lesion -P 50 >> WM_no_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k WM_no_lesion -P 75 >> WM_no_lesion_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k WM_no_lesion -H 100 1 100 >> WM_no_lesion_hist.txt

echo "Calculando histograma, média e percentis da SC sem lesões"
fslstats MTR_brain -k GM_no_lesion -M -S >> GM_no_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k GM_no_lesion -P 25 >> GM_no_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k GM_no_lesion -P 50 >> GM_no_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k GM_no_lesion -P 75 >> GM_no_lesion_percentil75.txt

```

```

fslstats MTR_brain -k GM_no_lesion -H 100 1 100 >> GM_no_lesion_hist.txt

echo "Somando as duas máscaras sem lesões"
fslmaths WM_no_lesion.nii.gz -add GM_no_lesion.nii.gz Total_brain_no_lesion

echo "Calculando histograma, média e percentis do cérebro total sem lesões"
fslstats MTR_brain -k Total_brain_no_lesion -M -S >> Total_brain_no_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_no_lesion -P 25 >> Total_brain_no_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_no_lesion -P 50 >> Total_brain_no_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_no_lesion -P 75 >> Total_brain_no_lesion_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_no_lesion -H 100 1 100 >> Total_brain_no_lesion_hist.txt

echo "Aplicando a matriz inversa na máscara da SB"
flirt -in WM_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIIRT_INV.mat -out WM_with_lesion_FLIIRT.nii.gz -
paddingssize 0.0 -interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "Aplicando a matriz inversa na máscara da SC"
flirt -in GM_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIIRT_INV.mat -out GM_with_lesion_FLIIRT.nii.gz -
paddingssize 0.0 -interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "Transformando a WM_with_lesion_FLIIRT em máscara binária"
fslmaths WM_with_lesion_FLIIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin WM_with_lesion

echo "Transformando a WM_with_lesion_FLIIRT em máscara binária"
fslmaths GM_with_lesion_FLIIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin GM_with_lesion

echo "Calculando histograma, média e percentis da SB com lesões"
fslstats MTR_brain -k WM_with_lesion -M -S >> WM_with_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k WM_with_lesion -P 25 >> WM_with_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k WM_with_lesion -P 50 >> WM_with_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k WM_with_lesion -P 75 >> WM_with_lesion_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k WM_with_lesion -H 100 1 100 >> WM_with_lesion_hist.txt

echo "Calculando histograma, média e percentis da SC com lesões"
fslstats MTR_brain -k GM_with_lesion -M -S >> GM_with_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k GM_with_lesion -P 25 >> GM_with_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k GM_with_lesion -P 50 >> GM_with_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k GM_with_lesion -P 75 >> GM_with_lesion_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k GM_with_lesion -H 100 1 100 >> GM_with_lesion_hist.txt

echo "Somando as duas máscaras"
fslmaths WM_with_lesion.nii.gz -add GM_with_lesion.nii.gz Total_brain_with_lesion

echo "Calculando histograma, média e percentis do cérebro total com lesões"
fslstats MTR_brain -k Total_brain_with_lesion -M -S >> Total_brain_with_lesion_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_with_lesion -P 25 >> Total_brain_with_lesion_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_with_lesion -P 50 >> Total_brain_with_lesion_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_with_lesion -P 75 >> Total_brain_with_lesion_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain_with_lesion -H 100 1 100 >> Total_brain_with_lesion_hist.txt

```

ANEXO E: ROTEIRO DO PROCESSAMENTO DAS ITM NO GRUPO-CONTROLE EM LINGUAGEM DE COMANDO BASH

```

echo "Reorientando as imagens T1 e PRESTO para a orientação padrão"
fslreorient2std T1.nii T1_reoriented.nii.gz

echo "Extraíndo brain do T1_reoriented"
bet T1_reoriented.nii.gz T1_brain -B -f 0.35 -g 0 -m

echo "Segmentando o T1_brain"
fast -t 1 -n 3 -H 0.1 -l 4 -l 20.0 -o T1_brain.nii.gz T1_brain

echo "Extraíndo os núcleos da base"
run_first_all -i T1_brain.nii.gz -o brain_nb -b -s
L_Accu,L_Amyg,L_Caud,L_Hipp,L_Pall,L_Puta,L_Thal,R_Accu,R_Amyg,R_Caud,R_Hipp,R_Pall,R_Puta,R_Thal

echo "Checando se houve erros"
cat brain_nb.logs/*.e*

echo "Checando o co-registro"
/usr/local/fsl/bin/slicesdir -p /usr/local/fsl/data/standard/MNI152_T1_1mm.nii.gz *_to_std_sub.nii.gz

echo "Checando a segmentação"
first_roi_slicesdir T1_brain.nii.gz brain_*_firstseg.nii.gz

echo "Renomeando a máscara dos núcleos da base"
mv brain_nb_all_none_firstseg.nii.gz NB_mask.nii.gz

echo "Corrigindo as máscaras de SB e SC"
fslmaths T1_brain_pve_2.nii.gz -sub NB_mask.nii.gz -thr 0 WM_mask_temp
fslmaths WM_mask_temp -thr 0.5 -bin WM_mask

fslmaths T1_brain_pve_1.nii.gz -thr 0.5 GM_mask_temp
fslmaths GM_mask_temp -add NB_mask.nii.gz -bin GM_mask

echo "Calculando os volumes a partir da contagem de voxels das máscaras"
fslstats T1_brain.nii.gz -V >> Vol_T1_brain.txt
fslstats GM_mask.nii.gz -V >> Vol_GM_mask.txt
fslstats WM_mask.nii.gz -V >> Vol_WM_maks.txt
fslstats NB_mask.nii.gz -V >> Vol_NB_mask.txt

echo "Criando pasta FIRST_NB"
mkdir FIRST_NB

echo "Transferindo arquivos para pasta"
mv brain_nb* FIRST_NB
mv slicesdir FIRST_NB
mv *_to_std_sub* FIRST_NB

echo "Separando as imagens MT on e off"
fslsplit MT.nii MT_-t

echo "Reorientando as imagens MT para a orientação padrão"
fslreorient2std MT_0000.nii.gz MT0_reoriented.nii.gz
fslreorient2std MT_0001.nii.gz MT1_reoriented.nii.gz

echo "Calculando o mapa de RTM"
fslmaths MT0_reoriented.nii.gz -sub MT1_reoriented.nii.gz -mul 100 -div MT0_reoriented.nii.gz MTR

echo "Extraíndo brain do MT1_reoriented"
bet MT1_reoriented MT1_brain -f 0.5 -g 0 -m

```

```

echo "Aplicando a máscara do MT1_brain no mapa de RTM"
fslmaths MTR.nii.gz -mul MT1_brain_mask.nii.gz MTR_brain

echo "Fazendo co-registro da imagem de M1_brain para o T1_brain"
flirt -in MT1_brain.nii.gz -ref T1_brain.nii.gz -out MT1_brain_FLIRT.nii.gz -omat MT1_brain_FLIRT.mat -
bins 256 -cost corratio -searchrx -90 90 -searchry -90 90 -searchrz -90 90 -dof 6 -interp trilinear

echo "Calculando a matriz inversa da transformação do M1_brain para o T1_brain"
convert_xfm -omat MT1_brain_FLIRT_INV.mat -inverse MT1_brain_FLIRT.mat

echo "- Aplicando a matriz inversa na máscara da SB"
flirt -in WM_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIRT_INV.mat -out WM_FLIRT.nii.gz -padding 0.0
-interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "- Aplicando a matriz inversa na máscara da SC"
flirt -in GM_mask.nii.gz -applyxfm -init MT1_brain_FLIRT_INV.mat -out GM_FLIRT.nii.gz -padding 0.0
-interp trilinear -ref MT1_brain.nii.gz

echo "Transformando a WM_FLIRT em máscara binária"
fslmaths WM_FLIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin WM_total

echo "Transformando a GM_FLIRT em máscara binária"
fslmaths GM_FLIRT.nii.gz -thr 0.5 -bin GM_total

echo "Calculando histograma, média e percentis da SB"
fslstats MTR_brain -k WM_total -M -S >> WM_total_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k WM_total -P 25 >> WM_total_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k WM_total -P 50 >> WM_total_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k WM_total -P 75 >> WM_total_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k WM_total -H 100 1 100 >> WM_total_hist.txt

echo "Calculando histograma, média e percentis da SC"
fslstats MTR_brain -k GM_total -M -S >> GM_total_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k GM_total -P 25 >> GM_total_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k GM_total -P 50 >> GM_total_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k GM_total -P 75 >> GM_total_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k GM_total -H 100 1 100 >> GM_total_hist.txt

echo "Somando as duas máscaras"
fslmaths WM_total.nii.gz -add GM_total.nii.gz Total_brain

