Mariana Penteado Nucci da Silva

**Funções cognitivas em vítimas de afogamento:
análise neuropsicológica e ressonância magnética
funcional**

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

Programa de Radiologia

Orientador: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior

Coorientador: Prof. Dr. João Ricardo Sato

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Silva, Mariana Penteadu Nucci da

Funções cognitivas em vítimas de afogamento : análise neuropsicológica e ressonância magnética funcional / Mariana Penteadu Nucci da Silva. -- São Paulo, 2013.

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

Orientador: Edson Amaro Júnior.

Coorientador: João Ricardo Sato.

Descritores: 1.Afogamento 2.Imagem por ressonância magnética funcional
3.Memória operacional 4.Atividade motora 5.Hipóxia encefálica 6.Testes neuropsicológicos

USP/FM/DBD-346/13

Dedicatória

Para a minha primeira paciente vítima de afogamento, A. E. que representou a inspiração a busca desta temática na literatura científica e sua babá, que dedicou sua vida nos cuidados da Agnes e sempre esteve presente nas rotinas terapêuticas e com muito carinho me acompanhou e auxiliou nos cuidados. Após anos de experiência clínica acompanhando casos como este e a contínua escassez científica sobre este tema, o despertar de uma curiosidade clínica se transformou na concretização do doutorado.

Agradecimentos

Primeiramente à Deus..

Aos meus pais, José Albino da Silva e Marília Penteado Nucci da Silva, por todo apoio, carinho e incentivo na concretização deste projeto, aos meus irmãos, que são os meus guias e meus exemplos de vida, em especial ao meu irmão Leopoldo Penteado Nucci da Silva, que me apresentou ao mundo da neurociência e que com muito carinho vem me incentivando, apoiando e ajudando nesta carreira de pesquisadora.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Amaro Júnior, que acreditou na minha proposta de doutorado, oriunda de uma curiosidade clínica e com muita sabedoria e paciência, incentivou e me guiou para a concretização deste projeto.

Ao meu coorientador e amigo, Prof. Dr. João Ricardo Sato, que sempre me incentivou durante a minha trajetória como pesquisadora, e me apoiou nos momentos mais difíceis da análise metodológica e interpretação dos resultados, obrigada por tudo.

Aos meus voluntários, que sem a presença deles este trabalho não seria possível e com muito carinho aceitaram em participar e acreditaram no projeto.

A Profa. Dra. Silvia Maria Arcuri, Profa. Dra. Paula R Arantes e a Profa. Dra. Maria da Graça Moraes Martin pela profícua arguição e sugestões no processo de qualificação para defesa desta tese.

As minhas amigas, quase irmãs, Joana Bisol Balardini e Ana Paula Valadares pela ajuda, companherismo nos momentos mais difíceis desta trajetória, e em especial, a Katerina Lukasova, pela parceria neste projeto, pois o seu auxílio foi essencial para viabilizar a execução.

Aos meus amigos e colegas, Carlos Alberto Melo Moraes, Marcelo Camargo Batistuzzo, Paulo Rodrigo Bazán, Gilson Viera, Raymundo M. de Azevedo Neto,

Khallil Taverna Chaim, Bruno Fraccino Pastorello, Thais Santos Contença e Arthur Felipe N. G. Borgonovi por compor esse pródigo grupo, o LIM 44

À Sra. Mara da Silva, Marcia Mitico.Yamada, Elaine Conceição da Silva, Solange Vanni, Adelinda Arruda, pessoas essenciais do dia-a-dia acadêmico e administrativo, que neste período, com muito carinho, auxiliaram no agendamento dos exames, na recepção de todos os voluntários com alta cordialidade.

À Sra. Lia de Melo Souza Neta pela atenção dedicada e ajuda em todos os trâmites administrativos desse projeto.

À Profa. Dra. Claudia da Costa Leite por toda a dedicação e determinação no comando do setor da ressonância magnética, possibilitando um ambiente único e com uma equipe de biomédicos e enfermagem ímpar na viabilização de projetos de pesquisa em neuroimagem.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio financeiro (bolsa demanda social) concedida para o desenvolvimento deste projeto.

Aos demais integrantes do LIM 44, cuja existência contribuiu com o presente projeto.

Ao meu namorado, Lionel Gamarra, por toda carinho, dedicação e paciência nesta fase final do doutorado, sem seu apoio tudo isto ficaria mais difícil.

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

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)* e APA quinta edição.

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. 3^a. Ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

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

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de siglas

Lista de símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Afogamento	1
1.2. Motivação	2
2. OBJETIVOS	4
2.1. Geral.....	4
2.2. Específicos.....	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1. Definição	5
3.2. Incidência e prevalência	5
3.3. Fisiopatologia da hipóxia por afogamento	7
3.4. Classificação do afogamento	9
3.5. Comprometimento cognitivo cerebral em pacientes vítimas de afogamento....	10
3.6. Achados de neuroimagem em afogamento.....	11
3.7. Princípios da Ressonância magnética funcional	13
4. HIPÓTESE	15
5. MÉTODO	16
5.1. Casuística.....	16
5.1.1. Recrutamento – fluxograma	17
5.1.2. Critérios de inclusão.....	17
5.1.3. Critérios de exclusão	18

5.2. Questionários e testes neuropsicológicos	18
5.2.1. Questionários	19
5.2.1.1. Dados pessoais	19
5.2.1.2. Classificação Socioeconômica	19
5.2.1.3. Índice de Lateralidade	20
5.2.1.4. MINI	20
5.2.2. Avaliação Neuropsicológica	21
5.2.3. VAMS Pré e Pós	24
5.2.4. Avaliação do exame de RMf	25
5.3. Ressonância magnética funcional	26
5.3.1. Sequência e parâmetros de aquisição das imagens por RM	26
5.3.1.1. Aquisição de imagens estruturais	26
5.3.1.2. Aquisição de imagens funcionais	27
5.3.2. Instrumentos para estímulos e coleta de dados comportamentais	27
5.3.3. Paradigmas da RMf	28
5.3.3.1. Paradigma de memória	29
5.3.3.2. Paradigma motor	30
5.3.4. Dinâmica do exame de RMf	31
5.3.4.1. Treino das tarefas	31
5.3.4.2. Posicionamento dos sujeitos	32
5.3.4.3. Realização do exame de RMf	32
5.4. Análise dos dados	32
5.4.1. Análise dos questionários, avaliação neuropsicológica e dados comportamentais	33
5.4.2. Análise das imagens de RM estruturais	33
5.4.3. Análise das imagens de RMf	33
5.4.3.1. Análise das imagens de RMf, considerando o cérebro inteiro	33
5.4.3.2. Análise de conectividade das imagens de RMf	35
5.4.4. Análise Estatística	36
6. RESULTADOS	37
6.1. Casuística	37
6.2. Resultado dos questionários e avaliação neuropsicológica	38

6.2.1. Questionários	38
6.2.1.1. Dados Pessoais dos voluntários	38
6.2.2. Resultados da avaliação neuropsicológica	42
6.2.3. Resultados do VAMS.....	46
6.2.4. Resultados dos dados comportamentais do exame RMf.....	47
6.2.4.1. Paradigma de memória.....	47
6.2.4.2. Paradigma motor.....	49
6.3. Ressonância Magnética	50
6.3.1. Resultados das imagens de RM estruturais	50
6.3.2. Resultados das imagens de RMf.....	50
6.3.2.1. Paradigma de memória.....	50
6.3.2.2. Paradigma motor.....	54
7. DISCUSSÃO	63
7.1. Casuística	63
7.2. Questionários e testes neuropsicológicos	68
7.3. Ressonância magnética funcional	73
7.3.1. Paradigma de memória.....	73
7.3.2. Paradigma motor.....	77
7.4. Limitações do estudo.....	82
7.5. Direções futuras	83
8. CONCLUSÕES	84
9. REFERÊNCIAS.....	87
10. ANEXOS	97