echo "Calculando histograma, média e percentis do cérebro total"
fslstats MTR_brain -k Total_brain -M -S >> Total_brain_mean_std.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain -P 25 >> Total_brain_percentil25.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain -P 50 >> Total_brain_percentil50.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain -P 75 >> Total_brain_percentil75.txt
fslstats MTR_brain -k Total_brain -H 100 1 100 >> Total_brain_hist.txt

```

ANEXO F: DADOS EPIDEMIOLÓGICOS – gênero, idade e escolaridade (em anos)

PACIENTES				CONTROLES			
ID	IDADE	SEXO	ESCOLARIDADE	ID	IDADE	SEXO	ESCOLARIDADE
P1	27	M	12	C1	30	M	18
P2	34	M	5	C2	32	M	14
P3	19	M	11	C3	35	M	20
P4	42	F	12	C4	28	M	20
P5	27	M	12	C5	25	F	15
P6	20	M	12	C6	35	M	20
P7	28	F	8	C7	28	M	20
P8	28	M	9	C8	27	M	14
P9	26	F	8	C9	25	M	14
P10	21	M	8	C10	30	M	17
P11	23	M	8	C11	24	F	17
P12	19	M	12	C12	29	M	18
P13	26	M	13	C13	29	M	18
P14	18	M	14	C14	32	F	14
P15	48	M	8	C15	35	M	14
P16	34	M	8	C16	25	F	9
P17	20	M	8	C17	31	M	19
P18	47	M	16	C18	29	M	17
P19	37	M	5	C19	30	M	19
P20	27	M	9	C20	27	M	17
P21	24	M	12	C21	21	M	14
P22	24	M	8	C22	34	M	18
P23	27	M	12	C23	24	M	17
P24	49	M	8	C24	30	M	10
P25	19	F	12	C25	27	M	12
P26	24	M	12	C26	27	M	10
MÉDIA	28,38 ± 9,2	4F:22M	10,08 ± 2,7 anos	MÉDIA	28,81 ± 3,6	4F:22M	15,96 ± 3,2 anos

ANEXO G: DADOS SOBRE O TRAUMA - mecanismo de trauma, escala de coma de Glasgow na admissão e o intervalo de tempo entre o trauma e a hospitalização (Δt)

Paciente	Mecanismo do trauma	Gravidade	ECG na admissão	Intervalo de tempo entre o trauma e a hospitalização Δt
P1	Acidente automobilístico	moderado	11	40
P2	Acidente automobilístico	grave	8	69
P3	Acidente motociclístico sem capacete	grave	8	39
P4	Heteroagressão	grave	7	15
P5	Acidente automobilístico	grave	6	77
P6	Acidente motociclístico com capacete	grave	5	30
P7	Acidente motociclístico com capacete	grave	3	30
P8	Acidente motociclístico com capacete	moderado	10	40
P9	Atropelamento por auto	grave	6	20
P10	Acidente automobilístico	grave	8	41
P11	Acidente motociclístico sem capacete	grave	8	35
P12	Acidente automobilístico	grave	6	20
P13	Acidente motociclístico com capacete	grave	8	28
P14	Acidente motociclístico com capacete	grave	8	48
P15	Atropelamento por ônibus	moderado	9	30
P16	Heteroagressão	moderado	9	30
P17	Atropelamento por automóvel	moderado	12	30
P18	Acidente motociclístico sem capacete	grave	6	50
P19	Atropelamento por ônibus	moderado	10	45
P20	Acidente motociclístico sem capacete	moderado	10	45
P21	Acidente motociclístico com capacete	moderado	12	35
P22	Acidente motociclístico com capacete	moderado	12	60
P23	Acidente motociclístico com capacete	grave	3	55
P24	Acidente motociclístico com capacete	moderado	12	20
P25	Acidente automobilístico	grave	7	50
P26	Acidente motociclístico com capacete	grave	3	30

ANEXO H: DADOS CLÍNICOS E DA TC NA ADMISSÃO: hipóxia, escala de Marshall na TC, presença de hemorragia subaracnóidea (HSA) traumática e hemorragia ventricular

Paciente	Escala de Marshall	Hipóxia	HSA traumática	Hemorragia ventricular
P1	II	Não	Não	Não
P2	II	Não	Sim	Sim
P3	II	Não	Não	Não
P4	I	Não	Não	Não
P5	II	Não	Não	Não
P6	I	Não	Não	Não
P7	II	Não	Não	Não
P8	II	Não	Não	Não
P9	I	Não	Não	Não
P10	II	Não	Não	Não
P11	II	Não	Não	Não
P12	II	Não	Sim	Não
P13	I	Não	Sim	Não
P14	II	Não	Não	Não
P15	II	Não	Não	Não
P16	II	Não	Não	Não
P17	II	Não	Não	Não
P18	II	Sim	Não	Não
P19	II	Não	Não	Não
P20	II	Não	Não	Não
P21	II	Não	Não	Não
P22	II	Não	Não	Não
P23	II	Não	Sim	Não
P24	II	Não	Não	Não
P25	II	Não	Não	Não
P26	II	Não	Não	Não
n total	-----	1	4	1

ANEXO I: RESULTADO DAS VARIÁVEIS CALCULADAS A PARTIR DAS ITM DE CADA INDIVÍDUO DA AMOSTRA

Paciente	RM	RTM DA SC					RTM DA SB					RTM DO ET				
		Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%
P1_1	1	50.33	17.72	47.73	51.66	55.03	56.65	8.06	54.77	57.75	59.65	53.32	14.22	50.34	54.73	58.31
P1_2	2	50.70	8.56	48.48	51.89	54.84	56.70	6.76	54.90	57.68	59.42	53.52	8.38	50.79	54.68	58.10
P1_3	3	50.58	9.87	48.21	51.92	55.05	56.55	6.05	54.63	57.61	59.48	53.51	8.85	50.69	54.83	58.22
P2_1	1	50.29	11.84	48.22	52.54	56.19	55.38	6.06	53.16	57.03	59.09	52.88	9.80	50.50	54.93	58.23
P2_2	2	50.67	8.52	48.16	52.49	55.91	56.98	4.90	55.21	58.09	59.79	53.79	7.72	51.18	55.59	58.76
P2_3	3	51.29	7.90	48.85	52.82	56.12	57.00	4.58	55.11	58.07	59.86	54.17	7.11	51.52	55.72	58.83
P3_1	1	50.16	7.01	47.45	51.34	54.25	56.99	4.15	55.42	57.70	59.29	53.43	6.81	50.47	54.69	58.01
P3_2	2	49.99	8.48	47.27	50.95	54.03	55.99	4.81	54.03	56.69	58.77	52.94	7.62	49.87	54.00	57.33
P3_3	3	49.85	6.96	47.45	50.98	53.68	56.10	4.83	54.73	56.98	58.61	52.88	6.74	50.05	54.03	57.30
P4_1	1	49.76	9.06	46.74	51.69	55.04	56.08	4.51	54.31	56.87	58.80	52.96	7.87	50.44	54.76	57.69
P4_2	2	49.41	8.51	46.84	51.46	54.56	55.49	4.77	53.98	56.30	58.08	52.48	7.52	50.31	54.32	57.02
P4_3	3	49.21	8.31	46.38	51.11	54.29	55.20	4.37	53.49	55.82	57.76	52.13	7.39	49.80	53.85	56.61
P5_1	1	52.83	7.11	50.13	53.79	57.28	58.58	4.65	56.40	59.74	61.64	55.76	6.69	52.56	56.98	60.51
P5_2	2	50.75	9.85	48.41	52.41	55.75	56.65	5.03	54.47	57.50	59.71	53.79	8.38	51.14	55.27	58.50
P5_3	3	50.65	8.39	48.35	52.16	55.34	56.29	4.90	54.25	57.16	59.23	53.48	7.49	50.91	54.88	58.02
P6_1	1	51.28	11.11	48.42	52.62	56.09	57.13	4.32	55.39	57.99	59.73	54.36	8.88	51.61	55.94	58.81
P6_2	2	51.27	7.88	49.00	52.34	55.21	56.32	5.05	54.77	56.94	58.67	53.77	7.13	51.39	54.99	57.63
P6_3	3	51.19	8.51	48.40	52.41	55.60	56.82	4.39	55.19	57.62	59.36	53.99	7.42	51.27	55.42	58.30
P7_1	1	50.40	7.19	47.94	51.14	53.88	56.27	4.09	54.59	56.78	58.64	53.52	6.53	50.68	54.52	57.45
P7_2	2	49.54	6.69	47.05	50.50	53.28	54.69	4.21	52.77	55.27	57.25	52.20	6.17	49.62	53.16	56.06
P7_3	3	48.75	10.29	46.27	50.00	52.99	54.06	4.49	52.11	54.64	56.72	51.39	8.47	48.92	52.55	55.49
P8_1	1	50.81	9.63	48.24	51.86	54.84	56.95	4.82	55.14	57.70	59.56	53.99	8.25	51.12	55.16	58.34
P8_2	2	51.14	8.86	48.67	52.36	55.33	56.81	4.00	54.97	57.51	59.33	54.03	7.49	51.44	55.25	58.19
P8_3	3	50.60	7.53	48.00	51.84	54.92	56.44	4.15	54.62	57.20	59.00	53.59	6.78	50.90	54.89	57.88

Paciente	RM	RTM DA SC					RTM DA SB					RTM DO ET				
		Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%
P9_1	1	49.56	7.27	46.89	50.77	53.73	56.22	3.60	54.60	56.80	58.50	52.81	6.75	49.96	54.13	57.22
P9_2	2	49.56	8.07	46.93	50.77	53.55	56.01	3.61	54.46	56.58	58.22	52.60	7.22	49.87	53.84	56.89
P9_3	3	48.81	7.13	45.84	49.89	53.03	55.35	4.22	53.40	55.93	57.97	51.97	6.83	48.85	53.13	56.46
P10_1	1	51.19	7.40	48.45	52.30	55.41	57.18	4.40	55.37	58.14	59.91	54.15	6.87	51.21	55.38	58.68
P10_2	2	50.70	6.62	48.50	51.45	54.05	56.18	3.87	54.31	56.70	58.51	53.41	6.15	50.70	54.17	57.23
P10_3	3	50.50	7.80	48.19	51.57	54.36	56.20	4.18	54.42	56.87	58.73	53.28	6.98	50.60	54.34	57.39
P11_1	1	51.36	7.45	49.42	51.75	54.01	57.41	3.50	55.99	57.75	59.20	54.37	6.65	51.44	55.07	58.02
P11_2	2	51.49	8.67	49.40	51.86	54.17	57.11	3.07	55.58	57.45	58.98	54.32	7.16	51.50	54.98	57.81
P11_3	3	50.92	6.22	48.74	51.39	54.00	56.58	3.37	55.02	57.07	58.60	53.77	5.79	50.92	54.59	57.49
P12_1	1	49.38	9.17	46.22	51.13	54.57	55.65	5.02	53.83	56.78	58.65	52.48	8.14	49.69	54.23	57.51
P12_2	2	50.11	9.19	47.23	51.75	55.04	55.95	5.25	54.23	57.04	58.98	52.94	8.17	50.28	54.59	57.79
P12_3	3	49.72	16.32	47.02	51.51	54.72	55.75	5.13	53.89	56.86	58.83	52.58	12.90	50.00	54.21	57.55
P13_1	1	50.17	8.92	46.93	51.69	55.04	56.30	4.50	54.76	57.19	58.87	53.25	7.76	50.45	54.97	57.85
P13_2	2	50.16	7.73	47.33	51.94	55.03	55.72	4.21	54.18	56.54	58.23	52.94	6.87	50.60	54.64	57.26
P13_3	3	48.96	7.84	45.82	50.54	53.80	55.35	4.34	53.72	56.13	57.93	52.02	7.21	49.25	53.65	56.70
P14_1	1	50.77	8.49	48.15	51.80	54.76	57.16	3.91	55.46	58.01	59.54	53.84	7.50	50.91	54.98	58.36
P14_2	2	50.81	5.88	48.55	51.50	54.03	56.57	3.49	54.89	56.99	58.69	53.58	5.71	50.84	54.38	57.37
P14_3	3	50.20	13.00	47.85	51.38	54.33	55.84	4.33	53.94	56.68	58.47	52.93	10.35	50.28	54.06	57.25
P15_1	1	49.11	11.04	46.76	51.95	55.52	55.43	6.12	53.70	56.91	58.88	52.38	9.46	50.18	54.82	57.90
P15_2	2	49.57	9.41	47.10	52.02	55.30	55.31	4.92	53.83	56.30	58.11	52.51	8.04	50.53	54.66	57.23
P15_3	3	49.22	9.86	46.79	51.87	55.20	55.27	5.13	53.84	56.40	58.14	52.24	8.48	50.29	54.57	57.23
P16_1	1	50.84	7.24	48.54	52.11	55.05	56.74	3.97	55.08	57.40	59.17	53.83	6.58	51.27	55.15	58.00
P16_2	2	51.28	5.96	49.04	52.10	54.88	56.95	3.54	55.35	57.48	59.16	54.15	5.70	51.47	55.20	57.99
P16_3	3	50.84	7.24	48.54	52.11	55.05	56.74	3.97	55.08	57.40	59.17	53.83	6.58	51.27	55.15	58.00
P17_1	1	52.09	10.48	48.54	53.77	57.77	56.63	7.29	54.15	57.99	59.89	54.35	9.33	51.19	56.22	59.22
P17_2	2	50.41	7.74	48.02	51.79	54.88	56.22	4.04	54.53	57.00	58.74	53.27	6.92	50.73	54.70	57.64
P17_3	3	49.90	10.38	47.14	51.06	54.35	56.09	4.72	54.11	56.75	58.85	52.88	8.81	49.92	54.14	57.43

Paciente	RM	RTM DA SC					RTM DA SB					RTM DO ET				
		Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%
P18_1	1	49.25	10.81	45.85	51.88	55.68	55.29	7.28	53.45	56.72	58.82	52.22	9.82	49.66	54.62	57.82
P18_2	2	48.25	13.50	45.51	52.60	56.44	53.80	8.38	52.03	56.06	58.39	51.00	11.67	49.11	54.55	57.68
P18_3	3	47.93	13.09	45.26	51.76	55.53	53.96	7.65	52.24	55.76	57.94	50.87	11.21	49.00	53.99	57.09
P19_1	1	51.54	9.70	48.95	52.55	55.48	57.47	6.19	56.00	58.03	59.65	54.71	8.65	52.10	56.07	58.72
P19_2	2	50.90	8.55	47.83	51.90	55.12	56.44	5.62	54.74	56.91	58.75	53.89	7.69	51.28	55.19	57.82
P19_3	3	48.99	11.09	45.84	50.79	54.37	55.02	6.23	52.77	55.52	57.98	52.09	9.52	49.39	53.62	56.79
P20_1	1	50.75	13.73	47.38	52.11	56.02	57.32	7.61	55.37	58.16	60.23	54.30	11.47	51.14	56.02	59.19
P20_2	2	50.02	14.01	46.34	51.69	55.90	56.23	13.27	53.54	56.82	59.74	53.25	14.20	50.00	54.80	58.43
P20_3	3	49.19	10.31	45.89	50.95	54.74	55.11	5.67	52.80	55.80	58.33	52.26	8.84	49.46	53.86	57.12
P21_1	1	50.91	7.91	48.44	51.94	54.86	57.21	3.71	55.61	58.01	59.59	54.05	7.02	51.16	55.24	58.43
P21_2	2	51.62	6.48	49.54	52.60	55.33	57.31	3.47	55.81	58.05	59.54	54.43	6.00	51.85	55.56	58.45
P21_3	3	50.42	8.30	48.52	52.15	55.11	56.48	4.51	54.77	57.58	59.22	53.45	7.39	51.07	54.99	58.13
P22_1	1	51.21	8.47	48.66	52.07	55.09	57.61	4.11	56.20	58.42	59.85	54.50	7.42	51.53	55.82	58.86
P22_2	2	51.28	7.62	48.75	52.27	55.35	57.20	4.24	55.62	58.01	59.58	54.30	6.87	51.53	55.61	58.57
P22_3	3	51.62	9.11	48.87	52.80	56.09	57.62	4.65	56.08	58.48	60.12	54.69	7.86	51.89	56.21	59.12
P23_1	1	51.25	23.71	49.07	52.92	56.23	56.72	4.61	54.69	57.74	59.59	54.07	17.34	51.54	55.66	58.67
P23_2	2	50.56	15.92	48.35	51.96	55.09	55.51	4.77	53.53	56.29	58.26	53.09	12.09	50.64	54.43	57.27
P23_3	3	50.29	8.73	47.87	51.86	54.91	55.09	4.85	53.03	55.81	58.06	52.68	7.54	50.27	54.02	56.92
P24_1	1	47.70	13.59	44.52	52.20	56.20	53.82	8.18	52.02	56.25	58.52	50.83	11.64	48.81	54.52	57.77
P24_2	2	47.50	13.90	44.41	52.31	56.32	52.85	9.33	51.13	55.75	58.24	50.22	12.16	48.27	54.22	57.58
P24_3	3	48.98	12.08	46.60	52.73	56.37	54.79	6.96	53.03	56.62	58.74	51.87	10.36	50.06	54.90	57.96
P25_1	1	50.24	7.15	47.77	51.40	54.21	55.51	4.06	53.89	56.30	57.94	52.82	6.48	50.31	54.03	56.87
P25_2	2	50.14	6.73	48.05	51.12	53.58	54.64	3.77	53.10	55.14	56.80	52.32	6.00	50.13	53.29	55.75
P25_3	3	49.08	7.97	46.66	51.01	53.93	53.61	4.92	51.90	54.60	56.45	51.17	7.16	49.11	52.85	55.50
P26_1	1	50.58	9.27	47.28	52.37	55.97	56.35	5.20	54.36	57.53	59.46	53.46	8.12	50.61	55.26	58.44
P26_2	2	50.19	9.32	47.09	52.14	55.52	55.55	5.42	53.79	56.82	58.70	52.85	8.15	50.30	54.73	57.74
P26_3	3	51.08	7.12	48.36	52.49	55.49	56.55	4.41	54.85	57.30	59.16	53.65	6.65	51.12	55.03	57.94

Controle	RM	RTM DA SC					RTM DA SB					RTM DO ET				
		Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%	Média	DP	25%	50%	75%
C1	1	50.90	8.10	48.04	51.81	54.93	58.46	4.94	56.75	59.18	60.94	54.36	7.88	50.85	55.45	59.44
C2	1	48.54	11.92	45.19	51.17	55.09	55.93	6.13	53.66	57.47	59.56	51.75	10.58	48.86	53.99	58.09
C3	1	48.85	10.27	46.04	51.13	54.55	55.85	5.38	53.72	56.70	58.79	51.95	9.23	49.45	53.80	57.35
C4	1	49.58	10.29	47.04	51.18	54.35	57.18	4.75	55.33	57.97	59.87	53.09	9.13	50.15	54.53	58.32
C5	1	49.60	7.31	46.86	50.86	53.79	56.85	4.06	54.99	57.68	59.33	52.63	7.20	49.56	53.66	57.71
C6	1	49.25	9.40	45.86	51.15	54.60	56.97	4.92	54.95	57.83	59.79	52.53	8.77	49.43	54.19	58.14
C7	1	53.74	9.30	50.35	53.41	56.83	59.67	5.14	57.39	59.49	61.20	56.33	8.35	52.38	56.66	60.05
C8	1	50.00	8.34	47.58	51.22	53.96	57.52	4.79	56.04	58.17	59.74	53.26	8.06	50.17	54.31	58.10
C9	1	49.03	9.47	46.40	50.68	53.77	55.95	5.08	54.00	56.89	58.83	51.94	8.69	49.19	53.32	57.17
C10	1	48.55	11.78	45.74	50.73	54.05	55.67	7.12	53.53	56.71	58.77	51.58	10.42	48.92	53.33	57.11
C11	1	50.31	13.79	46.57	52.58	56.53	55.98	8.22	53.51	56.99	59.24	52.67	12.14	49.66	54.69	58.22
C12	1	48.97	11.25	46.26	51.41	54.93	56.78	7.07	55.12	58.16	59.91	52.40	10.44	49.80	54.53	58.46
C13	1	47.31	18.07	44.06	52.28	56.67	54.38	9.08	51.78	56.60	59.54	50.68	15.08	48.56	54.42	58.50
C14	1	50.50	12.24	47.65	52.87	56.84	55.56	8.07	53.18	57.01	59.32	52.70	10.95	50.10	54.84	58.40
C15	1	49.36	12.65	46.63	51.42	55.03	56.32	5.50	54.59	57.68	59.37	52.41	10.82	49.68	54.37	58.11
C16	1	49.75	7.10	47.05	50.86	53.79	57.11	4.06	55.34	57.86	59.56	52.72	7.12	49.45	53.64	57.71
C17	1	48.64	10.99	44.63	50.47	54.82	56.07	6.60	53.94	57.17	59.46	52.07	10.02	48.53	54.12	58.01
C18	1	49.12	11.44	45.90	52.07	56.11	56.89	6.37	54.66	58.55	60.67	52.61	10.32	49.79	55.10	59.23
C19	1	48.94	9.36	46.42	50.69	53.82	56.69	5.95	54.99	57.54	59.32	52.36	9.01	49.49	53.88	57.71
C20	1	49.09	9.69	46.34	50.98	54.41	55.68	5.51	53.53	56.67	58.69	51.90	8.85	49.20	53.52	57.28
C21	1	50.18	15.13	48.11	51.50	54.34	57.49	16.76	55.86	58.46	60.20	53.18	16.46	50.30	54.25	58.38
C22	1	47.91	12.86	44.93	51.60	55.52	55.08	7.23	52.98	57.18	59.30	51.22	11.30	48.93	54.25	58.07
C23	1	47.06	15.51	43.39	50.97	55.41	54.36	7.93	51.62	56.38	59.24	50.29	13.35	47.48	53.44	57.80
C24	1	49.28	10.66	46.32	51.83	55.34	57.07	5.67	55.31	58.37	60.09	52.62	9.72	50.00	54.77	58.67
C25	1	50.90	8.10	48.04	51.81	54.93	58.46	4.94	56.75	59.18	60.94	54.36	7.88	50.85	55.45	59.44
C26	1	48.54	11.92	45.19	51.17	55.09	55.93	6.13	53.66	57.47	59.56	51.75	10.58	48.86	53.99	58.09

ANEXO J: RESULTADO DA VOLUMETRIA DE CADA INDIVÍDUO DA AMOSTRA

PACIENTE	RM	VOLUME		
		SC	SB	ET
P1_1	1	629526.44	476189.64	1105716.08
P1_2	2	647750.75	483263.26	1131014.01
P1_3	3	614359.00	492352.42	1106711.42
P2_1	1	762811.58	664666.77	1427478.35
P2_2	2	782570.45	660535.96	1443106.41
P2_3	3	744341.24	650622.16	1394963.40
P3_1	1	795332.84	633651.61	1428984.45
P3_2	2	806850.24	663643.98	1470494.22
P3_3	3	810720.30	620338.43	1431058.73
P4_1	1	739234.51	666388.31	1405622.82
P4_2	2	753500.08	653700.88	1407200.96
P4_3	3	737678.23	643870.84	1381549.07
P5_1	1	805827.15	700745.06	1506572.21
P5_2	2	812657.90	718613.07	1531270.97
P5_3	3	835036.12	699769.50	1534805.62
P6_1	1	732710.60	688449.44	1421160.04
P6_2	2	802082.62	667859.72	1469942.34
P6_3	3	767916.21	656080.52	1423996.73
P7_1	1	765276.90	718595.04	1483871.94
P7_2	2	766832.19	702643.73	1469475.92
P7_3	3	760709.71	670562.09	1431271.80
P8_1	1	807899.76	734675.31	1542575.07
P8_2	2	831355.80	712005.31	1543361.11
P8_3	3	822638.16	715057.83	1537695.99
P9_1	1	837957.57	692225.81	1530183.38
P9_2	2	832137.90	667681.76	1499819.66
P9_3	3	801888.30	655868.67	1457756.97
P10_1	1	819686.81	670941.15	1490627.96
P10_2	2	865258.23	690590.82	1555849.05
P10_3	3	839156.19	668666.50	1507822.69
P11_1	1	913445.92	738705.04	1652150.96
P11_2	2	905471.15	737603.85	1643075.00
P11_3	3	901339.29	732508.14	1633847.43
P12_1	1	779262.11	663530.05	1442792.16
P12_2	2	780594.91	640445.72	1421040.63
P12_3	3	794448.61	628945.58	1423394.19
P13_1	1	754004.27	645495.67	1399499.94
P13_2	2	720846.62	619046.20	1339892.82
P13_3	3	744892.63	602779.04	1347671.67
P14_1	1	812746.60	639116.18	1451862.78
P14_2	2	814065.12	636069.30	1450134.42
P14_3	3	789057.06	625127.23	1414184.29
P15_1	1	771512.63	708051.57	1479564.20
P15_2	2	760621.33	698191.15	1458812.48
P15_3	3	763556.72	670134.13	1433690.85
P16_1	1	847536.89	736814.39	1584351.28
P16_2	2	815582.79	719149.00	1534731.79
P16_3	3	847536.89	736814.39	1584351.28
P17_1	1	784157.47	645712.92	1429870.39
P17_2	2	792601.99	658223.74	1450825.73
P17_3	3	787094.07	623732.89	1410826.96

PACIENTE	RM	VOLUME		
		SC	SB	ET
P18_1	1	756853.47	640935.72	1397789.19
P18_2	2	760824.95	651867.37	1412692.32
P18_3	3	751182.98	641350.30	1392533.28
P19_1	1	730725.91	719604.32	1450330.23
P19_2	2	697482.91	712687.90	1410170.81
P19_3	3	711239.64	666806.00	1378045.64
P20_1	1	788830.90	757690.14	1546521.04
P20_2	2	788302.50	711596.06	1499898.56
P20_3	3	786717.17	705803.77	1492520.94
P21_1	1	820338.24	693050.64	1513388.88
P21_2	2	822152.84	684049.26	1506202.10
P21_3	3	827794.97	702984.37	1530779.34
P22_1	1	806421.24	711432.18	1517853.42