Lista de Abreviaturas

AC	Atenção Concentrada
AMS	Área motora suplementar
ANOVA	Análise de covariância
AP	Ântero-posterior
ASMD	ROI área sensitivomotora à direita
ASME	ROI área sensitivomotora à esquerda
BET	<i>Brain Extraction Tool</i> , instrumento de extração do cérebro
BOLD	<i>Blood oxygenation level dependent</i> , contraste depende do nível de oxigênio
BVMT-R	<i>Brief Visuospatial Memory Test- Revised</i>
CEP	Código de Endereçamento Postal
CID	Código Internacional de Doenças
D	Direita
DSM-IV	<i>Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders</i> , Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais
E	Esquerda
Eot	Entubação orotraqueal
EPI	<i>echo planar imaging</i> , imagem ecoplanar
FAS	Teste de Fluência verbal fonológica
FD	ROI frontal à direita
FE	ROI frontal à esquerda
FLAIR	<i>Fluid Attenuation Inversion Recovery</i>
FLIRT	<i>FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
FMRIB	<i>Centre for Functional MRI of Brain</i>
FOV	<i>field of view</i> , campo de visão
FSL	<i>FMRIB Software Library</i>
GC	Grupos controles
GLM	<i>General Linear Model</i> , modelo linear geral
GP	Grupos pacientes
hab	habitantes

HD	Hemisfério direito
HE	Hemisfério esquerdo
I.L.	Índice de lateralidade
MINI	<i>Mini International Neuropsychiatric Interview</i>
M1	Áreas motora primária
McFLIRT	<i>Motion correction using FMRIB's Linear Registration Tool</i>
NBD	ROI núcleos da base à direita
NBE	ROI núcleos da base à esquerda,
OD	Teste Dígitos Ordem Direto
OI	Teste Dígitos Ordem Indireto
P+	Pressão positiva
PD	ROI parietal à direita
PE	ROI parietal à esquerda
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>
PPI	<i>Psychophysiological interaction</i> , interação psicofisiológica
PT	Pontuação ponderada
QI	Quociente de inteligência
RAVLT	<i>Rey Auditory Verbal Learning Test</i>
RM	Ressonância magnética
RMf	Ressonância magnética funcional
ROI	<i>Region of Interest</i> , região de interesse
SARA	Síndrome da angústia respiratória em adultos
TE	Tempo de eco
TEPT	Transtorno de Estresse Pós-traumático
TI	Tempo de inversão
TR	Tempo de repetição
VAMS	<i>Visual Analog Mood Scale</i> , Escala Visual-Analógica de Humor
VBM	<i>Voxel Basic Morphometry</i>
WAIS	<i>Wechsler Adult Intelligence Scale</i> , Escala de Inteligência Wechsler para Adultos

Lista de Siglas

ABA	Associação Brasileira de Anunciantes
ABEP	Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa
ABIPEME	Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado
CAPPesq	Comissão de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa
IBOPE	Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística
ICBM	<i>International Consortium of Brain Mapping</i>
LONI	<i>Laboratory of Neuro Imaging</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
NIF	grupo de neuroimagem funcional
OMS	Organização Mundial de Saúde
SAEB	Sistema de Avaliação do Ensino Básico
UCLA	<i>University of California los Angeles</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

Lista de Símbolos

ms	milissegundos
s	segundos
Hz	Hertz
%	Porcentagem
>	Maior que
<	Menor que
=	Igual a
mm	milímetro
T	Tesla

Lista de Figuras

Figura 1	Mapa da distribuição do número de mortes por afogamento mundial em 2002 (imagem retirada do estudo de Groneberg et al, 2011).....	6
Figura 2	Algoritmo da classificação de quase afogamento/afogamento (Adaptado de Szpilman, D. 1997).....	10
Figura 3	Achados de neuroimagem em afogamento - em A, edema cerebral focal e difuso; em B e C, anormalidade do sinal de RM nos núcleos da base e em D, atrofia cerebral, principalmente no tálamo (Christophe et al, 2002 e Dubowitz et al, 1998).....	12
Figura 4	Fluxograma do recrutamento dos voluntários (vítimas de afogamento).....	18
Figura 5	Representação de paradigma de memória, a sequência das condições AB, os estímulos utilizados, a sequência de uma tentativa de cada condição e o tempo correspondente e o sistema de resposta utilizado para ambas as condições (baixa com dois botões).....	30
Figura 6	Representação do paradigma motor, sequência pseudo aleatorizada das condições ABC, a visualização da tela de apresentação (em estímulos visuais) com os comandos sonoros do início de cada condição com duração de 9 ms.....	31
Figura 7	Resultado do fluxograma de recrutamento dos voluntários (vítimas de afogamento).....	37
Figura 8	Distribuição dos grupos (em %) pela Classificação Socioeconômica.....	41
Figura 9	Distribuição dos grupos pelo Índice de lateralidade.....	42
Figura 10	Teste de Inteligência do WAIS-III (raciocínio matricial e vocabulários) e o quociente de inteligência (QI), estimado e total.	43
Figura 11	Teste de Fluência verbal fonológica (FAS) e semântica (animais e frutas) pontuado pelo número de palavras.....	44
Figura 12	Função memória visual avaliado em ambos os grupos pelos testes BVM-T-R (cópia, retenção, evocação tardia e	

	reconhecimento) através do percentil para acerto total.....	45
Figura 13	Função de memória de trabalho em ambos os grupos avaliado pelo teste Dígitos Ordem Direto (OD) e Ordem Indireto (OI) ponderado.....	46
Figura 14	Valores da análise de VAMS intra e entre grupos, antes a pós o exame de RMf.....	47
Figura 15	Paradigma de memória – média de acerto para as tentativas válidas, em porcentagem (%).....	48
Figura 16	Paradigma de memória – distribuição da média do tempo de reação nas tentativas válidas para o acerto e para o erro na resposta, em milissegundos.....	48
Figura 17	Paradigma motor – Frequência de movimento de aposição dos dedos ao polegar para cada mão, direita e esquerda, em Hz.....	49
Figura 18	Resultado do exame de RMf do paradigma de memória. a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >2,3; p<0,05); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,3; p<0,05) e c) Mapa da comparação entre os grupos 3D (GC>GP, ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 1,96; p<0,05).....	51
Figura 19	Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas 3D (Z-score > 1.96, p<0,05). a) Mapa da comparação entre os grupos, áreas ativadas; b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos; c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pelo teste de FAS e d) Mapa da comparação entre os grupos (GP>GC) ajustada pelo teste de reconhecimento do BVMT.....	52
Figura 20	Média da correlação das séries temporais das quatro ROI da rede frontoparietal bilateral em cada grupo. FD = ROI frontal à direita, PD = ROI parietal à direita, FE = ROI frontal à esquerda e PE = ROI parietal à esquerda.....	53
Figura 21	Comparação entre os mapas da casuística do estudo e da subseleção. a) Mapa da comparação entre os grupos 3D (18 GC e 15 GP) e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística 3D (18 GC e 12 GP).....	54
Figura 22	Resultado do exame de RMf do paradigma motor. a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >2,3; p<0,05); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,3; p<0,05). c1) e c2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (GP>GC, ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 2,3; p<0,05).....	55

Figura 23	Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas (Z-score > 2,3, $p<0,05$). a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (GP>GC) b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos 2D, c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste FAS 2D e d) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste de reconhecimento do BVL 2D.....	56
Figura 24	Resultado do exame de RMf do paradigma motor. a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >3; $p<0,05$); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,81; $p<0,05$); c1) e c2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (GP>GC - ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 2,3; $p<0,05$).....	57
Figura 25	Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas (Z-score > 2,3, $p<0,05$ – GP>GC). a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente; b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos; c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pelo teste de FAS e d) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pela teste de reconhecimento do BVMT.....	58
Figura 26	Resultado da análise de PPI – O região em azul, indica a máscara da ROI da área motora suplementar (AMS $x=47,y=59,z=62$). No mapa da comparação entre os grupos (GP>GC) na análise de PPI para a ROI da SMA.....	59
Figura 27	Comportamento do sinal BOLD no PPI da tarefa motora para ROI AMS (área motora suplementar) e as regiões ativadas na comparação entre os grupos (GP>GC), do hemisfério direito (HD), porção opercular do córtex frontal médio à direita e hemisfério esquerdo (HE), giro pré e pós-central à esquerda.....	60
Figura 28	Média da correlação das séries temporais das cinco ROIs em cada grupo. AMS = área motora suplementar, NBD = núcleos da base à direita, NBE = núcleos da base à esquerda, ASMD = área sensitivomotora à direita e ASME = área sensitivomotora à esquerda.....	61
Figura 29	Comparação entre os mapas de grupo utilizando a casuística do estudo e a subseleção, no contraste mão direita maior que repouso. a) Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15	

GP) (Z-score > 2,3, p<0,05) e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística (18 GC e 12 GP) (Z-score > 2,3, p<0,05).....	62
---	----

Figura 30	Comparação entre os mapas com a casuística do estudo e a subseleção. a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D, respectivamente (18 GC e 15 GP) (Z-score > 2,3, p<0,05) e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística 3D e 2D (18 GC e 12 GP) (Z-score > 2,3, p<0,05).....	62
-----------	--	----

Lista de Tabelas

Tabela 1	Pesos para marcação dos itens da Escala Analógica de Humor.....	25
Tabela 2	Distribuição do número de casos de afogamento grau 3 e 4 por ano e os casos encontrados e incluídos no estudo, no respectivo ano de ocorrência.....	38
Tabela 3	Relação dos casos de afogamento caracterizando pela idade, grau de afogamento, período que retomou a consciência, utilização de oxigênio (O ₂), pressão positiva (P+) e entubação orotraqueal (Eot), como também o tempo de internação em horas e outras manifestações clínicas após a alta hospitalar, segundo informações colhidas.....	39

Resumo

Silva MPN. Funções cognitivas em vítimas de afogamento: análise neuropsicológica e ressonância magnética funcional [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

OBJETIVO: Avaliar o desempenho em testes neuropsicológicos e a resposta hemodinâmica cerebral medida por ressonância magnética funcional (RMf) em tarefas de memória e motora numa amostra de pacientes vítimas de afogamento com perda de consciência comparados a um grupo de indivíduos saudáveis. **MATERIAL E MÉTODO:** Estudamos 15 voluntários com média de idade de 23,7 anos no grupo de pacientes, selecionados a partir de amostra de 157 vítimas de afogamento, tendo como critérios de inclusão grau 3 e 4 da Escala de Afogamento (Szpilman, D. 1997) e excluindo-se aqueles com lesões estruturais cerebrais, antecedentes de alterações neurológicas ou psiquiátricas. Este grupo foi comparado a 18 voluntários saudáveis com média de idade de 25,3 anos selecionados para o grupo controle, pareados por anos de educação formal, idade e sexo. As imagens estruturais para referência anatômica (T1 3D; FLAIR 2D) e imagens funcionais axiais eco-planar, gradiente de ecos com ponderação T2*, com voxels isotrópicos de 3mm foram adquiridas em sistema de RM de 3,0 Teslas e os estímulos apresentados visualmente e sincronizados com a aquisição das imagens. O estudo de RMf foi realizado em desenho em bloco, com tarefa motora e de memória. Os dados de RMf foram pré-processados para correção de movimento, filtro espacial e temporal e foi aplicado Modelo Geral Linearizado para identificação de áreas cerebrais associadas às tarefas e produção de mapas estatísticos limiarizados ($p < 0,05$) representando a resposta cerebral de cada grupo, corrigidos para comparações múltiplas. Foram realizados testes ANOVA na comparação entre os dois grupos quanto às áreas cerebrais detectadas nas duas tarefas, sem e com utilização de co-variáveis obtidas de parâmetros dos testes neuropsicológicos. Além disso, investigamos a conectividade entre as regiões de redes neurais de cada paradigma através da análise de PPI e análise de correlação média de regiões da rede clássica de memória e motora entre os grupos. **RESULTADOS:** O desempenho neuropsicológico dos grupos foi similar na maioria dos testes, porém os pacientes (GP) apresentaram diferença significativa com pior desempenho no teste FAS e Dígitos e melhor desempenho na parte do reconhecimento do teste BVMT em relação aos controles (GC) (FAS: GC=40,0±8,6; GP=31,7±8,9; $P=0,010$ / Dígitos: GC=14,3±3,7; GP=12,3±2,1; $P=0,050$ / BVMT reconhecimento: GC=5,6±0,05; $P=6,0$; $P=0,005$). Durante os exames de RMf o desempenho comportamental foi similar em ambos os grupos nas duas tarefas (média de acurácia: GC=70,2±11,3%; GP=73,0±10,1%; $P=0,460$ / Tempo de reação: GC=1328,6±196,8ms; GP=1163,7±198,5ms; $P=0,020$ / frequência: GC=2,9±0,9Hz;

GP=2,5±0,5Hz; P=0,108). No paradigma de memória, os controles apresentaram maior ativação em relação aos pacientes na região do giro temporal médio à direita e cuneus, giro lingual e sulco intraparietal à esquerda; esta diferença foi modulada pelo desempenho em testes neuropsicológicos de Dígitos, FAS e BVMT; não houve diferença no padrão da rede neural desta tarefa na análise PPI; houve maior correlação da rede frontoparietal à direita no grupo controle. No paradigma motor, os pacientes apresentam maior ativação em relação aos controles na região do putame e ínsula à esquerda; esta diferença foi modulada pelo desempenho em testes neuropsicológicos de Dígitos e FAS; a rede neural motora apresentou diferença entre os grupos na análise PPI: houve decréscimo da conectividade funcional entre a área motora suplementar (AMS) e as regiões do giro pré e pós-central à esquerda e porção opercular do giro frontal médio à direita nos pacientes em relação aos controles; porém, houve maior correlação da série temporal dos pacientes entre a AMS e a área sensitivomotora à esquerda. **CONCLUSÃO:** O desempenho neuropsicológico encontrado nesta amostra de vítimas de afogamento pode ser considerado normal ou com alterações leves, o que difere de estudos nessa população com diferentes graus de agressão hipóxia. As diferenças de atividade cerebral na rede associada à tarefa de memória – uma função frequentemente descrita como alterada em casos de afogamento mais severo - pode representar mecanismo de reorganização neural. A alteração do padrão de funcionamento da rede neural motora nestes pacientes corrobora as hipóteses baseadas na literatura de pacientes com agressão severa, com alta probabilidade de acometimento estrutural em núcleos da base. Os nossos resultados mostram que alterações na rede cerebral associada à função de memória e motora estão presentes mesmo sem evidente comprometimento estrutural ou neuropsicológico.

Descritores: Afogamento, Imagem por ressonância magnética funcional, memória operacional, atividade motora, Hipóxia encefálica e Testes neuropsicológicos.

Summary/Abstract

Silva MPN. Cognitive functions in drowning victims: neuropsychological assessment and functional magnetic resonance imaging [thesis]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2013.