P22_2	2	810339.53	712180.84	1522520.37
P22_3	3	810296.72	702412.03	1512708.75
P23_1	1	841507.68	730632.57	1572140.25
P23_2	2	874342.06	740790.96	1615133.02
P23_3	3	863555.12	704707.97	1568263.09
P24_1	1	757687.48	696309.39	1453996.87
P24_2	2	765123.20	689424.66	1454547.86
P24_3	3	772287.82	683731.35	1456019.17
P25_1	1	849801.56	656932.28	1506733.84
P25_2	2	877353.27	661767.01	1539120.28
P25_3	3	836038.12	607201.92	1443240.04
P26_1	1	792925.11	651684.37	1444609.48
P26_2	2	794887.44	647075.29	1441962.73
P26_3	3	781626.63	607545.25	1389171.88

CONTROLE	RM	VOLUME		
		SC	SB	ET
C1	1	874516.90	779291.44	1653808.34
C2	1	846570.68	680024.12	1526594.80
C3	1	835795.76	696887.62	1532683.38
C4	1	834250.22	752854.83	1587105.05
C5	1	900753.53	685774.70	1586528.23
C7	1	812428.83	636177.76	1448606.59
C8	1	856003.41	683963.39	1539966.80
C9	1	914290.15	732054.52	1646344.67
C10	1	881788.33	676342.10	1558130.43
C11	1	850509.47	674799.60	1525309.07
C12	1	840325.31	639771.30	1480096.61
C14	1	838689.83	698909.43	1537599.26
C15	1	784952.86	745522.94	1530475.80
C16	1	872186.56	695567.94	1567754.50
C17	1	807393.26	667934.66	1475327.92
C18	1	928412.35	664990.35	1593402.70
C19	1	773439.92	705560.83	1479000.75
C20	1	838935.61	707752.99	1546688.60
C21	1	828381.42	695544.12	1523925.54
C22	1	831151.21	661749.54	1492900.75
C23	1	928988.69	686384.34	1615373.03
C24	1	840381.48	731614.61	1571996.09
C25	1	815952.52	673317.04	1489269.56
C26	1	790424.48	631411.56	1421836.04

ANEXO K: ESTATÍSTICA DESCRITIVA POR GRUPO E POR MOMENTO PELO TESTE DE NORMALIDADE DE KOLMOGOROV- SMIRNOV

grupo controle	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil	
SC RTM média	49.33	1.26	47.06	53.74	48.79	49.15	49.81	0.602
SC RTM DP	11.11	2.54	7.10	18.07	9.39	10.94	12.34	0.931
SC percentil_25	46.39	1.39	43.39	50.35	45.83	46.37	47.05	0.792
SC percentil_50	51.41	0.73	50.47	53.41	50.86	51.18	51.81	0.388
SC percentil_75	54.90	1.00	53.77	56.84	54.03	54.71	55.44	0.790
SB RTM média	56.46	1.14	54.36	59.67	55.81	56.31	57.08	0.906
SB RTM DP	6.43	2.48	4.06	16.76	5.04	5.70	7.15	0.364
SB percentil_25	54.45	1.35	51.62	57.39	53.53	54.63	55.32	0.951
SB percentil_50	57.58	0.81	56.38	59.49	56.95	57.50	58.16	0.895
SB percentil_75	59.56	0.65	58.69	61.20	59.17	59.41	59.88	0.581
ET RTM média	52.44	1.14	50.29	56.33	51.93	52.41	52.70	0.200
ET RTM DP	10.13	2.20	7.12	16.46	8.75	9.80	10.86	0.497
ET percentil_25	49.56	0.88	47.48	52.38	49.12	49.47	50.02	0.750
ET percentil_50	54.24	0.74	53.32	56.66	53.66	54.22	54.57	0.847
ET percentil_75	58.11	0.70	57.11	60.05	57.64	58.10	58.41	0.727
Volume SC	848925.11	42980.33	773439.92	928988.69	824230.94	839630.46	876334.76	0.554
Volume SB	691501.37	35445.15	631411.56	779291.44	669819.36	686079.52	706108.87	0.764
Volume ET	1540426.48	56997.63	1421836.04	1653808.34	1491992.95	1535141.32	1586672.44	0.870
IDADE	28.81	3.68	21.00	35.00	26.50	29.00	31.25	0.943

grupo pacientes tempo = 2 meses	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil	
SC RTM média	50.53	1.04	47.70	52.83	50.06	50.66	51.22	0.759
SC RTM DP	10.09	3.77	7.01	23.71	7.37	9.11	11.06	0.219
SC percentil_25	47.80	1.20	44.52	50.13	46.92	48.04	48.54	0.878
SC percentil_50	52.05	0.71	50.77	53.79	51.68	51.95	52.41	0.827
SC percentil_75	55.32	0.99	53.73	57.77	54.72	55.07	56.03	0.776
SB RTM média	56.54	0.97	53.82	58.58	55.97	56.68	57.19	0.891
SB RTM DP	5.15	1.46	3.50	8.18	4.09	4.56	6.14	0.194
SB percentil_25	54.76	1.02	52.02	56.40	54.09	54.76	55.43	0.919
SB percentil_50	57.53	0.76	56.25	59.74	56.85	57.70	58.01	0.795
SB percentil_75	59.33	0.72	57.94	61.64	58.82	59.38	59.67	0.723
ET RTM média	53.56	0.99	50.83	55.76	52.87	53.67	54.31	0.934
ET RTM DP	8.69	2.58	6.48	17.34	6.80	7.99	9.54	0.276
ET percentil_25	50.80	0.81	48.81	52.56	50.34	50.80	51.31	0.889
ET percentil_50	55.15	0.71	54.03	56.98	54.67	55.03	55.70	0.769
ET percentil_75	58.26	0.74	56.87	60.51	57.80	58.27	58.69	0.966
Volume SC	788616.22	53153.13	629526.44	913445.92	757478.98	790878.00	819849.67	0.943
Volume SB	680085.60	54969.58	476189.64	757690.14	650191.50	690337.63	718847.36	0.513
Volume ET	1468701.82	97125.15	1105716.08	1652150.96	1428607.93	1466780.54	1520935.91	0.281
IDADE	28.38	9.28	18.00	49.00	20.75	26.50	34.00	0.083

grupo pacientes tempo = 6 meses	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil	
SC RTM média	50.31	0.96	47.50	51.62	49.88	50.48	50.96	0.707
SC RTM DP	8.95	2.59	5.88	15.92	7.40	8.51	9.34	0.107
SC percentil_25	47.76	1.19	44.41	49.54	47.08	48.03	48.58	0.827
SC percentil_50	51.85	0.56	50.50	52.60	51.49	51.92	52.32	0.841
SC percentil_75	54.94	0.84	53.28	56.44	54.14	55.07	55.39	0.643
SB RTM média	55.97	1.06	52.85	57.31	55.51	56.20	56.72	0.632
SB RTM DP	5.15	2.20	3.07	13.27	3.85	4.77	5.29	0.058
SB percentil_25	54.22	1.09	51.13	55.81	53.73	54.38	54.92	0.874
SB percentil_50	56.84	0.78	55.14	58.09	56.30	56.87	57.48	0.976
SB percentil_75	58.72	0.73	56.80	59.79	58.24	58.72	59.35	0.871
ET RTM média	53.14	0.99	50.22	54.43	52.57	53.26	53.82	0.860
ET RTM DP	7.97	2.17	5.70	14.20	6.69	7.50	8.22	0.044
ET percentil_25	50.59	0.83	48.27	51.85	50.09	50.67	51.31	0.981
ET percentil_50	54.65	0.63	53.16	55.61	54.30	54.67	55.19	0.982
ET percentil_75	57.62	0.71	55.75	58.76	57.25	57.66	58.12	0.691
Volume SC	795445.72	55870.07	647750.75	905471.15	764048.64	798485.03	824453.58	0.896
Volume SB	674642.57	50877.63	483263.26	740790.96	653242.50	675954.49	712049.20	0.626
Volume ET	1470088.29	95921.69	1131014.01	1643075.00	1436732.21	1469709.13	1532136.18	0.375

grupo pacientes tempo = 12 meses	Média	Desvio padrão	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil	
SC RTM média	50.31	0.96	47.50	51.62	49.88	50.48	50.96	0.707
SC RTM DP	8.95	2.59	5.88	15.92	7.40	8.51	9.34	0.107
SC percentil_25	47.76	1.19	44.41	49.54	47.08	48.03	48.58	0.827
SC percentil_50	51.85	0.56	50.50	52.60	51.49	51.92	52.32	0.841
SC percentil_75	54.94	0.84	53.28	56.44	54.14	55.07	55.39	0.643
SB RTM média	55.97	1.06	52.85	57.31	55.51	56.20	56.72	0.632
SB RTM DP	5.15	2.20	3.07	13.27	3.85	4.77	5.29	0.058
SB percentil_25	54.22	1.09	51.13	55.81	53.73	54.38	54.92	0.874
SB percentil_50	56.84	0.78	55.14	58.09	56.30	56.87	57.48	0.976
SB percentil_75	58.72	0.73	56.80	59.79	58.24	58.72	59.35	0.871
ET RTM média	53.14	0.99	50.22	54.43	52.57	53.26	53.82	0.860
ET RTM DP	7.97	2.17	5.70	14.20	6.69	7.50	8.22	0.044
ET percentil_25	50.59	0.83	48.27	51.85	50.09	50.67	51.31	0.981
ET percentil_50	54.65	0.63	53.16	55.61	54.30	54.67	55.19	0.982
ET percentil_75	57.62	0.71	55.75	58.76	57.25	57.66	58.12	0.691
Volume SC	795445.72	55870.07	647750.75	905471.15	764048.64	798485.03	824453.58	0.896
Volume SB	674642.57	50877.63	483263.26	740790.96	653242.50	675954.49	712049.20	0.626
Volume ET	1470088.29	95921.69	1131014.01	1643075.00	1436732.21	1469709.13	1532136.18	0.375
Escala prognóstica de Glasgow (EPG)	4.385	0.571	3.000	5.000	4.000	4.000	5.000	0.008

ANEXO L: COMPARAÇÃO ENTRE O GRUPO CONTROLE (0) E DE PACIENTES (1) PELO TESTE T PARA AMOSTRAS INDEPENDENTES

Grupos: (0) controles (1) pacientes Tempo: 2 meses TCE		N	Média	Desvio padrão	Erro padrão da média	p-valor	Diferença média	EP	IC de 95%	
									Limite inferior	Limite superior
SC RTM média	0	26	49.326	1.259	0.247	<0.001	-1.203	0.320	-1.845	-0.561
	1	26	50.529	1.036	0.203					
SC RTM DP	0	26	11.108	2.545	0.499	0.261	1.013	0.892	-0.778	2.804
	1	26	10.094	3.767	0.739					
SC percentil_25	0	26	46.392	1.386	0.272	<0.001	-1.404	0.359	-2.125	-0.682
	1	26	47.796	1.199	0.235					
SC percentil_50	0	26	51.408	0.730	0.143	0.002	-0.644	0.200	-1.045	-0.242
	1	26	52.052	0.711	0.139					
SC percentil_75	0	26	54.904	0.998	0.196	0.140	-0.412	0.275	-0.964	0.140
	1	26	55.316	0.985	0.193					
SB RTM média	0	26	56.458	1.144	0.224	0.782	-0.082	0.294	-0.672	0.509
	1	26	56.540	0.968	0.190					
SB RTM DP	0	26	6.428	2.484	0.487	0.028	1.278	0.565	0.144	2.412
	1	26	5.150	1.455	0.285					
SB percentil_25	0	26	54.450	1.347	0.264	0.357	-0.308	0.332	-0.974	0.358
	1	26	54.758	1.022	0.200					
SB percentil_50	0	26	57.576	0.806	0.158	0.822	0.049	0.217	-0.387	0.485
	1	26	57.527	0.760	0.149					
SB percentil_75	0	26	59.561	0.650	0.127	0.235	0.228	0.190	-0.154	0.610
	1	26	59.333	0.719	0.141					
ET RTM média	0	26	52.438	1.137	0.223	<0.001	-1.125	0.296	-1.720	-0.531
	1	26	53.563	0.992	0.195					
ET RTM DP	0	26	10.134	2.201	0.432	0.035	1.441	0.665	0.105	2.776
	1	26	8.693	2.579	0.506					
ET percentil_25	0	26	49.564	0.884	0.173	<0.001	-1.239	0.235	-1.711	-0.767
	1	26	50.803	0.809	0.159					
ET percentil_50	0	26	54.244	0.743	0.146	<0.001	-0.906	0.201	-1.310	-0.502
	1	26	55.150	0.707	0.139					
ET percentil_75	0	26	58.111	0.700	0.137	0.444	-0.154	0.199	-0.554	0.247
	1	26	58.265	0.737	0.145					
Volume SC	0	26	848925.111	42980.327	8429.136	<0.001	60308.893	13405.744	33382.663	87235.124
	1	26	788616.217	53153.129	10424.186					
Volume SB	0	26	691501.369	35445.154	6951.367	0.378	11415.770	12827.275	#####	37180.109
	1	26	680085.598	54969.576	10780.421					
Volume ET	0	26	1540426.480	56997.630	11178.155	0.002	71724.664	22085.519	27364.592	116084.73
	1	26	1468701.816	97125.149	19047.809					

Grupos: (0) controles (1) pacientes Tempo: 6 meses TCE		N	Média	Desvio padrão	Erro padrão da média	p-valor	Diferença média	Standard error	IC de 95%	
									Limite inferior	Limite superior
SC RTM média	0	26	49.326	1.259	0.247	0.003	-0.982	0.310	-1.605	-0.359
	1	26	50.308	0.956	0.187					
SC RTM DP	0	26	11.108	2.545	0.499	0.004	2.160	0.713	0.729	3.591
	1	26	8.948	2.593	0.509					
SC percentil_25	0	26	46.392	1.386	0.272	<0.001	-1.371	0.359	-2.091	-0.651
	1	26	47.764	1.193	0.234					
SC percentil_50	0	26	51.408	0.730	0.143	0.017	-0.445	0.180	-0.807	-0.083
	1	26	51.853	0.557	0.109					
SC percentil_75	0	26	54.904	0.998	0.196	0.882	-0.038	0.255	-0.551	0.475
	1	26	54.942	0.837	0.164					
SB RTM média	0	26	56.458	1.144	0.224	0.115	0.490	0.306	-0.124	1.105
	1	26	55.968	1.061	0.208					
SB RTM DP	0	26	6.428	2.484	0.487	0.054	1.282	0.650	-0.025	2.588
	1	26	5.146	2.198	0.431					
SB percentil_25	0	26	54.450	1.347	0.264	0.505	0.228	0.340	-0.455	0.912
	1	26	54.221	1.095	0.215					
SB percentil_50	0	26	57.576	0.806	0.158	0.002	0.733	0.219	0.292	1.173
	1	26	56.843	0.776	0.152					
SB percentil_75	0	26	59.561	0.650	0.127	<0.001	0.845	0.192	0.459	1.231
	1	26	58.716	0.735	0.144					
ET RTM média	0	26	52.438	1.137	0.223	0.022	-0.700	0.296	-1.294	-0.106
	1	26	53.138	0.990	0.194					
ET RTM DP	0	26	10.134	2.201	0.432	0.001	2.166	0.607	0.948	3.385
	1	26	7.968	2.175	0.427					
ET percentil_25	0	26	49.564	0.884	0.173	<0.001	-1.027	0.237	-1.504	-0.550
	1	26	50.591	0.827	0.162					
ET percentil_50	0	26	54.244	0.743	0.146	0.041	-0.401	0.192	-0.786	-0.017
	1	26	54.645	0.634	0.124					
ET percentil_75	0	26	58.111	0.700	0.137	0.015	0.491	0.196	0.098	0.884
	1	26	57.620	0.711	0.139					
Volume SC	0	26	848925.111	42980.327	8429.136	<0.001	53479.389	13824.133	25712.801	81245.976
	1	26	795445.722	55870.066	10957.021					
Volume SB	0	26	691501.369	35445.154	6951.367	0.172	16858.800	12160.611	-7566.507	41284.106
	1	26	674642.569	50877.629	9977.924					
Volume ET	0	26	1540426.480	56997.630	11178.155	0.002	70338.188	21882.290	26386.316	114290.06
	1	26	1470088.291	95921.686	18811.790					

Grupos: (0) controles (1) pacientes Tempo: 12 meses TCE		N	Média	Desvio padrão	Erro padrão da média	p-valor	Diferença média	EP	IC de 95%	
									Limite inferior	Limite superior
SC RTM média	0	26	49.326	1.259	0.247	0.049	-0.627	0.311	-1.251	-0.002
	1	26	49.953	0.964	0.189					
SC RTM DP	0	26	11.108	2.545	0.499	0.010	1.824	0.677	0.465	3.183
	1	26	9.284	2.330	0.457					
SC percentil_25	0	26	46.392	1.386	0.272	0.007	-0.981	0.350	-1.685	-0.277
	1	26	47.374	1.128	0.221					
SC percentil_50	0	26	51.408	0.730	0.143	0.422	-0.172	0.212	-0.597	0.254
	1	26	51.580	0.797	0.156					
SC percentil_75	0	26	54.904	0.998	0.196	0.544	0.159	0.261	-0.364	0.683
	1	26	54.745	0.879	0.172					
SB RTM média	0	26	56.458	1.144	0.224	0.024	0.694	0.297	0.097	1.291
	1	26	55.764	0.994	0.195					
SB RTM DP	0	26	6.428	2.484	0.487	0.006	1.543	0.521	0.482	2.604
	1	26	4.885	0.943	0.185					
SB percentil_25	0	26	54.450	1.347	0.264	0.155	0.488	0.337	-0.190	1.165
	1	26	53.962	1.070	0.210					
SB percentil_50	0	26	57.576	0.806	0.158	<0.001	0.936	0.247	0.440	1.431
	1	26	56.640	0.966	0.189					
SB percentil_75	0	26	59.561	0.650	0.127	<0.001	0.996	0.210	0.574	1.418
	1	26	58.566	0.851	0.167					
ET RTM média	0	26	52.438	1.137	0.223	0.198	-0.384	0.294	-0.975	0.207
	1	26	52.822	0.979	0.192					
ET RTM DP	0	26	10.134	2.201	0.432	<0.001	2.030	0.539	0.947	3.112
	1	26	8.105	1.648	0.323					
ET percentil_25	0	26	49.564	0.884	0.173	0.006	-0.698	0.243	-1.186	-0.210
	1	26	50.262	0.868	0.170					
ET percentil_50	0	26	54.244	0.743	0.146	0.590	-0.120	0.222	-0.566	0.325
	1	26	54.364	0.852	0.167					
ET percentil_75	0	26	58.111	0.700	0.137	0.002	0.700	0.218	0.262	1.138
	1	26	57.411	0.865	0.170					
Volume SC	0	26	848925.111	42980.327	8429.136	<0.001	60344.04	13877.12	32471.03	88217.05
	1	26	788581.072	56210.546	11023.795					
Volume SB	0	26	691501.369	35445.154	6951.367	0.009	33202.39	12307.78	8481.49	57923.30
	1	26	658298.974	51789.562	10156.769					
Volume ET	0	26	1540426.480	56997.630	11178.155	<0.001	93546.43	22560.17	48233.00	138859.86
	1	26	1446880.047	99921.273	19596.174					

ANEXO M: COMPARAÇÃO ENTRE OS EXAMES DOS PACIENTES PELO TESTE DE FRIEDMANN PARA MEDIÇÕES DEPENDENTES

Variável	Média	DP	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor	Período	Comparação
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil			
SC_RTM_média_T2	50.53	1.04	47.70	52.83	50.06	50.66	51.22	0.002	1 vs 2	ns
SC_RTM_média_T6	50.31	0.96	47.50	51.62	49.88	50.48	50.96		1 vs 3	< 0.05
SC_RTM_média_T12	49.95	0.96	47.93	51.62	49.06	50.05	50.69		2 vs 3	< 0.05
SC_Percentil_25_T2	47.80	1.20	44.52	50.13	46.92	48.04	48.54	0.008	1 vs 2	ns
SC_Percentil_25_T6	47.76	1.19	44.41	49.54	47.08	48.03	48.58		1 vs 3	ns
SC_Percentil_25_T12	47.37	1.13	45.26	48.87	46.35	47.65	48.37		2 vs 3	< 0.05
SC_Percentil_50_T2	52.05	0.71	50.77	53.79	51.68	51.95	52.41	0.054	1 vs 2	
SC_Percentil_50_T6	51.85	0.56	50.50	52.60	51.49	51.92	52.32		1 vs 3	
SC_Percentil_50_T12	51.58	0.80	49.89	52.82	51.00	51.67	52.15		2 vs 3	
SC_Percentil_75_T2	55.32	0.99	53.73	57.77	54.72	55.07	56.03	0.005	1 vs 2	ns
SC_Percentil_75_T6	54.94	0.84	53.28	56.44	54.14	55.07	55.39		1 vs 3	< 0.05
SC_Percentil_75_T12	54.74	0.88	52.99	56.37	54.21	54.83	55.38		2 vs 3	ns
SB_RTM_média_T2	56.54	0.97	53.82	58.58	55.97	56.68	57.19	0.000	1 vs 2	< 0.05
SB_RTM_média_T6	55.97	1.06	52.85	57.31	55.51	56.20	56.72		1 vs 3	< 0.05
SB_RTM_média_T12	55.76	0.99	53.61	57.62	55.11	55.97	56.55		2 vs 3	ns
SB_Percentil_25_T2	54.76	1.02	52.02	56.40	54.09	54.76	55.43	0.001	1 vs 2	ns
SB_Percentil_25_T6	54.22	1.09	51.13	55.81	53.73	54.38	54.92		1 vs 3	< 0.05
SB_Percentil_25_T12	53.96	1.07	51.90	56.08	53.03	54.02	54.79		2 vs 3	ns
SB_Percentil_50_T2	57.53	0.76	56.25	59.74	56.85	57.70	58.01	0.000	1 vs 2	< 0.05
SB_Percentil_50_T6	56.84	0.78	55.14	58.09	56.30	56.87	57.48		1 vs 3	< 0.05
SB_Percentil_50_T12	56.64	0.97	54.60	58.48	55.82	56.81	57.32		2 vs 3	ns
SB_Percentil_75_T2	59.33	0.72	57.94	61.64	58.82	59.38	59.67	0.000	1 vs 2	< 0.05
SB_Percentil_75_T6	58.72	0.73	56.80	59.79	58.24	58.72	59.35		1 vs 3	< 0.05
SB_Percentil_75_T12	58.57	0.85	56.45	60.12	57.98	58.67	59.18		2 vs 3	ns
ET_RTM_média_T2	53.56	0.99	50.83	55.76	52.87	53.67	54.31	0.001	1 vs 2	ns
ET_RTM_média_T6	53.14	0.99	50.22	54.43	52.57	53.26	53.82		1 vs 3	< 0.05
ET_RTM_média_T12	52.82	0.98	50.87	54.69	52.07	52.88	53.60		2 vs 3	ns
ET_Percentil_25_T2	50.80	0.81	48.81	52.56	50.34	50.80	51.31	0.004	1 vs 2	ns
ET_Percentil_25_T6	50.59	0.83	48.27	51.85	50.09	50.67	51.31		1 vs 3	< 0.05
ET_Percentil_25_T12	50.26	0.87	48.85	51.89	49.44	50.27	50.96		2 vs 3	< 0.05
ET_Percentil_50_T2	55.15	0.71	54.03	56.98	54.67	55.03	55.70	0.000	1 vs 2	< 0.05
ET_Percentil_50_T6	54.65	0.63	53.16	55.61	54.30	54.67	55.19		1 vs 3	< 0.05
ET_Percentil_50_T12	54.36	0.85	52.55	56.21	53.85	54.28	54.92		2 vs 3	ns
ET_Percentil_75_T2	58.26	0.74	56.87	60.51	57.80	58.27	58.69	0.000	1 vs 2	< 0.05
ET_Percentil_75_T6	57.62	0.71	55.75	58.76	57.25	57.66	58.12		1 vs 3	< 0.05
ET_Percentil_75_T12	57.41	0.86	55.49	59.12	56.89	57.41	58.01		2 vs 3	ns

Variável	Média	DP	Mínimo	Máximo	Percentis			p-valor	Período	Comparação
					1º Quartil	Mediana	3º Quartil			
Volume_SC_T2	788616.22	53153.13	629526.44	913445.92	757478.98	790878.00	819849.67	0.054	1 vs 2	
Volume_SC_T6	795445.72	55870.07	647750.75	905471.15	764048.64	798485.03	824453.58		1 vs 3	
Volume_SC_T12	788581.07	56210.55	614359.00	901339.29	758328.03	788075.57	829605.25		2 vs 3	
Volume_SB_T2	680085.60	54969.58	476189.64	757690.14	650191.50	690337.63	718847.36	0.000	1 vs 2	ns