OBJECTIVE: Evaluate the performance in neuropsychological tests and brain hemodynamic response measured by functional magnetic resonance imaging (fMRI) on memory and motor tasks in a sample of drowning victims with loss of consciousness compared to a group of healthy individuals. **MATERIAL AND METHODS:** We studied 15 volunteers (six men; mean age: 23.7 years) enlisted in the group of patients, which were selected from a sample of 157 drowning victims, with the inclusion criteria grade 3 and 4 Scale Drowning (Szpilman D., 1997) and excluding those with structural brain lesions, history of neurological or psychiatric disorders. This group was compared to 18 healthy volunteers (five men; mean age: 25.3 years matched for years of education, age and sex (control group). Structural images for anatomical reference (T1 3D, 1mm isotropic voxels; FLAIR 2D, voxels 1.2x1.2x5mm) and functional imaging axial echo - planar gradient echo T2*-weighted (Blood Oxygenation Level Dependent) with 3mm isotropic voxels were acquired in MR system of 3.0 Tesla using a 8 Ch head coil, the stimuli presented visually and synchronized with image acquisition (Zurc & Zurc, São Paulo - Brazil). The study was conducted using fMRI block design, with motor task (finger tapping) and memory (visual recognition - part of the International Consortium for Brain Mapping). Subjects' performance in the fMRI tasks were recorded using a response box and visual observation of hand movement frequency. fMRI data were preprocessed for motion correction, spatial and temporal filter was applied and General Linear Model (GLM) was used for identification of brain areas associated with the tasks. Statistical thresholded maps ($p < 0.05$) representing group response to each task were corrected for multiple comparisons. ANOVA tests were performed to compare the group maps in the two tasks, with and without using covariates obtained from neuropsychological. Furthermore, we investigated the connectivity between regions of each neural network paradigm by analyzing psychophysiological interaction (PPI) and direct correlation analysis between classical regions of the motor and memory networks. **RESULTS :** The neuropsychological performance of the groups were similar in most tests, but patients (PG) showed significant differences with worse performance in Digit and FAS tests, and a better performance in the recognition part of the BVMT test compared to controls (CG) (FAS: CG = 40.0 ± 8.6 ; PG = 31.7 ± 8.9 ; $P=0.010$ / Digits: CG = 14.3 ± 3.7 ; PG = 12.3 ± 2.1 ; $P=0.050$ / Recognition BVMT: CG = 5.6 ± 0.05 ; PG = 6.0 ; $P=0.005$). Behavioral performance was similar in both groups on both fMRI tasks (mean accuracy: CG = $70.2 \pm 11.3\%$; PG = $73.0 \pm 10.1\%$; $P=0.460$ / RT: CG = $1328.6 \pm 196.8\text{ms}$; PG = $1163.7 \pm 198.5\text{ms}$; $P=0.020$ / frequency: CG = $2.9 \pm 0.9\text{Hz}$; PG = $2.5 \pm 0.5\text{Hz}$; $P=0.108$). In the memory task, controls showed greater activation compared to patients in the middle temporal gyrus and right cuneus, lingual and borders of the left intraparietal sulcus; this difference was modulated by performance on Digits, FAS and BVMT

tests; we found no difference in the pattern of neural network on PPI analysis; there was, however, a higher correlation of the right frontoparietal network in the control group. In the motor task, patients showed greater activation than controls in the region of the putamen and left insula; this difference was modulated by performance on neuropsychological tests of Digits and FAS in the left hand task; the motor neural network differed between groups in PPI analysis: there was a decrease of functional connectivity between the supplementary motor area (SMA) and the regions of the left pre- and post-central gyrus and opercular portion of the right middle frontal gyrus in patients compared to controls; on the other hand, there was greater correlation between the time series of the AMS and the left sensorimotor area in patients. **CONCLUSION:** The neuropsychological performance differences found in this sample of drowning victims can be considered normal or mild abnormalities, which differ from studies using drowning population with varying degrees of hypoxia. Differences in brain activity in the network associated with memory task - a function often affected in more severe cases of drowning - may represent a neural reorganization mechanism. The changes in the motor neural network in these patients confirm the hypotheses based on the literature of patients with severe aggression, who have a high probability of structural involvement in the basal ganglia. Our results show that changes in brain network associated with memory function and motor are present even without apparent structural or neuropsychological impairment.

Descriptors : Drowning , functional magnetic resonance imaging , working memory, motor activity, Hypoxia brain, Neuropsychological tests.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Afogamento

Segundo o Consenso de 2005, o afogamento representa o conjunto de processos resultantes da dificuldade respiratória primária por submersão/imersão em líquido. Implícito a esta definição está a presença de líquido/ar nas vias aéreas da vítima, impedindo a vítima de continuar respirando. Havia outra definição: quase-afogamento compreenderia os casos nos quais as vítimas sobreviveram, enquanto afogamento seria reservado apenas àquelas que faleceram em decorrência do episódio. Portanto, a vítima pode sobreviver ou morrer depois deste processo, mas para qualquer fim, esta se envolveu em acidente de afogamento, é considerada, uma vítima de afogamento ("Utstein Style" Consensus Conference on Drowning, 2005). Representa um problema de saúde pública e dados a respeito de frequência e condições de risco têm determinado as bases de várias ações governamentais para a prevenção deste tipo de acidente. Entretanto, em relação à repercussão em nível pessoal e social de vítimas do afogamento, ações de política pública específicas de suporte para esta condição são inexistentes. As evidências científicas que possam direcionar estas ações quanto à assistência física e psicológica das vítimas são inexpressivas devido à ausência de instrumentos e estudos para aferir a influência do evento na qualidade de vida desta população. Tragédias ambientais de grande magnitude, como "tsunamis", seguida ou não de terremotos, transbordo pluvial ou fluvial estão evidenciando a necessidade de melhorar o equipamentos de assistência pública. Este ajuste é necessário para minimizar o impacto na qualidade de vida da população envolvida, principalmente os componentes físicos e psíquicos.

Neste contexto, os aspectos físicos e psicológicos são evidenciados apenas em estudos de relato de caso. Em estudos clínicos com acompanhamento ou seguimento temporal é frequentemente negligenciado. A utilização dos testes de avaliação motora e neuropsicológica mostra somente o grau de comprometimento neurológico como moderado ou severo. Até a presente data, na literatura científica somente poucos casos abordam a descrição de acometimentos neuropsicológicos após o evento de afogamento.

Achados de neuroimagem de indivíduos após evento de afogamento também não são frequentemente evidenciados. Alguns estudos (Claesson et al 2008, Bruke et al 2007) descrevem associação do evento de afogamento com edema cerebral focal ou difuso, alteração do sinal de ressonância magnética nos núcleos da base com presença de regiões de atrofia cerebral, também evidentes no tálamo. Em artigo de revisão sistemática mostramos que as principais alterações de imagem estrutural encontradas em 8 estudos selecionados foram edema cerebral difuso ou focais, principalmente nas regiões fronto-parietais, anormalidade nos núcleos da base, mais evidente no núcleo lentiforme e putâme e regiões de atrofia cerebral. (Nucci-da-Silva e Amaro Jr, 2009)

Desta maneira, há ainda várias perguntas relacionadas às alterações cerebrais que precisam ser respondidas. Esta tese contém alguns resultados que podem, em parte, responder às questões relacionadas à repercussão de episódios de afogamento em testes neuropsicológicos e na organização da atividade cerebral de algumas funções cognitiva e motora.