Volume_SB_T6	674642.57	50877.63	483263.26	740790.96	653242.50	675954.49	712049.20		1 vs 3	< 0.05
Volume_SB_T12	658298.97	51789.56	492352.42	736814.39	624778.65	661443.26	702555.12		2 vs 3	< 0.05
Volume_ET_T2	1468701.82	97125.15	1105716.08	1652150.96	1428607.93	1466780.54	1520935.91	0.009	1 vs 2	ns
Volume_ET_T6	1470088.29	95921.69	1131014.01	1643075.00	1436732.21	1469709.13	1532136.18		1 vs 3	ns
Volume_ET_T12	1446880.05	99921.27	1106711.42	1633847.43	1394355.87	1432481.33	1517226.40		2 vs 3	< 0.05

ANEXO N: COMPARAÇÃO DAS TAXAS DE DECAIMENTO COM VALOR MÉDIO IGUAL A ZERO PELO TESTE T PARA AMOSTRA INDEPENDENTE

Taxa de variação entre os exames	N	Média	DP	EP da média	Diferença média	IC 95% da média		p-valor
						LS	LS	
SC_RTM_média_21	26	-0.440	1.340	0.263	-0.440	-0.982	0.101	0.106
SC_RTM_média_32	26	-0.704	1.378	0.270	-0.704	-1.261	-0.148	0.015
SC_RTM_média_31	26	-1.144	1.935	0.379	-1.144	-1.926	-0.363	0.006
SC_percentil_25_21	26	-0.071	1.391	0.273	-0.071	-0.633	0.491	0.797
SC_percentil_25_32	26	-0.810	1.804	0.354	-0.810	-1.539	-0.082	0.031
SC_percentil_25_31	26	-0.881	2.250	0.441	-0.881	-1.790	0.028	0.057
SC_percentil_50_21	26	-0.382	1.196	0.234	-0.382	-0.865	0.101	0.116
SC_percentil_50_32	26	-0.532	0.930	0.182	-0.532	-0.908	-0.156	0.007
SC_percentil_50_31	26	-0.914	1.531	0.300	-0.914	-1.532	-0.296	0.005
SC_percentil_75_21	26	-0.678	1.374	0.269	-0.678	-1.233	-0.123	0.019
SC_percentil_75_32	26	-0.359	0.870	0.171	-0.359	-0.711	-0.008	0.045
SC_percentil_75_31	26	-1.038	1.544	0.303	-1.038	-1.661	-0.414	0.002
SB_RTM_média_21	26	-1.026	1.280	0.251	-1.026	-1.543	-0.509	0.000
SB_RTM_média_32	26	-0.359	1.232	0.242	-0.359	-0.856	0.139	0.150
SB_RTM_média_31	26	-1.385	1.784	0.350	-1.385	-2.105	-0.664	0.001
SB_percentil_25_21	26	-0.995	1.611	0.316	-0.995	-1.645	-0.344	0.004
SB_percentil_25_32	26	-0.473	1.440	0.282	-0.473	-1.055	0.108	0.106
SB_percentil_25_31	26	-1.468	2.142	0.420	-1.468	-2.333	-0.603	0.002
SB_percentil_50_21	26	-1.203	1.196	0.235	-1.203	-1.686	-0.720	0.000
SB_percentil_50_32	26	-0.359	0.885	0.174	-0.359	-0.716	-0.002	0.049
SB_percentil_50_31	26	-1.562	1.622	0.318	-1.562	-2.217	-0.907	0.000
SB_percentil_75_21	26	-1.050	0.995	0.195	-1.050	-1.452	-0.648	0.000
SB_percentil_75_32	26	-0.258	0.745	0.146	-0.258	-0.559	0.043	0.090
SB_percentil_75_31	26	-1.308	1.299	0.255	-1.308	-1.832	-0.783	0.000
ET_RTM_média_21	26	-0.803	1.203	0.236	-0.803	-1.288	-0.317	0.002
ET_RTM_média_32	26	-0.591	1.281	0.251	-0.591	-1.108	-0.073	0.027
ET_RTM_média_31	26	-1.393	1.840	0.361	-1.393	-2.136	-0.650	0.001
ET_percentil_25_21	26	-0.422	1.129	0.221	-0.422	-0.877	0.034	0.068
ET_percentil_25_32	26	-0.650	1.407	0.276	-0.650	-1.218	-0.082	0.027
ET_percentil_25_31	26	-1.072	1.823	0.358	-1.072	-1.808	-0.335	0.006
ET_percentil_50_21	26	-0.924	1.126	0.221	-0.924	-1.379	-0.469	0.000
ET_percentil_50_32	26	-0.517	0.931	0.183	-0.517	-0.892	-0.141	0.009
ET_percentil_50_31	26	-1.440	1.605	0.315	-1.440	-2.089	-0.792	0.000
ET_percentil_75_21	26	-1.119	1.072	0.210	-1.119	-1.551	-0.686	0.000
ET_percentil_75_32	26	-0.364	0.757	0.149	-0.364	-0.670	-0.058	0.022
ET_percentil_75_31	26	-1.482	1.394	0.273	-1.482	-2.045	-0.919	0.000
Volume_SC_21	26	0.848	2.895	0.568	0.848	-0.321	2.017	0.148
Volume_SC_32	26	-0.886	2.553	0.501	-0.886	-1.917	0.145	0.089
Volume_SC_31	26	-0.039	2.174	0.426	-0.039	-0.917	0.839	0.929
Volume_SB_21	26	-0.766	2.519	0.494	-0.766	-1.783	0.252	0.134
Volume_SB_32	26	-2.442	2.833	0.556	-2.442	-3.586	-1.297	0.000
Volume_SB_31	26	-3.207	3.042	0.597	-3.207	-4.436	-1.978	0.000
Volume_ET_21	26	0.104	2.183	0.428	0.104	-0.777	0.986	0.810
Volume_ET_32	26	-1.613	1.963	0.385	-1.613	-2.405	-0.820	0.000
Volume_ET_31	26	-1.508	2.001	0.392	-1.508	-2.317	-0.700	0.001

ANEXO O: CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE AS VARIÁVEIS E A IDADE

Grupo pacientes		Tempo = 2 meses	Tempo = 6 meses	Tempo = 12 meses
SC RTM média	r	-0.548	-0.613	-0.440
	valor p	0.004	0.001	0.024
	N	26	26	26
SC_percentil_25	r	-0.493	-0.584	-0.397
	valor p	0.010	0.002	0.045
	N	26	26	26
SC_percentil_50	r	0.031	0.322	0.196
	valor p	0.880	0.109	0.338
	N	26	26	26
SC_percentil_75	r	0.190	0.508	0.378
	valor p	0.354	0.008	0.057
	N	26	26	26
SB RTM média	r	-0.544	-0.511	-0.348
	valor p	0.004	0.008	0.082
	N	26	26	26
SB_percentil_25	r	-0.520	-0.472	-0.314
	valor p	0.006	0.015	0.118
	N	26	26	26
SB_percentil_50	r	-0.402	-0.245	-0.183
	valor p	0.042	0.229	0.371
	N	26	26	26
SB_percentil_75	r	-0.249	-0.116	-0.123
	valor p	0.219	0.571	0.551
	N	26	26	26
ET RTM média	r	-0.519	-0.535	-0.369
	valor p	0.007	0.005	0.064
	N	26	26	26
ET_percentil_25	r	-0.379	-0.393	-0.165
	valor p	0.056	0.047	0.419
	N	26	26	26
ET_percentil_50	r	-0.148	0.078	0.060
	valor p	0.470	0.703	0.773
	N	26	26	26
ET_percentil_75	r	-0.172	0.060	-0.005
	valor p	0.400	0.772	0.979
	N	26	26	26
SC volume	r	-0.316	-0.417	-0.337
	valor p	0.116	0.034	0.092
	N	26	26	26
SB volume	r	0.139	0.114	0.166
	valor p	0.499	0.581	0.418
	N	26	26	26
ET volume	r	-0.094	-0.183	-0.104
	valor p	0.647	0.371	0.614
	N	26	26	26

Grupo controle		Tempo = 2 meses
SC RTM média	r	-0.142
	valor p	0.490
	N	26
SC_percentil_25	r	-0.195
	valor p	0.341
	N	26
SC_percentil_50	r	0.052
	valor p	0.800
	N	26
SC_percentil_75	r	0.185
	valor p	0.364
	N	26
SB RTM média	r	-0.117
	valor p	0.569
	N	26
SB_percentil_25	r	-0.112
	valor p	0.585
	N	26
SB_percentil_50	r	-0.047
	valor p	0.821
	N	26
SB_percentil_75	r	-0.033
	valor p	0.874
	N	26
ET RTM média	r	-0.090
	valor p	0.663
	N	26
ET_percentil_25	r	-0.033
	valor p	0.872
	N	26
ET_percentil_50	r	0.150
	valor p	0.465
	N	26
ET_percentil_75	r	0.071
	valor p	0.730
	N	26
SC volume	r	-0.507
	valor p	0.008
	N	26
SB volume	r	0.093
	valor p	0.653
	N	26
ET volume	r	-0.325
	valor p	0.106
	N	26

ANEXO P: CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE AS VARIÁVEIS DA RTM E O VOLUME

Variáveis pacientes			Exame de RM		
			1	2	3
SC volume	SC RTM média	r	0,242	0,293	0,266
		valor p	0,233	0,146	0,189
		N	26	26	26
	SC percentil 25	r	0,342	0,368	0,334
		valor p	0,087	0,064	0,095
		N	26	26	26
	SC percentil 50	r	-0,026	-0,110	0,051
		valor p	0,898	0,592	0,803
		N	26	26	26
	SC percentil 75	r	-0,233	-0,303	-0,115
		valor p	0,251	0,132	0,575
		N	26	26	26
SB volume	SB RTM média	r	0,180	0,043	0,124
		valor p	0,379	0,833	0,545
		N	26	26	26
	SB percentil 25	r	0,213	0,001	0,109
		valor p	0,297	0,997	0,596
		N	26	26	26
	SB percentil 50	r	0,105	-0,057	0,067
		valor p	0,610	0,781	0,746
		N	26	26	26
	SB percentil 75	r	0,091	0,004	0,088
		valor p	0,659	0,985	0,670
		N	26	26	26
ET volume	ET RTM média	r	0,242	0,293	0,266
		valor p	0,233	0,146	0,189
		N	26	26	26
	ET percentil 25	r	0,330	0,191	0,249
		valor p	0,100	0,350	0,219
		N	26	26	26
	ET percentil 50	r	0,169	0,027	0,134
		valor p	0,408	0,896	0,515
		N	26	26	26
	ET percentil 75	r	0,047	-0,061	0,052
		valor p	0,819	0,769	0,800
		N	26	26	26

Variáveis			RM
SC volume	SC RTM média	r	0.394
		valor p	0.047
		N	26
	SC percentil 25	r	0.562
		valor p	0.003
		N	26
	SC percentil 50	r	-0.058
		valor p	0.780
		N	26
	SC percentil 75	r	-0.393
		valor p	0.047
		N	26
SB volume	SB RTM média	r	0.093
		valor p	0.652
		N	26
	SB percentil 25	r	0.002
		valor p	0.994
		N	26
	SB percentil 50	r	0.101
		valor p	0.623
		N	26
	SB percentil 75	r	0.195
		valor p	0.339
		N	26
ET volume	ET RTM média	r	0.321
		valor p	0.109
		N	26
	ET percentil 25	r	-0.143
		valor p	0.486
		N	26
	ET percentil 50	r	0.342
		valor p	0.087
		N	26
	ET percentil 75	r	0.082
		valor p	0.691
		N	26

ANEXO Q: CORRELAÇÃO DE PEARSON DAS VARIAÇÕES DA MÉDIA DA RTM E DO VOLUME ENTRE OS EXAMES DOS PACIENTES

		SC_média_21	SC_média_32	SC_média_31
Volume_SC21	r valor p N	-.049 0.811 26		
Volume_SC32	r valor p N		-.179 0.382 26	
Volume_SC31	r valor p N			.060 0.772 26

		SB_média_21	SB_média_32	SB_média_31
Volume_SB21	r valor p N	-.246 0.225 26		
Volume_SB32	r valor p N		.085 0.679 26	
Volume_SB31	r valor p N			.304 0.131 26

		ET_média_21	ET_média_32	ET_média_31
Volume_ET21	r valor p N	-.204 0.319 26		
Volume_ET32	r valor p N		.026 0.898 26	
Volume_ET31	r valor p N			.276 0.172 26

ANEXO R: CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE CADA VARIÁVEL E OS RESULTADOS DA EPG

Correlação entre variáveis e EPG		1ª RM	2ª RM	3ª RM
SC média	r	0.201	0.318	,427*
	valor p	0.325	0.114	0.030
	N	26	26	26
SB média	r	0.008	0.296	,419*
	valor p	0.970	0.142	0.033
	N	26	26	26
ET média	r	0.064	0.267	,425*
	valor p	0.755	0.187	0.030
	N	26	26	26
Volume SC	r	-0.181	-0.142	-.117
	valor p	0.376	0.488	0.569
	N	26	26	26
Volume SB	r	-0.388	-0.366	-.220
	valor p	0.050	0.066	0.280
	N	26	26	26
Volume ET	r	-0.380	-0.302	-.249
	valor p	0.055	0.134	0.219
	N	26	26	26

ANEXO S: CORRELAÇÃO DE SPEARMAN ENTRE A VARIAÇÃO DE CADA VARIÁVEL DURANTE O ESTUDO E A EPG

Variável	correlação	p-valor
SC RTM média	0.1910	0.3500
SB RTM média	0.3099	0.1233
ET RTM média	0.2331	0.2518
SC volume	0.0975	0.6358
SB volume	0.4171	0.0340
ET volume	0.3411	0.0882

ANEXO T: TESTES DE EFICÁCIA DAS VARIÁVEIS EM PREDIZER PROGNÓSTICO (CURVA ROC)

Período = 1	Área	EP	valor p	IC 95%	
				LI	LS
SC média	0.594	0.115	0.421	0.368	0.820
SC DP	0.576	0.115	0.517	0.350	0.801
SC percentil_25	0.539	0.118	0.736	0.308	0.770
SC percentil_50	0.655	0.112	0.186	0.435	0.874
SC percentil_75	0.667	0.108	0.154	0.454	0.879
SB média	0.485	0.118	0.897	0.254	0.715
SB DP	0.576	0.119	0.517	0.343	0.808
SB percentil_25	0.467	0.120	0.775	0.232	0.701
SB percentil_50	0.564	0.116	0.586	0.336	0.791
SB percentil_75	0.618	0.111	0.312	0.401	0.835
ET média	0.509	0.117	0.938	0.280	0.738
ET DP	0.582	0.114	0.484	0.358	0.805
ET percentil_25	0.533	0.118	0.775	0.302	0.765
ET percentil_50	0.594	0.114	0.421	0.370	0.817
ET percentil_75	0.642	0.110	0.223	0.427	0.858

Período = 2	Área	EP	valor p	IC 95%	
				LI	LS
SC média	0.667	0.110	0.154	0.451	0.882
SC DP	0.442	0.119	0.622	0.209	0.676
SC percentil_25	0.655	0.111	0.186	0.437	0.872
SC percentil_50	0.764	0.095	0.024	0.578	0.949
SC percentil_75	0.661	0.108	0.169	0.449	0.873
SB média	0.679	0.110	0.126	0.464	0.893
SB DP	0.564	0.124	0.586	0.320	0.807
SB percentil_25	0.691	0.110	0.102	0.476	0.906
SB percentil_50	0.797	0.093	0.011	0.615	0.979
SB percentil_75	0.745	0.097	0.036	0.555	0.936
ET média	0.642	0.113	0.223	0.421	0.864
ET DP	0.491	0.125	0.938	0.245	0.737
ET percentil_25	0.655	0.113	0.186	0.434	0.875
ET percentil_50	0.727	0.100	0.052	0.532	0.922
ET percentil_75	0.764	0.096	0.024	0.575	0.952

Período = 3	Área	EP	valor p	IC 95%	
				LI	LS
SC média	0.727	0.107	0.052	0.517	0.937
SC DP	0.624	0.114	0.287	0.400	0.848
SC percentil_25	0.727	0.109	0.052	0.514	0.941
SC percentil_50	0.770	0.094	0.021	0.585	0.955
SC percentil_75	0.758	0.097	0.027	0.567	0.948
SB média	0.752	0.103	0.031	0.549	0.954
SB DP	0.539	0.116	0.736	0.312	0.767
SB percentil_25	0.739	0.103	0.040	0.538	0.940
SB percentil_50	0.788	0.095	0.014	0.602	0.974
SB percentil_75	0.830	0.089	0.005	0.653	1.000
ET média	0.733	0.107	0.046	0.524	0.943
ET DP	0.606	0.118	0.364	0.374	0.838
ET percentil_25	0.733	0.103	0.046	0.530	0.936
ET percentil_50	0.776	0.092	0.018	0.595	0.957
ET percentil_75	0.824	0.084	0.005	0.660	0.989

ANEXO U: APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS PRELIMINARES NO CONGRESSO DA SOCIEDADE AMERICANA DE NEURORRADIOLOGIA (*American Society of Neuroradiology - ASNR*)

Magnetization Transfer Imaging in The Progressive Evaluation of White Matter Integrity in Patients with Moderate to Severe Traumatic Brain Injury

Authors:

F Macruz, F Feltrin, V Guirado, A Zaninotto, K Chaim, M Otaduy, C Andrade, M Martin, C Leite

Institutions:

Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, São Paulo, SP, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

Purpose:

It is well known that the available imaging methods, whether by CT or conventional MRI, underestimate the real brain tissue damage in diffuse axonal injury (DAI). This leads to a clinical-radiological dissociation that delays early intervention and impairs an adequate treatment. New quantitative methods are required to allow a more reliable estimation of cerebral lesion's extension and, perhaps, to provide a more trustworthy prognosis and therapeutic orientation. Magnetization transfer sequence, a method that provides a potential measurement of white matter integrity, could be used with this purpose. It has been shown that the main cerebral damage occurs in the white matter and is not limited to the acute phase of the trauma. However, the progressive character of the extension of the injury is not well known. The purpose of our study was to quantify the damage in the white-matter in both acute and subacute phases of the trauma and to evaluate its progression in a more chronic phase, through magnetization transfer ratio (MTR).

Materials and Methods:

A prospective study was conducted in twenty-eight patients with traumatic brain injury (group 1) and 28 healthy control subjects, with similar age (group 2). In group 1, three MRIs were performed in the acute (2 months), subacute (6 months) and chronic (12 months) stages, in a 3T machine (Phillips Achieva, Best, The Netherlands) and the T2-weighted, FLAIR, T1 FSPGR and magnetization transfer sequences were evaluated by two neuroradiologists. In group 2, the same sequences were obtained in the same equipment, but only once, since no changes in the exam were expected in cognitively normal subjects. MT images were co-registered to MR images and the white matter, both damaged and apparently spared one in structural images, was segmented. Comparison of MTR was done between group 1 and 2, and among the sequential studies of each patient of group 1.

Results:

<https://ww4.aievolution.com/asn1501/index.cfm?do=abs.viewAbs&subView=1&abs=15962/3>

The mean MTR in the white-matter was lower in the group 1 whether with 2, 6 or 12 months after the trauma, than in the group 2. Comparative analysis between tests performed in the same patient 2, 6 and 12 months after the trauma, also showed a progressive decrease of the average MTR over time.

Conclusions:

These findings are consistent with previous observations that the real extension in the cerebral white matter is greater than the one shown in the structural MRI sequences, and involves the apparently preserved parenchyma. Furthermore, a progressive character was observed over time, in spite of the patient's rehabilitation treatment.

Awards:

Dyke Award

Categories:

ADULT BRAIN, Trauma

(https://ww4.aievolution.com/asn1501/files/content/abstracts/abs_1596/Slide1.jpg)

Reference One:

Zhou LQ, Zhu YM, et al. A New Method for Analyzing Histograms of Brain Magnetization Transfer Ratios: Comparison with Existing Techniques. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25:1234-1241.

Reference Two:

Deloire-Grassina MSA, Brocheta B, et al. In vivo evaluation of remyelination in rat brain by magnetization transfer imaging. *Journal of the Neurological Sciences* 2000; 178: 10-16.

Reference Three:

Laule C, Vavasour IM, et al. Magnetic Resonance Imaging of Myelin. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics* 2007; 4: 460-484.

Reference Four:

Fazekas F, Ropele S, et al. Quantitative magnetization transfer imaging of pre-lesional white-matter changes in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis* 2002; 8: 479-484.

Reference Five:

Volz S, Nöth U, Rotarska-Jagiela A, Deichmann R. A fast B1-mapping method for the correction and normalization of magnetization transfer ratio maps at 3 T. *NeuroImage* 2010; 49: 3015-3026.

9. Referências Bibliográficas

- Adams JH, Graham DI, Murray LS, Scott G. Diffuse axonal injury due to nonmissile head injury in humans: an analysis of 45 cases. *Ann Neurol*, 1982 ;12(6):557-63.
- Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI, McLellan DR. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology*, 1989;15(1):49-59.
- Adams JH, Doyle D, Graham DI, Lawrence AE, McLellan DR. Diffuse axonal injury in head injuries caused by a fall. *Lancet*, 1984;2(8417-8418):1420-2.
- Adle-Biassette H, Duyckaerts C, Wasowicz M, He Y, Fornes P, Foncin JF, et al. Beta AP deposition and head trauma. *Neurobiol Aging*, 1996;17(3):415-419.
- Agosta F, Rovaris M, Pagani E, Sormani MP, Comi G, et al. Magnetization transfer MRI metrics predict the accumulation of disability 8 years later in patients with multiple sclerosis. *Brain*, 2006;129:2620-2627.
- Albensi BC, Knoblach SM, Chew BG, O'Reilly MP, Faden AI, Pekar JJ. Diffusion and high-resolution MRI of traumatic brain injury in rats: time course and correlation with histology. *Exp Neurol*. 2000;162(1):61-72.
- Alonso-Ortiz E, Levesque IR, Pike GB. MRI-based myelin water imaging: A technical review. *Magn Reson Med*, 2015;73(1):70-81.