1.2. Motivação

O ponto de partida inicial deste projeto veio de uma pergunta originada na prática clínica da candidata. Sendo fisioterapeuta e exercendo a profissão como fisioterapeuta de um serviço médico localizado em zona de alta incidência de afogamento (Hospital Santo Amaro – Guarujá, SP), permitiu acompanhar vários casos de pacientes vítimas de afogamento, sendo frequente o atendimento de pacientes com sequelas – não apenas destes casos, mas também de pacientes com outros tipos de agressão. Surgiu então uma dúvida: se haveria alguma particularidade no processo de lesão cerebral hipóxia por afogamento, pois, apesar de enviesada pela experiência pessoal e a vivência clínica, os aspectos clínicos e de reabilitação desta população eram distintos dos outros pacientes com lesão cerebral hipóxica por outros mecanismos. O quadro de espasticidade era muito severo e as funções cognitivas, como memória pareciam menos comprometidas ao comparar com outros pacientes com encefalopatia hipóxia.

A interação da constatação da prevalência e da diferença do padrão de comprometimento cognitivos e motores nos pacientes vítimas de afogamento e a escassa literatura científica a respeito da caracterização dos efeitos do afogamento em áreas cerebrais distintas motivou a realização deste estudo.

Ainda, levando-se em conta as dimensões continentais de nosso país, e a área litorânea de praias aprazíveis ao uso recreativo, o Brasil tem grande potencial para riscos de afogamento, sendo este assunto de interesse nacional. Ao mesmo tempo, chamou a atenção a pouca quantidade de artigos na literatura tratando do tema de resposta cerebral à agressão hipóxia episódica e em indivíduos saudáveis.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o desempenho em testes neuropsicológicos e a resposta hemodinâmica cerebral medida por ressonância magnética funcional em tarefas de memória e motora numa amostra de pacientes vítimas de afogamento com perda de consciência comparada a um grupo de indivíduos saudáveis (controles).

2.2. Específicos

1. Verificar o desempenho neuropsicológico dos grupos de pacientes vítimas de afogamento e de controles, comparando resultado destes grupos.
2. Descrever as áreas com resposta hemodinâmica cerebral, a modulação da resposta cerebral pelos resultados dos testes neuropsicológicos e o padrão de conectividade das redes neurais observados na tarefa de memória de ressonância magnética funcional (RMf), comparando os resultados dos grupos de vítimas de afogamento e de controles.
3. Descrever as áreas com resposta hemodinâmica cerebral, a modulação da resposta cerebral pelos resultados dos testes neuropsicológicos e o padrão de conectividade das redes neurais observados na tarefa motora de RMf, comparando os resultados dos grupos de vítimas de afogamento e de controles.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Definição

A definição de afogamento mais utilizada atualmente e adotada nesta tese é: o conjunto de processos resultantes da dificuldade respiratória primária por submersão/imersão em líquido. Implícito à definição está a presença de líquido/ar nas vias aéreas da vítima, impedindo a vítima de continuar respirando, determinada na "Utstein Style" Conferência de Consenso sobre afogamento de 2005, com a unificação do termo.

No estudo de Papa et al., (2005), foi feita uma revisão sistemática de aproximadamente 6000 artigos sobre definições e incidência de afogamento, no período de 1966 a 2002, e vários termos foram encontrados para descrever afogamento, como: quase afogamento, acidente de submersão, acidente de imersão, sufocamento, asfixia, acidentes em águas, afogamento passivo, afogamento silencioso, afogamento secundário, afogamento ativo e afogamento seco.

Para unificação da terminologia foi recomendada a utilização do termo afogamento para qualquer incidente em águas e o desuso do termo "quase afogamento" dentre outros termos, enfatizando também a classificação do afogamento pelo tipo de líquido submerso (água salgada ou água doce). Esta medida possibilitou uma melhor estimativa do problema do afogamento no mundo (Idris et al., 2003).

3.2. Incidência e prevalência

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), 0,7% de todos os óbitos no mundo ocorrem por afogamento não intencional (Dados da *World Health Organization* de 2003 - www.who.int/violence_injury_prevention), perfazendo mais de 500.000 (8.5 óbitos/100.000 hab) óbitos anuais passíveis de prevenção (Peden et al, 2003). Entretanto, o número exato é desconhecido em razão de casos não notificados, sem confirmação de óbito (Dietz e Baker, 1984). A incidência predomina em regiões e países de baixo poder aquisitivo e renda per-capita. Como o

Código Internacional de Doenças (CID 10) é ainda inadequadamente preenchido (Szpilman D, 2011) e possui falhas na identificação correta do problema, estes números são ainda subestimados, mesmo em países desenvolvidos (Lu et al, 2010 e Passmore et al 2007). Afogamentos por enchentes e tsunamis não são muitas vezes contabilizados como afogamento.

O estudo de avaliação cienciométrica sobre afogamento de Groneberg (2011) proporcionou melhor compreensão da situação mundial do afogamento e também a visualização do número total de mortes por afogamento em cada país e sua distribuição no ano de 2002. A China e a Índia lideram no número de vítimas por afogamento, seguidos pela África e em baixa incidência estão América Central, Canadá, Austrália e Europa Ocidental (Groneberg et al, 2011). O Brasil está entre os países de incidência intermediária (na cor laranja), acima de 5000 casos notificados.

Figura 1 - Mapa da distribuição do número de mortes por afogamento mundial em 2002 (imagem retirada do estudo de Groneberg et al, 2011).

Em 2009, no panorama nacional o afogamento foi, a 2ª causa geral de óbito entre 1 e 9 anos, a 3ª causa nas faixas de 10 a 19 anos, a 4ª na faixa de 20 a 24, a 6ª entre 25 e 29 anos, perfazendo a 7.152 (3.7/100.000 hab) óbitos por afogamento. A mortalidade por afogamento vem declinando no Brasil nos últimos 29 anos (1979 a 2007), comparando dois períodos de 5 anos (de 2000 a 2004 e de 2005 a 2009) houve

uma redução no número de eventos em 11 estados, 9 permaneceram inalterados e 7 aumentaram a mortalidade. Entre os de maior destaque na redução estão SP (26%), Roraima (23%) e Rio Grande do Sul (20%). O Distrito Federal apresenta a menor taxa (1.99/100.000), seguido pelos estados do Rio de Janeiro (2.35) e São Paulo (2.67) (Szpilman D., 2012).

O afogamento pode ser subdividido em causas intencionais: suicídio e homicídio, e não intencionais: piscina, secundário a queda (em banheira, piscina e rio), secundário a acidente com embarcações ou transporte aquático e em águas naturais (praias, lago, cachoeira, rios, represas). No presente estudo foram incluídos somente os casos de afogamento em mar, por causa não intencionais, pertencentes a classificação afogamento em águas naturais (canais, praias, lagos, rios e represas).

3.3. Fisiopatologia da hipóxia por afogamento.

A fisiopatologia da hipóxia por afogamento é extremamente complexa e, durante o episódio de afogamento, lesões cerebrais podem ser causadas por uma variedade de fatores, incluindo hipóxia cerebral, hipercapnia, laringo espasmo, comprometimento pulmonar e alterações hemodinâmicas levando à parada cardíaca (Levin et al, 1995)

O afogamento é uma causa comum de encefalopatia hipóxia, mas não a única. Desta maneira nos estudos que envolvem relatos de encefalopatia hipóxia, normalmente casos de afogamento estão entre os outros tipos de hipóxia como: por enforcamento, intoxicação por monóxido de carbono ou por metanol, parada cardíaca, asfixia por obstrução de vias aéreas ou aspiração de corpo estranho (Baldursdottir et al, 2010; Holshouser et al., 1997; Christophe et al., 2002; Auld et al., 1995; Mandel et al., 2002).