- Amann M, Sprenger T, Naegelin Y, Reinhardt J, Kuster P, Hirsch JG, et al. Comparison between balanced steady-state free precession and standard spoiled gradient echo magnetization transfer ratio imaging in multiple sclerosis: methodical and clinical considerations. *NeuroImage*, 2015;108:87–94.
- Anderson CV, Bigler ED. Ventricular dilation, cortical atrophy, and neuropsychological outcome following traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 1995;7:42-48.
- Anderson VM, Schott JM, Bartlett JW, Leung KK, Miller DH, Fox NC. Gray matter atrophy rate as a marker of disease progression in AD. *Neurobiol Aging*, 2012; 33(7):1194-1202.
- Anderson V.M., Fernando K.T., Davies G.R., Rashid W., Frost C., Fox N.C., Miller D.H. Cerebral atrophy measurement in clinically isolated syndromes and relapsing remitting multiple sclerosis: a comparison of registration-based methods. *J. Neuroimaging*. 2007;17:61-68.
- Arciniegas DB, Held K, Wagner P: Cognitive impairment following traumatic brain injury. *Curr Treat Options Neurol* 2002; 4:43– 57.
- Ariza M, Serra-Grabulosa JM, Junque C, et al. Hippocampal head atrophy after traumatic brain injury. *Neuropsychologia*, 2006;44(10):1956-1961.
- Armstrong CL, Traipe E, Hunter JV, et al. Age-related, regional, hemispheric, and medial-lateral differences in myelin integrity in vivo in the normal adult brain. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2004;25:977-984.
- Ashburner J, Friston KJ. Voxel-based morphometry — the methods. *NeuroImage*, 2000;11(6):805-821.
- Bagley LJ, McGowan JC, Grossman RI, et al. Magnetization transfer imaging of traumatic brain injury. *J Magn Reson Imaging*, 2000;11:1-8.

- Barker JW, Han PK, Choi SH, Bae KT, Park SH. Investigation of inter-slice magnetization transfer effects as a new method for MTR imaging of the human brain. *PloS One*, 2015;10(2):e0117101.
- Bazarian JJ, Zhong J, Blyth B, Zhu T, Kavcic V, Peterson D. Diffusion tensor imaging detects clinically important axonal damage after mild traumatic brain injury: a pilot study. *J Neurotrauma*, 2007;24(9):1447-59.
- Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system—a technical review. *NMR Biomed*, 2002;15:435-455.
- Bendlin BB, Ries ML, Lazar M, Alexander AL, Dempsey RJ, Rowley HA, Sherman JE, Johnson SC. Longitudinal changes in patients with traumatic brain injury assessed with diffusion-tensor and volumetric imaging. *Neuroimage*, 2008;42(2):503-14.
- Bigler ED. Quantitative magnetic resonance imaging in traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*, 2001;16(2):117-134.
- Bigler ED, Ryser DK, Gandhi P, Kimball J, Wilde EA. Day-of-injury computerized tomography, rehabilitation status, and development of cerebral atrophy in persons with traumatic brain injury. *Am J Phys Med Rehabil*, 2006;85(10):793-806.
- Bigler ED, Blatter DD, Anderson CV, et al. Hippocampal volume in normal aging and traumatic brain injury. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1997;18(1):11-23.
- Bjartmar C, Trapp BD. Axonal and neuronal degeneration in multiple sclerosis: mechanisms and functional consequences. *Curr Opin Neurol*, 2001;14:271–278.
- Björk M, Zachariah D, Kullberg J, Stoica P. A Multicomponent T2 Relaxometry Algorithm for Myelin Water Imaging of the Brain. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2016;75:390-402.
- Blatter DD, Bigler ED, Gale SD, et al. MR-based brain and cerebrospinal fluid measurement after traumatic brain injury: correlation with neuropsychological outcome. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1997;18:1-10.
- Blezer ELA, Bauer J, Brok HPM, Nicolay K, 't Hart BA. Quantitative MRI-pathology correlations of brain white matter lesions developing in a non-human primate model of multiple sclerosis *NMR Biomed*, 2007;20(2):90-103.
- Blinkenberg M, Mathiesen HK, Tscherning T, Jønsson A, Svarer, Holm CS, Sellebjerg F, Paulson OB, Hanson LG, Sorensen PS. Cerebral metabolism, magnetic resonance spectroscopy and cognitive dysfunction in early multiple sclerosis: an exploratory study, *Neurological Research*, 2012; 34(1): 52-58.
- Blinkenberg M, Rune K, Jensen CV, Ravnborg M, Kyllingsbaek S, Holm S, et al. Cortical cerebral metabolism correlates with MRI lesion load and cognitive dysfunction in MS. *Neurology* 2000;54: 558-564.
- Bombardier CH, Fann JR, Temkin NR, Esselman PC, Barber J, Dikmen SS. Rates of major depressive disorder and clinical outcomes following traumatic brain injury. *Journal of the American Medical Association*, 2010; 303(19):1938–1945.

- Borsodi F, Culea V, Langkammer C, et al. Multimodal assessment of white matter tracts in amyotrophic lateral sclerosis. Wang Y, ed. *PLoS ONE*. 2017;12(6): e0178371.
- Bozzali M, Franceschi M, Falini A, et al. Quantification of tissue damage in AD using diffusion tensor and magnetization transfer MRI. *Neurology* 2001;57:1135-37.
- Bramlett HM, Dietrich WD. Quantitative structural changes in white and gray matter 1 year following traumatic brain injury in rats. *Acta Neuropathol*, 2002; 103(6):607-614.
- Brezova V, GØran Moen K, Skandsen T, et al. Prospective longitudinal MRI study of brain volumes and diffusion changes during the first year after moderate to severe traumatic brain injury. *NeuroImage: Clinical*, 2014;5:128-140.
- Brown RD 3rd, Koenig SH. 1/T1 rho and low-field 1/T1 of tissue water protons arise from magnetization transfer to macromolecular solid-state broadened lines. *Magn Reson Med*, 1992;28(1):145-152.
- Campi A, Filippi M, Gerevini S, et al. Multiple white matter lesions of the brain: magnetization transfer ratios in systemic lupus erythematosus and multiple sclerosis. *Int J Neuroradiol*, 1996;2:134-140.
- Cernich AN, Kurtz SM, Mordecai KL, Ryan PB. Cognitive rehabilitation in traumatic brain injury. *Current Treatment Options in Neurology*, 2012;12(5):412-423.
- Chastain CA, Oyoyo UE, Zipperman M, Joo E, Ashwal S, Shutter LA, et al. Predicting outcomes of traumatic brain injury by imaging modality and injury distribution. *J Neurotrauma*, 2009; 26(8):1183-96.
- Chelly H, Chaaris A, Daoud A, Dammak H, Medhioub F, Mnif J, Hamida CB, Bahloul M, Bouaziz M. Diffuse Axonal Injury in Patients With Head Injuries: An Epidemiologic and Prognosis Study of 124 Cases. *J Trauma*, 2011; 71: 838–846.
- Chen HC, Fong TH, Lee AW, Chiu WT. Autophagy is activated in injured neurons and inhibited by methylprednisolone after experimental spinal cord injury. *Spine*, 2012; (Phila PA 1976) 37(6):470-475.
- Chen JT, Collins DL, Freedman MS, Atkins HL, Arnold DL, The Canadian MSBMTSG. Local magnetization transfer ratio signal inhomogeneity is related to subsequent change in MTR in lesions and normal-appearing white-matter of multiple sclerosis patients. *Neuroimage*, 2005; 25:1272-1278.
- Chen JTH, Easley K, Schneider C, Nakamura K, Kidd GJ, et al. Clinically feasible MTR is sensitive to cortical demyelination in MS. *Neurology*, 2013; 80: 246–252.
- Chen XH, Johnson VE, Uryu K, Trojanowski JQ, Smith DH. A lack of amyloid beta plaques despite persistent accumulation of amyloid beta in axons of long-term survivors of traumatic brain injury. *Brain Pathol*, 2009; 19(2):214–223.
- Choe AS, Belegu V, Yoshida S, Joel S, Sadowsky CL, Smith SA, et al. Extensive neurological recovery from a complete spinal cord injury: a case report and hypothesis on the role of cortical plasticity. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2013;7:290.

- Choe BY, Suh TS, Choi KH, Shinn KS, Park CK, Kang JK. Neuronal dysfunction in patients with closed head injury evaluated by in vivo 1H magnetic resonance spectroscopy. *Invest Radiol*; 1995;30:502–506.
- Cifelli A, Arridge M, Jezard P, Esiri MM, Palace J, Matthews PM. Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 2002; 52(5):650-3.
- Clark JM. Distribution of microglial clusters in the brain after head injury. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 1974;37:463-474.
- Cohen B.A., Inglese M., Rusinek H., Babb J.S., Grossman R.I., Gonen O. Proton MR spectroscopy and MRI-volumetry in mild traumatic brain injury. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, 2007;28:907–913.
- Cole JH, Leech R, Sharp DJ. Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Prediction of brain age suggests accelerated atrophy after traumatic brain injury. *Ann Neurol*, 2015;77:571-81.
- Cole JH, Jolly A, Simoni S, Bourke N, Patel MC, Scott G, Sharp DJ. Spatial patterns of progressive brain volume loss after moderate-severe traumatic brain injury. *Brain*, 2018;141: 822-836.
- Cook LL, Foster PJ, Mitchell JR, Karlik SJ. In vivo 4.0-T magnetic resonance investigation of spinal cord inflammation, demyelination, and axonal damage in chronic-progressive experimental allergic encephalomyelitis. *J Magn Reson Imaging*, 2004;20:563-571.
- Corrigan JD, Selassie AW, Orman JA. The epidemiology of traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*, 2010;25(2):72-80.
- Cullum CM, Bigler ED. Ventricle size, cortical atrophy and the relationship with neuropsychological status in closed head injury: a quantitative analysis. *J Clin Exp Neuropsychol*, 1986;8:437–52.
- Dambinova SA, Bettermann K, Glynn T, et al. Diagnostic potential of the NMDA receptor peptide assay for acute ischemic stroke. *PLoS ONE*, 2012;7(7):e42362.
- Dams-O'Connor K, Gibbons LE, Landau A, Larson EB, Crane PK. Health Problems Precede Traumatic Brain Injury in Older Adults. *J Am Geriatr Soc*, 2016;64(4):844-848.
- de Boer RW. Magnetization transfer contrast. Part 1: MR Physics. *Philips Medical Systems MedicaMundi*, 1995a;40:64-73.
- de Boer RW. Magnetization transfer contrast. Part 2: Clinical applications. *Philips Medical Systems MedicaMundi*, 1995b;40:74-83.
- De Stefano N, Matthews PM, Filippi M, Agosta F, De Luca M, Bartolozzi ML, Guidi L, et al. Evidence of early cortical atrophy in MS: relevance to white matter changes and disability. *Neurology*, 2003;60(7):1157-62.
- Dean DC, Hurley SA, Kecskemeti SR, et al. Association of Amyloid Pathology With Myelin Alteration in Preclinical Alzheimer Disease. *JAMA neurology*, 2017;74(1):41-49.

- Dean DC, Sojkova J, Hurley S, et al. Alterations of Myelin Content in Parkinson's Disease: A Cross-Sectional Neuroimaging Study. Fuh J-L, ed. *PLoS ONE*. 2016;11(10):e0163774.
- Dehmeshki J, Chard DT, Leary SM, Watt HC, Silver NC, et al. The normal appearing grey matter in primary progressive multiple sclerosis: a magnetization transfer imaging study. *J Neurol*, 2003;250:67-74.
- Deloire-Grassin MS, Brochet B, Quesson B, Delalande C, Dousset V, Canioni P, Petry KG. In vivo evaluation of remyelination in rat brain by magnetization transfer imaging. *J Neurol Sci*, 2000; 178(1):10-16.
- Dheen ST, Kaur C, Ling EA. Microglial activation and its implications in the brain diseases. *Curr Med Chem*, 2007;14(11):1189-97.
- Dikmen SS, Corrigan JD, Levin HS, Machamer J, Stiers W, Weisskopf MG. Cognitive outcome following traumatic brain injury. *Journal of Head Trauma and Rehabilitation*, 2009; 24(6):430-438.
- Ding K, Marquez de la Plata C, Wang JY, et al. Cerebral atrophy after traumatic white matter injury: correlation with acute neuroimaging and outcome. *J Neurotrauma*, 2008;25(12):1433-1440.
- Dixon TW, Engels H, Castillo M, Shardashti M. Incidental Magnetization Transfer Contrast in Standard Multislice Imaging. *Magn Reson Imaging*, 1990;8:417-422.
- Does MD, Beaulieu C, Allen PS, Snyder RE. Multi-component T1 relaxation and magnetization transfer in peripheral nerve. *Magn Reson Imaging*, 1998;16:1033–1041.
- Dortch RD, Moore J, Li K, Jankiewicz M, Gochberg DF, Hirtle JA, et al. Quantitative magnetization transfer imaging of human brain at 7 T. *NeuroImage*, 2013; 64,:640-649.
- Dousset V, Armand JP, Lacoste D, et al. Magnetization transfer study of HIV encephalitis and progressive multifocal leukoencephalopathy. *Am J Neuroradiol*, 1997;18:859-901.
- Dousset V, Grossman RI, Ramer KN, et al. Experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis: lesion characterization with magnetization transfer imaging. *Radiology*, 1992;182:483-491.
- Dubois B. et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurology* 6, 734–746 (2007).
- Duning T, Kloska S, Steinsträter O, Kugel H, Heindel W, Knecht S. Dehydration confounds the assessment of brain atrophy. *Neurology*, 2005; 64(3):548-50.
- Dyer CA. The structure and function of myelin: from inert membrane to perfusion pump. *Neurochem Res*, 2002;27:1279 –1292.
- Edgar JM, Garbern J. The myelinated axon is dependent on the myelinating cell for support and maintenance: molecules involved. *J Neurosci Res*, 2004a;76:593–598.
- Edgar JM, McLaughlin M, Yool D, et al. Oligodendroglial modulation of fast axonal transport in a mouse model of hereditary spastic paraplegia. *J Cell Biol*, 2004b;166:121–131.

Elster AD, King JC, Mathews VP, Hamilton CA. Cranial tissues: appearance at gadolinium-enhanced and nonenhanced MR imaging with magnetization transfer contrast. *Radiology*, 1994;190:541-546.

Eng J, Ceckler TL, Balaban RS. Quantitative ¹H magnetization transfer imaging in vivo. *Magn Reson Med*, 1991;17:301–314.

Engel S, Schluesener H, Mittelbronn M, Seid K, Adjodah D, Wehner HD, Meyermann R. Dynamics of microglial activation after human traumatic brain injury are revealed by delayed expression of macrophage-related proteins MRP8 and MRP14. *Acta Neuropathologica*, 2000;100(3):313-322.

Engelbrecht V, Rassek M, Preiss S, et al. Age-dependent changes in magnetization transfer contrast of white matter in the pediatric brain. *Am J Neuroradiol*, 1998;19:1923-1929.

Erb DE, Povlishock JT. Axonal damage in severe traumatic brain injury: an experimental study in cat. *Acta Neuropathol*, 1988;76(4):347-58.

Ezaki T, Tsutsumi K, Morikawa M, Nagata I. Role of diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diffuse axonal injury. *Acta Radiol*, 2006; 47(7):733-40.

Farbota KDM, Sodhi A, Bendlin BB, McLaren DG, Xu G, Rowley HA, Johnson SC. Longitudinal Volumetric Changes Following Traumatic Brain Injury: A Tensor Based Morphometry Study. *J Int Neuropsychol Soc*, 2012;18(6):1006-1018.

Farkas O, Povlishock JT. Cellular and subcellular change evoked by diffuse traumatic brain injury: a complex web of change extending far beyond focal damage. *Progress in Brain Research*, 2007;161:43-59.

Feigin VL, Theadom A, Barker-Collo S, et al. Incidence of traumatic brain injury in New Zealand: a population-based study. *Lancet Neurol*, 2013;12:53.

Feltrin S, Zaninotto AL, Guirado VM, Macruz F, Sakuno D, Dalaqua M, Magalhães LGA, Paiva WS, Andrade AF, Otaduy MCG, Leite CC. Longitudinal changes in brain volumetry and cognitive functions after moderate and severe diffuse axonal injury. *Brain Inj*. 2018;32(10):1208-1217.

Filippi M, Campi A, Dousset V, et al. A magnetization transfer imaging study of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurology*, 1995;45:478-482.

Filippi M, Preziosa P, Copetti M, Riccitelli G, Horsfield MA, et al. Gray matter damage predicts the accumulation of disability 13 years later in MS. *Neurology*, 2013; 81(20):1759-67.

Filippi M, Rocca MA. Magnetization transfer magnetic resonance imaging in the assessment of neurological diseases. *J Neuroimaging*, 2004;14(4):303-13.

Finkelstein E, Corso PS, Miller TR. The Incidence and Economic Burden of Injuries in the United States. *Community Health*, 2007, 61(0):926.

- Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron*, 2002;33(3):341-55.
- Fisniku LK, Altmann DR, Cercignani M, Tozer DJ, Chard DT, Jackson JS, Miszkiel KA, Schmierer K, Thompson AJ, Miller DH. Magnetization transfer ratio abnormalities reflect clinically relevant grey matter damage in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 2009; 15(6): 668-677.
- Fjær S, Bø L, Lundervold A, Myhr KM, Pavlin T, Torkildsen O, Wergeland S. Deep Gray Matter Demyelination Detected by Magnetization Transfer Ratio in the Cuprizone Model. *PLoS ONE*, 2013; 8 (12): e84162.
- Fjær S, Bø L, Myhr KM, Torkildsen O, Wergeland S. Magnetization transfer ratio does not correlate to myelin content in the brain in the MOG-EAE mouse model. *Neurochem Int*, 2015; 83-84:28-40.
- Gale SD, Burr RB, Bigler ED, Blatter D. Fornix degeneration and memory in traumatic brain injury. *Brain Res Bull*, 1993;32(4):345–349.
- Gale S, Baxter L, Roundy N, Johnson S. Traumatic brain injury and grey matter concentration: a preliminary voxel-based morphometry study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2005;76(7):984-988.
- Gareau PJ, Rutt BK, Karlik SJ, Mitchell JR. Magnetization transfer and multicomponent T2 relaxation measurements with histopathologic correlation in an experimental model of MS. *J Magn Reson Imaging*, 2000;11:586–595.
- Garnett MR, Blamire AM, Corkill RG, Cadoux-Hudson TA, Rajagopalan B, Styles P. Early protonmagnetic resonance spectroscopy in normal-appearing brain correlates with outcome in patients following traumatic brain injury. *Brain*, 2000;123:2046–54.
- Gasparovic C, Yeo R, Mannell M, Ling J, Robert Elgie R, Phillips J, Doezeema D, Mayer AR. Neurometabolite Concentrations in Gray and White Matter in Mild Traumatic Brain Injury: An 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy Study. *J Neurotrauma*, 2009; 26(10):1635-1643.
- Gass A, Barker GJ, Kidd D, et al. Correlation of magnetization transfer ratio with clinical disability in multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 1994;36:62–67.
- Gaudêncio TG, Leão GM. A Epidemiologia do Traumatismo CrânioEncefálico: um Levantamento Bibliográfico no Brasil. *Rev Neurocienc*, 2013;21(3):427-434.
- Ge Y, Grossman RI, Babb JS, Rabin ML, Mannon LJ, Kolson DL. Age-related total gray matter and white matter changes in normal adult brain. Part I: volumetric MR imaging analysis. *Am J Neuroradiol*, 2002a; 23(8):1327-33.
- Ge Y, Grossman RI, Babb JS, Rabin ML, Mannon LJ, Kolson DL. Age-Related Total Gray Matter and White Matter Changes in Normal Adult Brain. Part II: Quantitative Magnetization Transfer Ratio Histogram Analysis. *Am J Neuroradiol*, 2002b;23:1334-1341.

- Ge Y, Grossman RI, Udupa JK, Babb JS, Kolson DL, McGowan JC. Magnetization Transfer Ratio Histogram Analysis of Gray Matter in Relapsing-remitting Multiple Sclerosis. *Am J Neuroradiol*, 2001;22(3):470-475.
- Ge Y, Kolson DL, Babb JS, Mannon LJ, Grossman RI. Whole brain imaging of HIV-infected patients: quantitative analysis of magnetization transfer ratio histogram and fractional brain volume. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2003;24(1):82-7.
- Gennarelli TA, Thibault LE, Graham DI. Diffuse Axonal Injury: An Important Form of Traumatic Brain Damage. *The neuroscientist*, 1998; 4(3):202-215.
- Gennarelli TA, Spielman GM, Langfitt TW, Gildenberg PL, Harrington T, Jane JÁ, et al. Influence of the type of intracranial lesion on outcome from severe head injury. *J Neurosurg*, 1982;56(1):26-32.
- Gentleman SM, Roberts GW, Gennarelli TA, et al. Axonal injury: a universal consequence of fatal closed head injury?. *Acta Neuropathol*, 1995;89:537–543.
- Gentry LR, Godersky JC, Thompson BH. Traumatic Brain Stem Injury MR imaging. *Radiology*, 1989;171:177-187.
- Giacomini PS, Levesque IR, Ribeiro L, et al. Measuring demyelination and remyelination in acute multiple sclerosis lesion voxels. *Arch Neurol*, 2009;66:375-381.
- Govind V, Gold S, Kaliannan K, et al. Whole-brain proton MR spectroscopic imaging of mild-to-moderate traumatic brain injury and correlation with neuropsychological deficits. *J Neurotrauma*, 2010;27:483-96.
- Graham DI, Raghupathi R, Saatman KE, Meaney D, McIntosh TK. Tissue tears in the white matter after lateral fluid percussion brain injury in the rat: relevance to human brain injury. *Acta Neuropathol*, 2000;99:117-124.
- Green RE, Colella B, Maller JJ, Bayley M, Glazer J, Mikulis DJ. Scale and pattern of atrophy in the chronic stages of moderate-severe TBI. *Front Hum Neurosci*, 2014;8:67.
- Grossman RI. Magnetization transfer in multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 1994;36:S97-99.
- Gupta R. Magnetization transfer MR imaging in central nervous system infections. *Indian J Radiol Imaging*, 2002;12:51-8.
- Gupta RK, Kathuria KM, Pradhan S. Magnetization transfer MR imaging in CNS tuberculosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1999;20:867-875.
- Hagemann G, Ugur T, Schleussner E, Mentzel HJ, Fitzek C, Witte OW, Gaser C. Changes in brain size during the menstrual cycle. *PLoS One*. 2011; 6(2):e14655.
- Hamdeh SA, Marklund N, Lannsio M, Howells T, Raininko R, Wikstro J, Enblad P. Extended Anatomical Grading in Diffuse Axonal Injury Using MRI: Hemorrhagic Lesions in the Substantia. *Journal of Neurotrauma*, 2017; 34:341–352.
- Han BS, Kim SH, Kim OL, Cho SH, Kim YH, Jang SH. Recovery of corticospinal tract with diffuse axonal injury: A diffusion tensor image study. *NeuroRehabilitation*, 2007;22:151-155.

- Hans VH. Experimental axonal injury triggers interleukin-6 mRNA, protein synthesis and release into cerebrospinal fluid. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999;19(2):184-194.
- Heinen R, Bouvy WH, Mendrik AM, Viergever MA, Biessels GJ, de Bresser J. Robustness of Automated Methods for Brain Volume Measurements across Different MRI Field Strengths. *PLoS One*, 2016; 11(10): e0165719.
- Henkelman RM, Stanisz GJ, Graham SJ. Magnetization transfer in MRI: a review. *NMR in Biomedicine*, 2001;14(2):57-64.
- Hiehle JF, Lenkinski RE, Grossman RI, et al. Correlation of spectroscopy and magnetization transfer imaging in the evaluation of demyelinating lesions and normal appearing white matter in multiple sclerosis. *Magn Reson Med*, 1994;32:285-293.
- Hofman PA, Verhey FR, Wilmink JT, Rozendaal N, Jolles J. Brain lesions in patients visiting a memory clinic with postconcussional sequelae after mild to moderate brain injury. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 2002;14:176-184.
- Holbourn AHS. Mechanics of Head Injuries. *The Lancet*, 1943;242(6267):438-441.
- Hua J, Hurst GC. Analysis of On- and Off-Resonance Magnetization Transfer Techniques. *Magn Reson Imaging*, 1995;5:113-120.
- Hua X, Hibar DP, Ching CRK, Boyle CP, Rajagopalan P, et al. Unbiased tensor-based morphometry: Improved robustness and sample size estimates for Alzheimer's disease clinical trials. *Neuroimage*, 2013;66:648-661.
- Hudak A, Warner M, Marquez de la Plata C, Moore C, Harper C, Diaz-Arrastia R. Brain morphometry changes and depressive symptoms after traumatic brain injury. *Psychiatry Res*, 2011;191(3):160-165.
- Hulkower MB, Poliak DB, Rosenbaum SB, Zimmerman ME, Lipton ML. A decade of DTI in traumatic brain injury: 10 years and 100 articles later. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2013;34:2064-74.
- Hunter JV, Wilde EA, Tong KA, Holshouser BA. Emerging imaging tools for use with traumatic brain injury research. *Journal of Neurotrauma*, 2012;29(4):654-671.
- Hurley RA, McGowan JC, Arfanakis K, Taber KH. Traumatic axonal injury: novel insights into evolution and identification. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2004;16(1):1-17.
- Irimia A, Wang B, Aylward SR, Prastawa MW, Pace DF, Gerig G, Hovda DA, Kikinis R, Vespa PM, Van Horn JD. Neuroimaging of structural pathology and connectomics in traumatic brain injury: Toward personalized outcome prediction. *Neuroimage Clin*, 2012;1(1):1-17.
- Jasperse B, Valsasina P, Neacsu V, Knol DL, De Stefano N, Enzinger C, et al. Intercenter agreement of brain atrophy measurement in multiple sclerosis patients using manually-edited SIENA and SIENAX. *J Magn Reson Imaging*, 2007;26(4):881-5.
- Jenkinson M, Smith SM. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Medical Image Analysis*, 2001;5(2):143-156.

- Jenkinson M, Bannister PR, Brady JM, Smith SM. Improved optimisation for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *NeuroImage*, 2002; 17(2):825-841.
- Jennett B, Bond M: Assessment of outcome after severe brain damage. *Lancet*, 1975;1:480–484.
- Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Axonal pathology in traumatic brain injury. *Exp Neurol*; 2013; 246:35–43.
- Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Widespread τ and amyloid- β pathology many years after a single traumatic brain injury in humans. *Brain Pathol*, 2012;22(2):142-9.
- Kabani NJ, Sled JG, Chertkow H. Magnetization transfer ratio in mild cognitive impairment and dementia of Alzheimer's type. *Neuroimage*, 2002;15:604–610.
- Kado H, Kimura H, Tsuchida T, et al. Abnormal magnetization transfer ratios in normal-appearing white matter on conventional MR images of patients with occlusive cerebrovascular disease. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2001;22:922-7.
- Kato Y, Matsumura K, Kinosada Y, Narita Y, Kuzuhara S, Nakagawa T. Detection of pyramidal tract lesions in amyotrophic lateral sclerosis with magnetization-transfer measurements. *Am J Neuroradiol*, 1997;18:1541-1547.
- Kelley BJ, Lifshitz J, Povlishock JT. Neuroinflammatory responses after experimental diffuse traumatic brain injury. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 2007;66(11):989-1001.
- Kempton MJ, Ettinger U, Foster R, Williams SC, Calvert GA, Hampshire A, Zelaya FO, O'Gorman RL, McMorris T, Owen AM, Smith MS. Dehydration affects brain structure and function in healthy adolescents. *Hum Brain Mapp*, 2011; 32(1):71-9.
- Kenney K, Amyot F, Haber M, Pronger A, Bogoslovsky T, Moore C, et al. Cerebral Vascular Injury in Traumatic Brain Injury. *Exp Neurol*, 2016; 275:353-66.
- Khaleeli Z, Sastre-Garriga J, Ciccarelli O, Miller DH, Thompson AJ. Magnetisation transfer ratio in the normal appearing white matter predicts progression of disability over 1 year in early primary progressive multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2007;78:1076–1082.
- Khuman J, Meehan WP 3rd, Zhu X, Qiu J, et al. Tumor necrosis factor alpha and Fas receptor contribute to cognitive deficits independent of cell death after concussive traumatic brain injury in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2011; 31(2):778–789.
- Kilby PM, Bolas NM, Radda GK. ^{31}P -NMR study of brain phospholipid structures in vivo. *Biochim Biophys Acta*, 1991;1085:257–264.
- Kim J, Avants B, Patel S, Whyte J, Coslett HB, Pluta J, Detre JA, et al. Structural consequences of diffuse traumatic brain injury: A large deformation tensor-based morphometry study. *Neuroimage*, 2008;39(3):1014-1026.
- Kimura H, Meaney D, Grossman RI, et al. Magnetization transfer of diffuse axonal injury following experimental brain injury in the pig: characterization by magnetization transfer ratio with histopathologic correlation. *J Comput Assist Tomogr*, 1996;20:540–546.

- Kinnunen KM, Greenwood R, Powell JH, Leech R, Hawkins PC, Bonnelle V, et al. White matter damage and cognitive impairment after traumatic brain injury. *Brain*, 2011;134:449-63.
- Kita T, Tanaka T, Tanaka N, Kinoshita Y. The role of tumor necrosis factor-alpha in diffuse axonal injury following fluid-percussive brain injury in rats. *Int J Legal Med*, 2000;113(4):221-228.
- Klauschen F, Goldman A, Barra V, Meyer-Lindenberg A, Lundervold A. Evaluation of automated brain MR image segmentation and volumetry methods. *Hum Brain Mapp*, 2009;30(4):1310-27.
- Kolind S, Matthews L, Johansen-Berg H, Leite MI, Williams SC, Deoni S, et al: Myelin water imaging reflects clinical variability in multiple sclerosis. *Neuroimage*, 2012;60:263-270.
- Kumar R, Gupta RK, Husain M, Chaudhry C, Srivastava A, Saksena S, Rathore RK. Comparative evaluation of corpus callosum DTI metrics in acute mild and moderate traumatic brain injury: Its correlation with neuropsychometric tests. *Brain Injury*, 2009;23:675-685.
- Kumar R, Gupta, RK, Rao SB, Chawla S, Husain M, Rathore RKS. Magnetization transfer and T2 quantitation in normal appearing cortical gray matter and white matter adjacent to focal abnormality in patients with traumatic brain injury. *Magnetic Resonance Imaging*, 2003;21:893-899.
- Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain*, 2005;128(11):2705-2712.
- Lagares A, Ramos A, Pérez-Nuñez A, et al. The role of MR imaging in assessing prognosis after severe and moderate head injury. *Acta Neurochir*, 2009;151:341-356.
- Landman BA, Huang AJ, Gifford A, Vikram DS, Lim IA, Farrell JA, et al. Multi-parametric neuroimaging reproducibility: a 3-T resource study. *Neuroimage*, 2011;54(4):2854-66.
- Lannsjö M., Raininko R., Bustamante M., von Seth C., Jörgen Borg J. Brain pathology after mild traumatic brain injury: an exploratory study by repeated magnetic resonance examination. *Journal of Rehabilitation Medicine*, 2013;45:721-728.
- Laule C, Vavasour IM, Kolind SH, Li DKB, Traboulsee TL, Moore GRW, Mackay AL. Magnetic Resonance Imaging of Myelin. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 2007;4:460-484.
- Ledig C, Kamnitsas K, Koikkalainen J, Posti JP, Takala RSK, Ari Katila A, et al. Regional brain morphometry in patients with traumatic brain injury based on acute- and chronic-phase magnetic resonance imaging. *PLOS|one*, 2017; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188152>
- Lee SR, Choi B, Paul S, Seo JH, Back DB, Han JS, Choi DH, Kwon KJ, Shin CY, Lee J, Han SH, Kim HY. Depressive-like behaviors in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. *Translational Stroke Research*, 2015; 6(3):207-214.

- Leow AD, Klunder AD, Jack CR Jr, Toga AW, Dale AM, Bernstein MA, Britson PJ, et al. Longitudinal stability of MRI for mapping brain change using tensor-based morphometry. *Neuroimage*, 2006;31:627-40.
- Levine B, Kovacevic N, Nica EI, Cheung G, Gao F, Schwartz ML, Black SE. The Toronto traumatic brain injury study: injury severity and quantified MRI. *Neurology*, 2008; 70:771-778.
- Lexa FJ, Grossman RI, Rosenquist AC. MR of Wallerian degeneration in the feline visual system: Characterization of magnetization transfer rate with histopathologic correlation. *Am J Neuroradiol*, 1994;15:201-212.
- Li Y, Song J, Liu X, Zhang M, An J, Sun P, Li D, Jin T, Wang J. High expression of STIM1 in the early stages of diffuse axonal injury. *Brain Research*, 2013;1495: 95-102.
- Lifshitz J, Kelley BJ, Povlishock JT. Perisomatic thalamic axotomy after diffuse traumatic brain injury is associated with atrophy rather than cell death. *J Neuropathol Experimental Neurology*. 2007;66(3):218-229.
- Lin Y, Wen L. Inflammatory response following diffuse axonal injury. *Int J Med Sci*, 2013;10(5):515–521.
- Lin Y, Daducci A, Meskaldji DE, Thiran J, Michel P, Meuli R, et al. Quantitative analysis of myelin and axonal remodeling in the uninjured motor network after stroke. *Brain Connectivity*, 2015;5(7):401-412.
- Ling JM, Klimaj S, Toulouse T, Mayer AR. A prospective study of gray matter abnormalities in mild traumatic brain injury. *Neurology*, 2013;81(24):2121-2127.
- Liu J, Kou Z, Tian Y. Diffuse axonal injury after traumatic cerebral microbleeds: an evaluation of imaging techniques. *Neural Regen Res*, 2014;9(12):1222-1230.
- Liu T, Surapaneni K, Lou M, Cheng L, Spincemaille P, Wang Y. Cerebral microbleeds: burden assessment by using quantitative susceptibility mapping. *Radiology*, 2012;262(1):269-78.
- Ljungqvist J, Nilsson D, Ljungberg M, Sörbo A, Esbjörnsson E, et al. Longitudinal study of the diffusion tensor imaging properties of the corpus callosum in acute and chronic diffuse axonal injury. *Brain Injury*, 2011;25(4):370-378.
- Loane DJ, Kumar A. Microglia in the TBI Brain: The Good, The Bad, And The Dysregulated. *Exp Neurol*, 2016; 275(3):316–327.
- Loevner LA, Grossman, RI, Cohen JA, et al. Microscopic disease in normal-appearing white matter on conventional MR images in patients with multiple sclerosis: assessment with magnetization transfer measurements. *Radiology*, 1995;196:511-515.
- Lu KT, Wang YW, Wo YY, Yang YL. Extracellular signal-regulated kinase-mediated IL-1-induced cortical neuron damage during traumatic brain injury. *Neurosci Lett*, 2005;386(1):40-45.
- Lucas S, Hoffman JM, Bell KR, Dikmen S. A prospective study of prevalence and characterization of headache following mild traumatic brain injury. *Cephalalgia*, 2014;34(2):93-102.

- Luccichenti G, Giugni E, Péran P, Cherubini A, Barba C, Bivona U, et al. 3 Tesla is twice as sensitive as 1.5 Tesla magnetic resonance imaging in the assessment of diffuse axonal injury in traumatic brain injury patients. *Funct Neurol*, 2010;25(2):109-14.
- Ludwin SK. Oligodendrocyte survival in Wallerian degeneration. *Acta Neuropathol*, 1990;80(2):184–191.
- Ma J, Zhang K, Wang Z, Chen G. Progress of Research on Diffuse Axonal Injury after Traumatic Brain Injury. *Neural Plasticity*, 2016; 9746313.
- Mac Donald CL, Dikranian K, Song SK, Bayly PV, Holtzman DM, Brody DL. Detection of traumatic axonal injury with diffusion tensor imaging in a mouse model of traumatic brain injury. *Exp Neurol*, 2007;205(1):116-31.
- MacKenzie JD, Siddiqi F, Babb JS, et al. Brain atrophy in mild or moderate traumatic brain injury: a longitudinal quantitative analysis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002;23(9):1509-1515.
- Maclaren J, Han Z, Vos SV, Fischbein N, Bammer R. Reliability of brain volume measurements: A test-retest dataset. *Sci Data*, 2014;1:140037.