O processo do afogamento inicia-se quando a face da vítima fica abaixo da superfície da água, dificultando a respiração. Durante este período pode ocorrer o laringoespasmo secundário à presença de líquido na região da orofaringe ou laringe, fazendo com que a vítima não consiga respirar, resultando em um quadro de hipoxemia, hipercapnia e acidemia. Nesta fase a vítima frequentemente engole grande quantidade de líquido e há um rebaixamento dos reflexos protetores das vias

aéreas superiores, resultando na aspiração de líquido, contribuindo também para o desenvolvimento da hipoxemia, promovendo efeitos cardiovasculares, como a parada cardíaca. A vítima pode ser socorrida em qualquer momento neste estágio, quanto mais rápido for o resgate, menores serão os riscos. O coração e o cérebro são os dois órgãos de maior risco para lesões permanentes, devido ao tempo de hipoxemia. O desenvolvimento de encefalopatia pós hipóxia com ou sem edema cerebral é a causa mais comum de morte em vítimas de afogamento hospitalizadas ("Utstein Style" Consensus Conference on Drowning, 2005).

Segundo Carvalho et al, em 2002, há dois tipos de afogamento, sendo que esta diferenciação ocorre no processo inicial do afogamento: o seco e o úmido. O primeiro acontece em 10 a 20% das vítimas e não ocorre a aspiração de líquido. O segundo é mais prevalente, observado em 80% a 90% dos casos e no qual a aspiração de líquido acontece devido ao rebaixamento dos reflexos protetores das vias aéreas superiores. Independente destes mecanismos, o autor constata que a lesão hipóxia do sistema nervoso central é semelhante.

A lesão neurológica no afogamento resulta de uma combinação de alguns fatores, a asfixia, decorrente da submersão, resultando em hipoxemia e acidose tissular; isquemia completa, quando ocorre a parada cardíaca; isquemia incompleta, depois de iniciado a reanimação há um retorno do fluxo sanguíneo cerebral entre 5 a 10% do normal, e hipoxemia decorrente do acometimento pulmonar em resposta ao líquido aspirado (Carvalho; Nakazora 2002).

A diferença do acometimento pulmonar pela aspiração de líquido salgado ou doce, isto é, afogamento em água salgada ou doce é um tema abordados em alguns estudo forenses no auxílio do diagnóstico diferencial como o estudo de Hayashi (2008), que baseada nas alterações intrapulmonares ao nível molecular, comparados em experimento em animais (ratos) e em 28 pulmões de casos de afogamento autopsiados, observando alterações intrapulmonares como a implicação da expressão de aquaporina 5 e as alterações de células epiteliais alveolares tipo I em líquidos hipotônica (água doce) e hipertônicos (água salgada) na permeabilidade osmótica pulmonar, possibilitando o diagnóstico em afogamento em água doce ou água salgada (Hayashi et al, 2008). O acometimento do epitélio alveolar pulmonar tipo I e II e evolução do quadro pulmonar para Síndrome da Angústia Respiratória

em Adultos (SARA) nos casos de afogamento são frequentes (Gregorakos et al, 2009). Estudos demonstraram que os afogamentos em mar não alteram a qualidade, somente comprometendo a quantidade do surfactante pulmonar, diferentemente dos afogamentos em água doce, em que ocorrem alterações qualitativas e quantitativas produzindo maior grau de áreas atelectasiadas (Orlowski et al., 1987 e 1989; Giammona & Modell, 1967).

3.4. Classificação do afogamento

Em 1972, Menezes e Costa propuseram uma classificação dividindo os casos de quase afogamento/afogamento em quatro graus de gravidade, grau 1 mostra ausculta pulmonar normal, grau 2 mostra ausculta pulmonar anormal em bases, grau 3 mostra ausculta pulmonar compatível com edema e grau 4 parada cardiorrespiratória. Em 1997, Szpilman D. fez uma reavaliação da classificação proposta anteriormente acrescentando outros parâmetros clínicos para evolução da gravidade do quase afogamento/afogamento.

Esta nova classificação é baseada em um estudo retrospectivo de 41.279 casos de resgates em água, registrados por guardas-vida no período de 1972 a 1991. Desta população, 2.304 casos necessitaram de cuidados médicos, como internação, suporte respiratório não invasivo ou invasivo, dentre outros. A classificação de afogamento avalia os parâmetros clínicos no primeiro exame, no local do incidente, sendo avaliado o nível de consciência, o grau de insuficiência respiratória, a quantidade de líquido aspirada ou não e as consequências hemodinâmicas decorrentes do processo de hipóxia (Szpilman D., 1997).

- Grau 1- inclui pacientes que aspiraram pequena quantidade de água, suficiente para provocar irritação em vias áreas superior, com ausculta pulmonar normal e tosse.
- Grau 2- inclui pacientes que aspiraram moderada quantidade de água, suficiente para causar alteração dos gases alvéolo capilar no pulmão e com ausculta pulmonar anormal.

- Grau 3- ausculta pulmonar anormal característica de edema de pulmão, com pressão arterial sistêmica normal.
- Grau 4- ausculta pulmonar anormal característica de edema de pulmão, com hipotensão arterial sistêmica.
- Grau 5 – lesão pulmonar (apnéia) sem comprometimento cardíaco.
- Grau 6- parada cardíaca e respiratória.

Esta será a classificação utilizada neste projeto de pesquisa para a seleção dos pacientes.

Figura 2 - Algoritmo da classificação de quase afogamento/afogamento (Adaptado de Szpilman, D. 1997).

3.5. Comprometimento cognitivo cerebral em pacientes vítimas de afogamento.

Os principais comprometimentos decorrentes do afogamento são: morte cerebral devido à hipoxemia severa ou lesão cerebral isquêmica, síndrome da angústia respiratória aguda, disfunção sistêmica de múltiplos órgãos secundária a hipoxemia severa ou a lesão isquêmica e síndrome séptica atribuída à pneumonia

aspirativa ou infecção nosocomial. ("Utstein Style" Consensus Conference on Drowning, 2005).

Dentre os diferentes tipos de encefalopatia anóxica, o afogamento é o que tem o pior prognóstico (Kriel et al., 1994). Nos estudos que avaliaram casos de afogamento por meio do desempenho neuropsicológico, os pacientes apresentaram predominantemente comprometimento da função motora como: ataxias, distonias, tetraplegia; seguida por descrições de alterações em atenção dividida, memória visual e verbal, principalmente na codificação, dominância visuo-espacial e fluência verbal (Pierro et al., 2005; Hughes et al., 2002; Chistophe et al., 2002; Dubowitz et al., 1998; Holshouser et al., 1997; Kreis et al., 1996; Auld et al., 1995; Samuelson et al., 2008, Koo et al, 2011; Suominen et al, 2010 e Bell et al, 1985). Outras alterações também foram descritas como pior desempenho na memória operacional, funções executivas e coordenação motora fina (Amicuzi et al, 2005; Ceulemans et al, 2008).

3.6. Achados de Neuroimagem em afogamento

Estudos de RM em lesões cerebrais após evento de afogamento são muito raros. No estudo de revisão sistemática a respeito de achados de imagem de RM e espectroscopia em lesões cerebrais por afogamento realizado em nosso grupo, alguns padrões ficaram mais evidentes. A investigação de trabalhos publicados no período de 1996 a 2008 demonstra que de 33 estudos sobre afogamento, somente 8 apresentaram descrições relevantes sobre imagem de RM. Os principais achados na revisão foram: presença de edema cerebral em 78,26%, sendo 13,89% focais e 86,11% difuso; anormalidade no sinal da RM nos núcleos da base e tálamos em 75%, destes 37% especificaram o núcleo acometido (núcleo lentiforme, globo pálido, caudado, putâme e tálamo); alterações no córtex cerebral (região parietal e occipital); atrofia cerebral difusa em 36% e regiões de infarto em 14,56%, principalmente na região do tálamo (Nucci-da-Silva e Amaro Jr, 2009)

Figura 3 Achados de neuroimagem em afogamento - em A, edema cerebral focal e difuso; em B e C, anormalidade do sinal de RM nos núcleos da base e em D, atrofia cerebral, principalmente no tálamo (Christophe et al, 2002 e Dubowitz et al, 1998).