- Mamere AE, Saraiva LAL, Matos ALM, Carneiro AAO, Santos AC. Evaluation of Delayed Neuronal and Axonal Damage Secondary to Moderate and Severe Traumatic Brain Injury Using Quantitative MR Imaging Techniques. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2009;30:947-52.
- Mandl RCW, Schnack HG, Luijckes J, van den Heuvel MP, Cahn W, et al. Tract-based Analysis of Magnetization Transfer Ratio and Diffusion Tensor Imaging of the Frontal and Frontotemporal Connections in Schizophrenia. *Schizophr Bull*, 2010;36(4):778-787.
- Marino S, Ciurleo R, Bramanti P, Federico A, De Stefano N. ¹H-MR Spectroscopy in Traumatic Brain Injury. *Neurocrit Care*, 2011;14:127-133.
- Marino S, Zei E, Battaglini M, et al. Acute metabolic brain changes following traumatic brain injury and their relevance to clinical severity and outcome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2007;78:501-7.
- Marquez de la Plata C, *et al.* Magnetic resonance imaging of diffuse axonal injury: Quantitative assessment of white matter lesion volume. *J Neurotrauma*, 2007;24(4):591–598.
- Marshall LF, Marshall SB, Klauber MR et-al. The diagnosis of head injury requires a classification based on computed axial tomography. *J. Neurotrauma*, 1992;9 Suppl 1: S287-92.
- Mathews VP, Elster AD, King JC et al. Combined effects of magnetization transfer and gadolinium in cranial MR imaging and MR angiography. *Am J Roentgenol*, 1995;164:169-172.
- Maxwell WL, Povlishock JT, Graham DL. A mechanistic analysis of nondisruptive axonal injury: a review. *J Neurotrauma*, 1997;14(7):419-440.

- Maxwell WL, MacKinnon MA, Stewart JE, Graham DI. Stereology of cerebral cortex after traumatic brain injury matched to the Glasgow outcome score. *Brain*, 2010;133(1):139-160.
- McCreary CR, Bjamason TA, Skihar V, Mitchell JR, Yong VW, Dunn JF. Multiexponential T2 and magnetization transfer MRI of demyelination and remyelination in murine spinal cord. *Neuroimage*, 2009;45:1173–1182.
- McGowan JC, McCormack TM, Grossman RI, et al. Diffuse axonal pathology detected with magnetization transfer imaging following brain injury in the pig. *Magn Reson Med*, 1999;41:727–733.
- McGowan JC, Yang JH, Plotkin RC, et al. Magnetization transfer imaging in the detection of injury associated with mild head trauma. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2000;21:875-80.
- McKee AC, Gavett BE, Stern RA, Nowinski CJ, Cantu RC, Kowall NW, et al. TDP-43 proteinopathy and motor neuron disease in chronic traumatic encephalopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2010; 69(9):918-29.
- McKee AC, Stein TD, Kiernan PT, Alvarez VE. The neuropathology of chronic traumatic encephalopathy. *Brain Pathol*, 2015a;25(3):350-64.
- McKee AC, Daneshvar DH. The neuropathology of traumatic brain injury. *Handb Clin Neurol*, 2015b; 127: 45–66.
- McKee AC, Stern RA, Nowinski CJ, Stein TD, Alvarez VE, et al. The spectrum of disease in chronic traumatic encephalopathy. *Brain*, 2013; 136(Pt 1):43-64.
- Mehta RC, Pike GB, Enzmann DR. Measure of magnetization transfer in multiple sclerosis demyelinating plaques, white matter ischemic lesions, and edema. *Am J Neuroradiol*, 1995;17:1051-1055.
- Mehta RC, Pike GB, Enzmann DR. Magnetization transfer MR of the normal adult brain. *AJNR Am J Neuroradiol* 1995;16:2085–2091.
- Melki PS, Mulkern RV. Magnetization Transfer Effects in Multislice RARE Sequences. *Magn Reson Med*, 1992;24:189-195.
- Meythaler JM, Peduzzi JD, Eleftheriou E, Novack TA. Current concepts: diffuse axonal injury-associated traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*, 2001;82(10):1461-71.
- Meythaler, JM, Peduzzi, JD, Eleftheriou, E, Novack, TA. Current concepts: diffuse axonal injury-associated traumatic brain injury. *Arch. Phys. Med. Rehabil*, 2011;82:1461-1471.
- Moen KG, Skandsen T, Folvik M, Brezova V, Kvistad KA, Rydland J, et al. A longitudinal MRI study of traumatic axonal injury in patients with moderate and severe traumatic brain injury. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2012;83(12):1193-1200.
- Moenninghoff C, Kraff O, Maderwald S, Umutlu L, Theysohn JM, Ringelstein A, et al. Diffuse Axonal Injury at Ultra-High Field MRI. *PLoS ONE*, 2015;10(3):e0122329.
- Moll NM, Rietsch AM, Ransohoff AJ, Cossoy MB, Huang D, Eichler FS, Trapp BD, Ransohoff RM. Cortical demyelination in PML and MS: Similarities and differences. *Neurology*, 2008; 70(5):336-43.

- Morell P, Quarles RH, Norton W. Formation, structure, and biochemistry of myelin. In: Siegel J, ed. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects*, 4th ed. New York: Raven Press Ltd, 1989:109-136.
- Moretti L, Cristofori I, Weaver SM, Chau A, Portelli JN, Grafman J. Cognitive decline in older adults with a history of traumatic brain injury. *Lancet Neurol*, 2012;11(12):1103-12.
- Morey RA, Petty CM, Xu Y, Hayes JP, Wagner HR, Lewis DV, LaBar KS, et al. A comparison of automated segmentation and manual tracing for quantifying hippocampal and amygdala volumes. *Neuroimage*, 2009;45(3):855-866.
- Morey RA, Selgrade ES, Wagner HR 2nd, Huettel SA, Wang L, McCarthy G. Scan-rescan reliability of subcortical brain volumes derived from automated segmentation. *Hum Brain Mapp*, 2010;31(11):1751-62.
- Mori S, Oishi K, Faria AV, Miller MI. Atlas-based neuroinformatics via MRI: Harnessing information from past clinical cases and quantitative image analysis for patient care. *Annu Rev Biomed Eng*, 2013;15(1):71-92.
- Mottershead JP, Schmierer K, Clemence M, Thornton JS, Scaravilli F, et al. High field MRI correlates of myelin content and axonal density in multiple sclerosis - a post-mortem study of the spinal cord. *J. Neurol*, 2003;250:1293-1301.
- Nakayama N, Okumura A, Shinoda J, Yasokawa YT, Miwa K, Yoshimura SI, Iwama T. Evidence for white matter disruption in traumatic brain injury without macroscopic lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 2006;77:850-855.
- Narayan RK, Michel ME, Ansell B, Baethmann A, Biegon A, Bracken MB, et al. Clinical trials in head injury. *J Neurotrauma*, 2002; 19:503-557.
- Narayana PA, Yu X, Hasan KM, et al. Multi-modal MRI of mild traumatic brain injury. *NeuroImage: Clinical*, 2015;7:87-97.
- Newcombe VF, Williams GB, Nortje J, Bradley PG, et al. Analysis of acute traumatic axonal injury using diffusion tensor imaging. *British Journal of Neurosurgery*, 2007;21:340-348.
- Ng K, Mikulis DJ, Glazer J, Kabani N, Till C, Greenberg G, et al. Magnetic resonance imaging evidence of progression of subacute brain atrophy in moderate to severe traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil*, 2008;89(12):S35-44.
- Niogi SN, Mukherjee P, Ghajar J, Johnson CE, Kolster R, Lee H, et al. Structural dissociation of attentional control and memory in adults with and without mild traumatic brain injury. *Brain*, 2008;131:3209-3221.
- Oh J, Han ET, Pelletier D, Nelson SJ. Measurement of in vivo multi-component T2 relaxation times for brain tissue using multi-slice T2 prep at 1.5 and 3 T. *Magnetic Resonance Imaging*, 2006; 24(1):33-43.
- Ordidge RJ, Knight RA, Helpert JA. Magnetization Transfer Contrast (MTC) in Flash MR Imaging. *Magn Reson Imaging*, 1991;9:889-893.

- Oreja-Guevara C, Charil A, Caputo D, Cavarretta R, Sormani MP, Filippi M. Magnetization transfer magnetic resonance imaging and clinical changes in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol*, 2006;63(5):736-40.
- Papa L, Akinyi L, Liu MC, et al. Ubiquitin C-terminal hydrolase is a novel biomarker in humans for severe traumatic brain injury. *Crit Care Med*. 2010;38(1):138–144.
- Parizel PM, Ozsarlak, Van Goethem JW, van den Hauwe L, Dillen C, Verlooy J, et al. Imaging findings in diffuse axonal injury after closed head trauma. *Eur Radiol*, 1998;8(6):960-5.
- Park E, Liu E, Shek M, Park A, Baker AJ. Heavy neurofilament accumulation and α -spectrin degradation accompany cerebellar white matter functional deficits following forebrain fluid percussion injury. *Experimental Neurology*, 2007; 204(1):49–57.
- Patenaude, B, Smith, SM, Kennedy, D, Jenkinson M. A Bayesian Model of Shape and Appearance for Subcortical Brain NeuroImage, 2011; 56(3):907-922.
- Paterakis K, Karantanas AH, Komnos A, Volikas Z. Outcome of patients with diffuse axonal injury: the significance and prognostic value of MRI in the acute phase. *J Trauma*, 2000;49:1071-1075.
- Peerless SJ, Rewcastle NB. Shear injuries of the brain. *J Can Med Assoc*, 1967;96:577-582.
- Perlaki G, Horvath R, Nagy SA, Bogner P, Doczi T, et al. Comparison of accuracy between FSL's FIRST and Freesurfer for caudate nucleus and putamen segmentation. *Sci Rep*, 2017;7(1):2418.
- Pettus EH, Povlishock JT. Characterization of a distinct set of intra-axonal ultrastructural changes associated with traumatically induced alteration in axolemmal permeability. *Brain Research*, 1996; 722(1–2):1-11.
- Pike GB, De Stefano N, Narayanan S, Worsley KJ, Pelletier D, Francis GS, Antel JP, Arnold DL. Multiple Sclerosis: Magnetization Transfer MR Imaging of White Matter before Lesion Appearance on T2-weighted Images. *Radiology*, 2000; 215:824-830.
- Pittella JE, Gusmão SN. Diffuse vascular injury in fatal road traffic accident victims: its relationship to diffuse axonal injury. *J Forensic Sci*, 2003;48(3):626-30.
- Pomeroy IM, Jordan EK, Frank JA, Matthews PM, Esiri MM. Diffuse cortical atrophy in a marmoset model of multiple sclerosis. *Neurosci Lett*. 2008; 437:121-124.
- Poon CS, Henkelman RM. Practical T2 quantitation for clinical applications. *J Magn Reson Imaging*, 1992;2:541-553.
- Povlishock JT. Are the Pathobiological Changes Evoked by Traumatic Brain Injury Immediate and Irreversible? *Brain Pathology*, 1995;5(4):415-426.
- Povlishock JT. Pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and man. *Ann Emerg Med*, 1993;22(6):980-6.
- Povlishock JT. Traumatically induced axonal injury: pathogenesis and pathobiological implications. *Brain Pathol*, 1992;2(1):1-12.

- Povlishock JT, Becker DP, Cheng CL, Vaughan GW. Axonal change in minor head injury. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1983;42(3):225-42.
- Povlishock JT, Katz DI. Update of neuropathology and neurological recovery after traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*, 2005;20(1):76-94.
- Povlishock JT, Christman CW. The pathobiology of traumatically induced axonal injury in animals and humans: a review of current thoughts. *Journal of Neurotrauma*, 1995;12(4):555–564.
- Ramlackhansingh AF, Brooks DJ, Greenwood RJ, Bose SK, Turkheimer FE, et al. Inflammation after trauma: microglial activation and traumatic brain injury. *Ann Neurol*, 2011;70:374-83.
- Ramon y Cajal S. *Degeneration and regeneration of the nervous system*. Haffner Publishing Co. Nova Iorque, 1928;2:750.
- Rand CW, Courville CB. Histologic changes in the brain in cases of fatal injury to the head; alterations in nerve cells. *Arch Neurol Psychiatry*, 1946;55:79-110.
- Rane S, Plassard A, Landman BA, Claassen DO, Donahue MJ. Comparison of Cortical and Subcortical Measurements in Normal Older Adults across Databases and Software Packages. *J Alzheimers Dis Rep*, 2017;1(1):59-70.
- Reichenbach JR, Venkatesan R, Yablonskiy DA, Thompson MR, Lai S, Haacke EM. Theory and application of static field inhomogeneity effects in gradient-echo imaging. *J Magn Reson Imaging*, 1997;7:266–279.
- Richards JE, Xie W. Brains for all the ages: structural neurodevelopment in infants and children from a life-span perspective. *Adv Child Dev Behav*, 2015; 48():1-52.
- Ridha BH, Symms MR, Tozer DJ, Stockton KC, Frost C, et al. Magnetization transfer ratio in Alzheimer disease: comparison with volumetric measurements. *Am J Neuroradiol*, 2007;28(5):965-70.
- Roozenbeek B, Maas AIR, Menon DK. Changing patterns in the epidemiology of traumatic brain injury. *Neurology*, 2013;9,231-236.
- Ropele S, Fazekas F. Magnetization Transfer MR Imaging in Multiple Sclerosis. *Neuroimaging Clin N Am*. 2009 Feb;19(1):27-36.
- Ross DE. Review of longitudinal studies of MRI brain volumetry in patients with traumatic brain injury. *Brain Inj*. 2011;25(13-14):1271-8.
- Ross DE, Ochs AL, Seabaugh JM, Demark MF, Shrader CR, Marwitz JH, Havranek MD. Progressive brain atrophy in patients with chronic neuropsychiatric symptoms after mild traumatic brain injury: a preliminary study. *Brain Injury*, 2012;26:1500-1509.
- Ross DE, Ochs AL, Seabaugh JM, Shrader CR, et al. Man versus machine: comparison of radiologists' interpretations and NeuroQuant(R) volumetric analyses of brain MRIs in patients with traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2013;25(1):32-9.
- Rovaris M, Iannucci G, Cercignani M, et al. Age-related changes in conventional, magnetization transfer, and diffusion-tensor MR imaging findings: study with whole-brain tissue histogram analysis. *Radiology*, 2003; 227:731-738.

- Rovaris M, Viti B, Ciboddo G, et al. Brain involvement in systemic immune-mediated diseases: a magnetic resonance and magnetization transfer imaging study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 1999;68:170-177.
- Rubin Y, Cecil K, Wehrli S, McIntosh TK, Lenkinski RE, Smith DH. High-resolution ¹H NMR spectroscopy following experimental brain trauma. *J Neurotrauma*, 1997;14:441-449.
- Rutland-Brown W, Langlois JA, Thomas KE, Xi YL. Incidence of traumatic brain injury in the United States. *J Head Trauma Rehabil*, 2006;21:544.
- Saatman KE, Duhaime AC, Bullock R, Maas AIR, Valadka A, Manley GT. Classification of Traumatic Brain Injury for Targeted Therapies. *Journal of Neurotrauma*, 2008; 25:719-738.
- Salat DH, Greve DN, Pacheco JL, Quinn BT, Helmer KG, Buckner RL, Fischl B. Regional white matter volume differences in nondemented aging and Alzheimer's disease. *Neuroimage*, 2009; 44(4):1247-58.
- Sander AM, Clark A, Pappadis MR. What is community integration anyway?: defining meaning following traumatic brain injury. *J. Head Trauma Rehabil*, 2010; 25:121-127.
- Santos F, Casagrande LP, Lange C, Farias JC, Pereira PM, Jardim VMR, Torres AAP. Traumatismo cranioencefálico: causas e perfil das vítimas atendidas no pronto-socorro de pelotas/Rio grande do sul, Brasil. *Rev Min Enferm*, 2013; 17(4): 882-888.
- Santyr GE. Magnetization Transfer Effects in Multislice MR Imaging. *Magn Reson Imaging*, 1993;11(4):521-532.
- Sato M, Chang E, Igarashi T, Noble LJ. Neuronal injury and loss after traumatic brain injury: time course and regional variability. *Brain Res*, 2001;917:45-54.
- Schaefer PW, Huisman TA, Sorensen AG, Gonzalez RG, Schwamm LH. Diffusion-weighted MR imaging in closed head injury: high correlation with initial Glasgow Coma Scale score and score on modified Rankin scale at discharge. *Radiology*, 2004;233(1):58-66.
- Scheid R, Ott DV, Roth H, Schroeter ML, von Cramon DY. Comparative magnetic resonance imaging at 1.5 and 3 Tesla for the evaluation of traumatic microbleeds. *J Neurotrauma*, 2007;24(12):1811-6.
- Schippling S, Ostwaldt AC, Suppa P, Spies L, Manogaran P, Gocke C, Huppertz HJ, Opfer R. Global and regional annual brain volume loss rates in physiological aging. *J Neurol*, 2017; 264(3):520-528.
- Schmierer K, Scaravilli F, Altmann DR, Barker GJ, Miller DH. Magnetization transfer ratio and myelin in postmortem multiple sclerosis brain. *Ann. Neurol*, 2004; 56:407-415.
- Schoemaker D, Buss C, Head K, Sandman CA, Davis EP, Chakravarty MM, Gauthier S, Pruessner JC. Hippocampus and amygdala volumes from magnetic resonance images in children: assessing accuracy of FreeSurfer and FSL against manual segmentation. *Neuroimage*, 2016;129:1-14

- Sepponen R. Rotating Frame and Magnetization Transfer. Chapter 8 in: Stark DS, Bradley WG (eds). *Magnetic Resonance Imaging*. 2nd ed. St. Louis, Mo: Mosby Year Book, 1992;204-218.
- Sharp DJ, Scott G, Leech R. Network dysfunction after traumatic brain injury. *Nat Rev Neurol*, 2014;10(3):156-66.
- Shively S, Scher AI, Perl DP, Diaz-Arrastia R. Dementia resulting from traumatic brain injury: what is the pathology? *Arch Neurol*, 2012;69(10):1245-51.
- Sidaros A, Engberg AW, Sidaros K, Liptrot MG, Herning M, Petersen P, Paulson OB, Jernigan TL, Rostrup E. Diffusion tensor imaging during recovery from severe traumatic brain injury and relation to clinical outcome: A longitudinal study. *Brain*; 2008;131:559-572.
- Sidaros A, Skimminge A, Liptrot MG, Sidaros K, Engberg AW, Herning M. Long-term global and regional brain volume changes following severe traumatic brain injury: a longitudinal study with clinical correlates. *Neuroimage*, 2009;44(1):1-8.
- Signoretti S, Marmarou A, Fatouros P, et al. Application of chemical shift imaging for measurement of NAA in head injured patients. *Acta Neurochir Suppl*, 2002;81:373-5.
- Signoretti S, Marmarou A, Tavazzi B, Lazzarino G, Beaumont A, Vagnozzi R. N-acetylaspartate reduction as a measure of injury severity and mitochondrial dysfunction following diffuse traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2001;18:977-91.
- Singleton RH, Zhu J, Stone JR, Povlishock JT. Traumatically induced axotomy adjacent to the soma does not result in acute neuronal death. *J Neurosci*, 2002;22(3):791-802.
- Sinson G, Bagley LJ, Cecil KM, et al. Magnetization transfer imaging and proton MR spectroscopy in the evaluation of axonal injury: correlation with clinical outcome after traumatic brain injury. *Am J Neuroradiol*, 2001;22:143.
- Skandsen T, Kvistad KA, Solheim O, Strand IH, Folvik M, Vik A. Prevalence and impact of diffuse axonal injury in patients with moderate and severe head injury: a cohort study of early magnetic resonance imaging findings and 1-year outcome. *J Neurosurg*, 2010;113:556–563.
- Skoglund TS, Nilsson D, Ljungberg M, Jonsson L, Rydenhag B. Long-term follow-up of a patient with traumatic brain injury using diffusion tensor imaging. *Acta Radiologica*, 2008;49:98-100.
- Sled JG, Levesque I, Santos AC, et al. Regional variations in normal brain shown by quantitative magnetization transfer imaging. *Magn Reson Med*, 2004; 51:299-303.
- Smith CD, Chebrolu H, Wekstein DR, Schmitt FA, Markesbery WR. Age and gender effects on human brain anatomy: a voxel-based morphometric study in healthy elderly. *Neurobiol Aging*, 2007; 28(7):1075-1087.
- Smith DH, Meaney DF, Shull WH. Diffuse axonal injury in head trauma. *J Head Trauma Rehabil*, 2003;18(4):307-316.

- Smith DH, Chen XH, Pierce JE, Wolf JA, Trojanowski JQ, Graham DI, et al. Progressive atrophy and neuron death for one year following brain trauma in the rat. *J Neurotrauma*, 1997; 14: 715–27.
- Smith SM, De Stefano N, Jenkinson M, Matthews PM. Normalized accurate measurement of longitudinal brain change. *J Comput Assist Tomogr*, 2001;25(3):466-75.
- Smith DH, Hicks R, Povlishock JT. Therapy development for diffuse axonal injury. *J Neurotrauma*, 2013; 30:307-323.
- Song B, Zhang ZZ, Zhong JC, Yu XY, Oudit GY, Jin HY, Lu L, Xu YL, Kassiri Z, Shen WF, Gao PJ, Zhu DL. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 exacerbates myocardial injury via activation of the CTGF-fractalkine signaling pathway. *Circ J*, 2013;77:2997-3006.
- Song SK, Sun SW, Ju WK, et al. Diffusion tensor imaging detects and differentiates axon and myelin degeneration in mouse optic nerve after retinal ischemia. *Neuroimage*, 2003;20:1714-1722.
- Song SK, Sun SW, Ramsbottom MJ, et al. Dysmyelination revealed through MRI as increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. *Neuroimage*, 2002;17:1429-1436.
- Spader HS, Dean 3rd DC, LaFrance Jr WC, Raukar NP, et al. Prospective study of myelin water fraction changes after mild traumatic brain injury in collegiate contact sports. *Journal of Neurosurg*, 2018;1:1-9.
- Spader HS, Ellermeier A, O'Muircheartaigh J, Dean III DC, Dirks H, Boxerman JL, Cosgrove GR, Deoni SCL. Advances in myelin imaging with potential clinical application to pediatric imaging. *Neurosurgical Focus*, 2013;34(4):E9.
- Stanisz GJ, Kecojevic A, Bronskill MJ, Henkelman RM. Characterizing white matter with magnetization transfer and T2. *Magn Reson Med*, 1999;42(6):1128-36.
- Stehling C, Wersching H, Kloska SP, Kirchhof P, Ring J, Nassenstein I, et al. Detection of asymptomatic cerebral microbleeds: a comparative study at 1.5 and 3.0 T. *Acad Radiol*, 2008;15(7):895-900.
- Strangman GE, O'Neil-Pirozzi TM, Supelana C, Goldstein R, Katz DI, Glenn MB. Regional brain morphometry predicts memory rehabilitation outcome after traumatic brain injury. *Frontiers in Human Neuroscience*, 2010;4:182.
- Steenwijk MD, Pouwels PJW, Daams M, van Dalen JW, Caan MWA, Richard E, Barkhof F, Vrenken H. Accurate white matter lesion segmentation by k nearest neighbor classification with tissue type priors (kNN-TTPs) *Neuroimage Clin*. 2013;3(3):462-469.
- Strich SJ. Shearing of nerve fibers as a cause of brain damage due to head injury. *The Lancet*, 1961;2:443-448.
- Su E, Bell M. Diffuse Axonal Injury. In: Laskowitz D, Grant G editores. *Translational Research in Traumatic Brain Injury*. Boca Raton (FL): CRC Press: Taylor and Francis Group; 2016.

- Sullivan G.M. et al. Oligodendrocyte lineage and subventricular zone response to traumatic axonal injury in the corpus callosum. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2013; 72(12):1106–1125.
- Symonds C. Concussion and its sequelae. *The Lancet*, 1962; 279(7219):1–5.
- Takao H, Hayashi N, Ohtomo K. A longitudinal study of brain volume changes in normal aging. *Eur J Radiol*, 2012; 81:2801–2804.
- Takeuchi S, Nawashiro H. Atrophy after traumatic axonal injury. *Archives of Neurology*, 2011;68(8):1090.
- Tatsumi S, Ayaki T, Shinohara M, Yamamoto T. Type of gradient recalled-echo sequence results in size and number change of cerebral microbleeds. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2008; 29(13).
- Tchekmedyian A, Amos CI, Bale SJ, Zhu D, Arold S, Berrueta J, Nabon N, McGarrity T. Findings from the peutz-jeghers syndrome registry of uruguay. *PLoS One*. 2013;8:e79639.
- Thorpe JW, Barker GJ, Jones SJ, Moseley I, Losseff N, MacManus DG, et al. Magnetization transfer ratios and transverse magnetization decay curves in optic neuritis: correlation with clinical findings and electrophysiology. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*, 1995;59:487-492.
- Tomaiuolo F, Worsley KJ, Lerch J, et al. Changes in white matter in long-term survivors of severe non-missile traumatic brain injury: a computational analysis of magnetic resonance images. *J Neurotrauma*, 2005;22(1):76-82.
- Tomaiuolo F, Carlesimo GA, Di Paola M, Petrides M, Fera F, et al. Gross morphology and morphometric sequelae in the hippocampus, fornix, and corpus callosum of patients with severe non-missile traumatic brain injury without macroscopically detectable lesions: a T1 weighted MRI study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004;75(9):1314-1322.
- Tomaiuolo F, Bivona U, Lerch JP, Di Paola M, Carlesimo GA, et al. Memory and anatomical change in severe non-missile traumatic brain injury: ~1 vs. ~8 years follow-up. *Brain Res Bull*, 2012;87(4-5):373-82.
- Tomiak MM, Rosenblum JD, Prager JM, Metz CE. Magnetization transfer: a potential method to determine the age of multiple sclerosis lesions. *Am Journal Neuroradiology*, 1994;15:1569-1574.
- Tourdias T, Dousset V, et al.: Magnetization transfer imaging shows tissue abnormalities in the reversible penumbra. *Stroke* 2007;38(12):3165-3171.
- Trivedi MA, Ward MA, Hess TM, Gale SD, Dempsey RJ, Rowley HA, et al. Longitudinal changes in global brain volume between 79 and 409 days after traumatic brain injury: relationship with duration of coma. *J Neurotrauma*, 2007;24(5):766-71.
- Tu TW, Williams RA, Lescher JD, Jikaria N, Turtzo LC, Frank JA. Radiological-pathological correlation of diffusion tensor and magnetization transfer imaging in closed head traumatic brain injury model. *Annals of neurology*, 2016;79(6):907-920.

- Tudorascu DL, Karim HT, Maronge JM, Alhilali L, Fakhran S, Aizenstein HJ, Muschelli J, Crainiceanu CM. Reproducibility and Bias in Healthy Brain Segmentation: Comparison of Two Popular Neuroimaging Platforms. *Front Neurosci*, 2016;10:503.
- Vagnozzi R, Signoretti S, Cristofori L, Alessandrini F, Floris R, Isgro E, et al. Assessment of metabolic brain damage and recovery following mild traumatic brain injury: a multicentre, proton magnetic resonance spectroscopic study in concussed patients. *Brain*, 2010; 133:3232–3242.
- van Buchem MA, Tofts PS. Magnetization transfer imaging. *Neuroimaging Clin N Am*, 2000; 10(4):771-788.
- Van De Graaff KM. Nervous tissue and the central nervous system. In: Van De Graaff KM. *Human Anatomy*, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2002:351.
- van der Flier WM, Van Den Heuvel DM, Weverling-Rijnsburger AW, et al. Magnetization transfer imaging in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 2002;52:62-67.
- van Es ACGM, van der Flier WM, Admiraal-Behloul F, Olofsen H, Bollen ELEM, et al. Magnetization transfer imaging of gray and white matter in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 2006;27:1757-1762.
- Vannorsdall TD, Cascella NG, Vani R, Pearlson GD, Gordon B, Schretlen DJ. A morphometric analysis of neuroanatomic abnormalities in traumatic brain injury. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2010;22:173-81.
- Vavasour IM, Laule C, Li DK, Traboulsee AL, MacKay AL. Is the magnetization transfer ratio a marker for myelin in multiple sclerosis? *J Magn Reson Imaging*, 2011;33(3):713-718.
- Vavasour IM, Whittall KP, Li DK, MacKay AL. Different magnetization transfer effects exhibited by the short and long T2 components in human brain. *Magn Reson Med*, 2000;44:860-866.
- Vercellino M, Plano F, Votta B, Mutani R, Giordana MT, Cavalla P. Grey matter pathology in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2005; 64(12):1101-7.
- Vespa P, Bergsneider M, Hattori N, Wu H-M, Huang S-C, Martin NA, Glenn TC, McArthur DL, Hovda DA. Metabolic crisis without brain ischemia is common after traumatic brain injury: a combined microdialysis and positron emission tomography study. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2005;25(6):763-774.
- Vidal-Jordana A, Pareto D, Sastre-Garriga J, Auger C, Ciampi E, Montalban X, Rovira A. Measurement of Cortical Thickness and Volume of Subcortical Structures in Multiple Sclerosis: Agreement between 2D Spin-Echo and 3D MPRAGE T1-Weighted Images. *Am J Neuroradiol*, 2017;38(2):250-256.
- Volz S, Nöth U, Rotarska-Jagiela A, Deichmann R. A fast B1-mapping method for the correction and normalization of magnetization transfer ratio maps at 3 T. *Neuroimage*, 2010;49(4):3015-26.
- Waldman A, Rees JH, Brock CS, et al. MRI of the brain with ultra-short echo-time pulse sequences. *Neuroradiology*, 2003; 45:887-892.

- Wang HK, Lin SH, Sung PS, Wu MH, Hung KW, Wang LC, et al. Population based study on patients with traumatic brain injury suggests increased risk of dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2012; 83:1080–5.
- Wang KK, Yang Z, Zhu T, Shi Y, Rubenstein R, Tyndall JA, Manley GT. An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018;18(2):165-180.
- Wang S, Melhem ER, Poptani H, Woo JH. Neuroimaging in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neurotherapeutics: the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*. 2011;8(1):63-71.
- Wang G, Zhang J, Hu X, Zhang L, Mao L, Jiang X, et al. Microglia/macrophage polarization dynamics in white matter after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013;33(12):1864-1874.
- Warner MA, Youn TS, Davis T, Chandra A, Marquez de la Plata C; Moore C, Harper C, Madden CJ, Spence J, McColl R, Devous M, King RD, Diaz-Arrastia R. Regionally Selective Atrophy After Traumatic Axonal Injury. *Arch Neurol*, 2010;67(11):1336-1344.
- Warner DO, Warner MA, Divertie MB. Open lung biopsy in patients with diffuse pulmonary infiltrates and acute respiratory failure. *Am Rev Respir Dis*, 1988;137:90-94.
- West KL, Kelm ND, Carson RP, Gochberg DF, Ess KC, Does MD. Myelin volume fraction imaging with MRI. *Neuroimage*, 2018;182:511-521.
- Whitnall L, McMillan TM, Murray GD, Teasdale GM. Disability in young people and adults after head injury: 5-7 year follow up of a prospective cohort study. *J Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 2006; 77(5):640–645.
- Wilde EA, Bouix S, Tate DF, Lin AP, Newsome MR, Taylor BA, et al. Advanced neuroimaging applied to veterans and service personnel with traumatic brain injury: state of the art and potential benefits. *Brain Imaging and Behavior*, 2015;9:367-402.
- Wilde EA, McCauley SR, Hunter JV, Bigler ED, Chu Z, Wang ZJ, et al. Diffusion tensor imaging of acute mild traumatic brain injury in adolescents. *Neurology*, 2008;70:948-955.
- Wilde EA, Hunter JV, Newsome MR, Scheibel RS, Bigler ED, et al. Frontal and temporal morphometric findings on MRI in children after moderate to severe traumatic brain injury. *J Neurotrauma*, 2005;22:333–44.
- Wilhelm MJ, Ong HH, Wehrli SL, Li C, Tsai P, Hackney DB, Wehrli FW. Direct magnetic resonance detection of myelin and prospects for quantitative imaging of myelin density. *PNAS*, 2012;109(24):9605-9610.
- Wolff SD, Balaban RS. Magnetization Transfer Contrast (MTC) and Tissue Water Proton Relaxation In Vivo. *Magn Reson Med*, 1989;10:135-144.
- Wright AD, Jarrett M, Vavasour I, Shahinfard E, Kolind S, van Donkelaar P, et al. Myelin water fraction is transiently reduced after a single mild traumatic brain injury- a prospective cohort study in collegiate hockey players. *PLoS One*, 2016;11:e0150215.

- Wright MJ, McArthur DL, Alger JR, Van Horn J, Irimia A, Filippou M, et al. Early metabolic crisis-related brain atrophy and cognition in traumatic brain injury. *Brain Imaging Behav*, 2013;7(3):307-15.
- Xiao H, Yang Y, Xi J, Chen Z. Structural and functional connectivity in traumatic brain injury. *Neural Regeneration Research*, 2015;10(12):2062-2071.
- Xu J, Rasmussen IA, Lagopoulos J, Haberg A. Diffuse axonal injury in severe traumatic brain injury visualized using highresolution diffusion tensor imaging. *Journal of Neurotrauma*, 2007;24:753–765.
- Xu Y, McArthur DL, Alger JR, Etchepare M, Hovda DA, Glenn TC, Huang S, Dinov I, Vespa PM. Early nonischemic oxidative metabolic dysfunction leads to chronic brain atrophy in traumatic brain injury. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 2010;30:883-894.
- Yan EB, Hellewell SC, Bellander BM, Agyapomaa DA, Morganti-Kossmann MC. Post-traumatic hypoxia exacerbates neurological deficit, neuroinflammation and cerebral metabolism in rats with diffuse traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*, 2011;8(1):147.
- Yang XF, Wang H, Wen L. From myelin debris to inflammatory responses: A vicious circles in diffuse axonal injury. *Medical Hypotheses* 2011;77: 60-82.
- Yeo RA, Gasparovic C, Merideth F, Ruhl D, Doezenia D, Mayer AR. A Longitudinal Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Study of Mild Traumatic Brain Injury. *Journal of Neurotrauma*, 2011; 28:1-11.
- Yeung HN, Aisen AM. Magnetization Transfer Contrast with Periodic Pulsed Saturation. *Radiology*, 1992, 183:209-214.
- Yoganandan N, Li J, Zhang J, Pintar FA, Gennarelli TA. Influence of angular acceleration-deceleration pulse shapes on regional brain strains. *J Biomech*, 2008;41(10):2253-62.
- Yount R, Raschke KA, Biru M, et al. Traumatic brain injury and atrophy of the cingulate gyrus. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2002;14(4):416–423.
- Zaloshnja E, Miller T, Langlois JA, Selassie AW. Prevalence of long-term disability from traumatic brain injury in the civilian population of the United States, 2005. *J Head Trauma Rehabil*. 2008;23(6):394.
- Zen K, Guo Y, Bian Z, Lv Z, Zhu D, Ohnishi H, Matozaki T, Liu Y. Inflammation-induced proteolytic processing of the SIRPalpha cytoplasmic ITIM in neutrophils propagates a proinflammatory state. *Nature Commun*, 2013; 4:2436.
- Zeng Y, Zhang Y, Ma J, Xu J. Progesterone for Acute Traumatic Brain Injury: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *PLoS One*, 2015;10(10):e0140624.
- Zhang J, Li X, Li C, Lian Z, Huang X, Zhong G, et al. Inferring functional interaction and transition patterns via dynamic bayesian variable partition models. *Hum Brain Mapp*, 2014;35(7):3314-31.

Zhang Y, Brady M, Smith S. Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 2001;20:45-57.

Zhong XF, Zhu D, Lu Q, Liu B, Peng YL. Monitoring renal microcirculation perfusion alteration with contrast-enhanced ultrasound during cardiopulmonary bypass. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2013;44:646-650.

Zhou Y, Kierans A, Kenul D, Ge Y, Rath J, Reaume J, Grossman RI, Lui YW. Mild Traumatic Brain Injury: Longitudinal Regional Brain Volume Changes. *Radiology*, 2013;267(3):880-890.

Zivadinov R, Dwyer MG, Markovic-Plese S, Kennedy C, et al. Effect of treatment with interferon beta-1a on changes in voxel-wise magnetization transfer ratio in normal appearing brain tissue and lesions of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a 24-week, controlled pilot study. *PloS One*, 2014;9(3): e91098.