Os achados nas imagens de RM convencional representam importante fonte de informação e ferramenta na avaliação do paciente, porém se limitam a avaliação estrutural. A RMf tem sido aplicada para o entendimento de algumas características do funcionamento cerebral em doenças neurológicas e psiquiátricas.

A pesquisas com pacientes clínicos utilizando a RMf são geralmente conduzidas tendo como comparação um grupo de controle saudáveis. Este desenho experimental, quando mantido desempenho comportamental semelhante entre os grupos, pode evidenciar diferenças de ativação nas redes neurais refletindo mecanismos compensatórios em regiões com maior susceptibilidade de lesão.

Em particular, acreditamos que a RMf pode ajudar a entender as diferenças de ativação cerebral em pacientes vítimas de afogamento quando submetidos a determinadas tarefas, limitadas a um conjunto particular de funções neurais. No presente estudo tarefas de memória e motora serão o foco de análise para as diferenças de ativação cerebral.

3.7. Princípios da ressonância magnética funcional

A RMf é uma técnica de neuroimagem não invasiva que permite investigar as mudanças da função cerebral ao longo do tempo (Huettel, Song & MacCathy et al, 2009). O entendimento da cadeia de eventos que leva a detecção indireta da atividade neural compreende eventos ainda em estudo. A seguir mostramos os principais

passos e suas bases para o entendimento e interpretação de resultados da análise de imagens obtidas nesta técnica.

Numa determinada região dita como ativada, ocorre considerável aumento do fluxo sanguíneo oxigenado, comparado a pouco aumento do consumo de oxigênio; em consequência, a concentração de desoxi-hemoglobina diminui. Lembrando-se que altos níveis de desoxi-hemoglobina levam a queda de sinal em sequência ponderada em T2 na RM, a redução de sua concentração em áreas ativadas corresponderá aumento do sinal. Logo, podemos detectar áreas ditas ativadas como tendo sinal aumentado em sequência ponderada em T2.

Em 1992, Kwong e colaboradores demonstraram a possibilidade de utilização de contraste intrínseco (sangue com diferentes graus de oxigenação) para identificação de áreas cerebrais relacionadas a tarefas cognitivas realizadas por seres humanos (Kwong, Belliveau et al. 1992). Os seus estudos foram baseados nas propriedades magnéticas distintas da oxi-hemoglobina e da desoxi-hemoglobina, segundo observações “in vitro” realizadas por Thulborn e colaboradores (Thulborn, Waterton et al. 1982), “in vivo” demonstradas por Ogawa (Ogawa et al. 1990) e Turner (Turner et al. 1991); e nos estudos do consumo de oxigênio, de glicose e aumento do fluxo sanguíneo em áreas corticais ativadas, pelo *Positron Emission Tomography* (PET) (Fox and Raichle, 1986; Frackowiak et al., 1997) e mais recentemente por RM (Mandeville, Marota et al. 1999). As principais ideias que contribuíram para o surgimento da RMf são relacionadas nos parágrafos seguintes. Na corrente sanguínea, o transporte de oxigênio é realizado quase que exclusivamente pela molécula de hemoglobina. Esta, em condições normais, encontra-se no interior das hemácias. As propriedades magnéticas da hemoglobina no estado máximo de saturação de oxigênio (oxi-hemoglobina) e no estado de saturação parcial (desoxi-hemoglobina) são diferentes. A desoxi-hemoglobina apresenta 5 elétrons não pareados em estado de alta energia que lhe confere paramagnetismo (propriedade que é relacionada à capacidade de alinhamento com o campo magnético), o que por sua vez, altera o campo magnético ao seu redor, aumentando a magnitude dos vetores do campo magnético. A oxi-hemoglobina não apresenta elétrons não pareados de alta energia, não causando distúrbio magnético diferente da maioria das moléculas do plasma e as regiões inter e intracelular. Desta

forma o microambiente magnético dentro das hemácias com concentração elevada de desoxi-hemoglobina torna-se diferente daquele do sangue livre ao redor, sendo o campo magnético maior no seu interior quando comparado ao plasma circunjacente. Esta heterogeneidade de campos magnéticos na vizinhança das hemácias é tanto maior, quanto maior for a concentração de desoxi-hemoglobina no seu interior.

Em sequências de pulso utilizadas para imagens fortemente ponderadas pelo efeito de relaxação transversal ou “spin-spin” (T2), as áreas em que há maior heterogeneidade dos microambientes magnéticos apresentam perda da coerência de fase com decaimento exponencial mais rápido que em áreas homogêneas; a este decaimento exacerbado dá-se o nome de efeito de susceptibilidade magnética. (Diemling et al., 1997; Gati et al., 1997). Este fenômeno é o motivo da queda do sinal de RM em áreas em que há hemácias com maior concentração de desoxi-hemoglobina comparado com áreas com menor concentração (em que os campos magnéticos no interior das hemácias e no plasma sanguíneo a sua volta são mais semelhantes). As sequências sensíveis à susceptibilidade magnética causada pela desoxi-hemoglobina (a sigla BOLD – “blood oxygenation level dependent”, cunhada por Ogawa et al., designa este tipo de sequência (Ogawa et al., 1990) constituem a técnica de eleição em imagem por RM para identificação das áreas ativas no cérebro durante determinada atividade neuronal. Em resumo, em locais em que a relação da concentração de oxi-hemoglobina dividida pela concentração de desoxi-hemoglobina ($[\text{oxi-hemoglobina}]/[\text{desoxi-hemoglobina}]$) é alta, temos alto sinal em sequências ponderadas em T2.

Uma vez sendo possível detectar variações da concentração local de desoxi-hemoglobina, é necessário entender os passos que relacionam a atividade neuronal ao aumento de fluxo sanguíneo regional e as suas implicações na concentração local de desoxi-hemoglobina.

O grupo de neuroimagem funcional (NIF) do Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo tem realizado experimentos com esta técnica e implementado controle de qualidade e de análise de imagem (Biazoli et al, 2012). A partir de desenvolvimento de técnicas de aquisição e de análise os pesquisadores do NIF detém hoje experiência em projetos que envolvam RMf.

4. HIPÓTESES

A nossa hipótese é de que haverá diferença no desempenho cognitivo e motor após evento de afogamento, evidenciado nos testes de memória e função motora (Pierro et al., 2005 e Hugles et. al, 2002; Pearn et al., 1977; Samuelson et al., 2008). Esta diferença deverá ser mais acentuada nas funções motoras, que na função de memória, característica esta comum nos pacientes acompanhados durante a experiência clínica da autora e evidenciada nos casos descritos pela literatura (Bratton et al., 1994; Kruus et al, 1979).

Também acreditamos que haverá diferença no padrão de atividade cerebral entre estas populações, como também na rede neural das tarefas testadas na RMf. Entre as funções testadas, acreditamos que a função motora será mais acometida.

A comparação entre os grupos deverá demonstrar sinais de redução da amplitude do efeito *Blood oxygenation level dependente* (BOLD) nas regiões primárias motoras. Deve haver re-alocação de áreas cerebrais, no caso da função motora, aumento de atividade em áreas pré-motoras. A linguagem poderá também apresentar alterações de localização.

Comparando a relação entre os testes neuropsicológicos e o efeito BOLD, esperamos encontrar diferentes áreas correlacionadas ao desempenho entre os grupos. A partir de característica de re-alocação de áreas, esperamos detectar maior correlação entre as áreas primárias em controles em relação aos pacientes.

5. MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com desenho prospectivo. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 29 de março de 2007, sob o Protocolo de Pesquisa número 0004/07 (anexo A). A coleta de dados estendeu-se de outubro de 2010 a março de 2013.

5.1. Casuística

A população alvo para o presente estudo foi constituída por vítimas de afogamento em mar, por causa não intencionais, pertencentes a classificação afogamento em águas naturais (canais, praias, lagos, rios e represas), da cidade do Guarujá entre os anos de 2006 a 2010 e voluntários sadios pareados por sexo e idade.

O recrutamento das vítimas de afogamento foi realizado com a colaboração do 17º Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista, que disponibilizou o banco de dados, conforme autorização oficial do responsável pelo órgão (anexo B). Foi elaborada uma carta convite aprovada pela CAPPesq, em sessão de 10 de setembro de 2008 (anexo C) enviada via correios para os endereços da lista obtida do 17º Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista. Foi também realizada uma chamada para a captação de voluntários na imprensa escrita (Jornal METRONEWS, 15/08/2011) sendo o texto aprovado pela CAPPesq, em sessão de 22 de julho de 2011 (anexo D). Devido às dificuldades encontradas no acesso aos voluntários com mais de 18 anos, optamos por solicitar a autorização da Comissão Ética Análise de Projeto de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, a alteração do critério da faixa etária dos voluntários, passando a ser recrutados voluntários com idade superior a 16 anos, a autorização da mudança da faixa etária e do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido foi aprovada em sessão de 17 de janeiro de 2013 (anexo E)

5.1.1. Recrutamento – fluxograma

A primeira etapa para o recrutamento dos voluntários foi a análise do banco de dados segundo os critérios de inclusão e exclusão, descritos na sequência. Após realizada a seleção dos possíveis voluntários foi iniciada o contato telefônico e análise dos endereços através de ferramentas da internet como busca CEP (Código de Endereçamento Postal) e Google mapas, para complementação de dados faltantes e certificação de endereço correto.

Todos os contatos foram realizados pela pesquisadora responsável e de acordo com a logística aprovada pela CAPPesq. Durante a conversa com o voluntário foi realizada uma breve explicação do projeto, a averiguação das causas do afogamento e finalmente foi realizado o convite para participar do estudo. Em caso de aceitação em participar do projeto foi verificada a disponibilidade do sujeito para um futuro agendamento de entrevista e realização do exame de RMf.

Nos casos de endereços e telefones inexistentes foram reenviados as cartas ou telefones para uma nova tentativa. Em alguns casos de endereço inexistente, foi utilizada a pesquisa de campo como complementação.

Os voluntários sadios foram recrutados da cidade do Guarujá e São Paulo. O critério de seleção foi parear com as características do grupo de paciente quanto ao sexo, idade e quociente de inteligência (QI).

5.1.2. Critérios de inclusão

- Homens ou mulheres vítimas de afogamento em água salgada (praia), classificados com grau 3 ou 4 de afogamento. Classificação indicada no trabalho de Szpilman D., 1997.
- Maiores de 16 anos;
- Sem antecedentes de doença neurológica;
- Nível de educação primário com escolaridade mínima de 4 anos;
- Outorga por escrito de consentimento informativo para participar do estudo.
- Moradores de São Paulo e região metropolitana ou Guarujá.

5.1.3. Critérios de exclusão

- Voluntários que apresentam contra-indicação ao exame de RM (marca-passo, neuroestimulador, clipe intracraniano, implante coclear, etc)
- Voluntário com história de epilepsia, neurocirurgia, trauma craniano ou outras alterações neurológicas.
- Paciente com alteração do nível de consciência e/ou função motora por uso de drogas, álcool, ou hipotermia.
- Paciente com dependência química.
- Doença orgânica grave não controlada que possa interferir na condução do estudo, como neoplasias, cardiopatias, pneumopatias, patologias digestivas, Diabetes Mellitus tipo I ou tipo II.
- Presença de artefatos de dentística que causem distúrbios no campo magnético ou quaisquer fontes de variação da susceptibilidade magnética.
- Qualquer outra condição que, na opinião do investigador responsável, torne problemática a inclusão do paciente em um ensaio dessa natureza, assim como adesão e cooperação dos voluntários.

O procedimento de recrutamento seguiu o fluxograma abaixo.

Figura 4 - Fluxograma do recrutamento dos voluntários (vítimas de afogamento).

5.2. Questionários e testes neuropsicológicos

Foi solicitada aos participantes a leitura do termo de Consentimento Livre e Esclarecido e termo de Assentimento Livre e Esclarecido, aos menores de 18 anos (anexo F), antes do início da entrevista, visando esclarecimento de dúvidas a respeito do projeto e sua execução. Posteriormente, este documento foi assinado em duas vias, uma do paciente/voluntário e outra do pesquisador.

Todos os participantes responderam os questionários antes de realizarem o exame de RMf e os testes neuropsicológicos ocorrem antes ou após do exame, porém todos no mesmo dia.

5.2.1. Questionários

5.2.1.1. Dados Pessoais

Dentre os dados pessoais foram coletadas as seguintes informações: nome, idade, gênero, endereço, telefone, email, estado civil, escolaridade, atividade profissional, medicação atual, peso, altura, alimentação prévia ao exame, realização anterior de exame de RM, existência de próteses ou qualquer outro fator que impossibilite a realização do exame de RMf.

Para os voluntários que passaram pelo incidente de afogamento foram questionados também dados relacionados ao incidente: quem retirou a vítima da água (Salva-vidas, surfistas ou amigos), se necessitou reanimação na areia, quem fez o resgate da vítima até o hospital, o período em que retomou a consciência (na areia, durante o resgate ou no Pronto Atendimento), utilização de suporte de oxigênio (durante o transporte ou somente no atendimento hospitalar), necessidade de entubação orotraqueal ou ventilação com pressão positiva, alterações hemodinâmicas (bradicardia, taquicardia, hipotensão ou hipertensão), utilização de colchão térmico, tempo de internação e presença de alguma queixa após o afogamento, quanto a memória, atenção, linguagem, coordenação e câimbras. (Anexo G)

5.2.1.2. Classificação Socioeconômica

A avaliação de classificação econômica foi realizada segundo o Critério de Classificação Econômica Brasil (ABEP - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa - 2012) (Anexo H). O critério classifica o participante em uma das 8 classes econômicas (A1, A2, B1, B2, C1, C2, D e E) por meio da avaliação da posse de itens. Os critérios foram elaborados com base no levantamento Socioeconômico do Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística (IBOPE) de 2010.

5.2.1.3. Índice de Lateralidade

O inventário de Edimburgo (Oldfield, 1971) foi utilizado para estimar o índice de lateralidade (I.L.). Os participantes são orientados a marcar sua lateralidade de preferência para 12 atividades, tais como: escrever, chutar bola, desenhar entre outras. Em caso de preferência absoluta para um lado, assinalam-se duas cruzes para o lado referido. Em caso de não preferência, assinala-se uma cruz para cada lado.

Os resultados são obtidos somando-se um ponto para cada cruz assinalada e aplicando-se seguinte formula $I.L. = (D-E)/(D+E)$.

Onde I.L maior que 0 caracteriza destros e I.L menor que 0, caracteriza canhotos (anexo I).

5.2.1.4. MINI (*Mini International Neuropsychiatric Interview*)

MINI é uma entrevista diagnóstica estruturada (MINI Plus 5.0.0, versão brasileira Amorin, 2002) para a identificação dos principais transtornos psicóticos e de humor, por meio das respostas do participante é conduzida até uma possível classificação diagnóstica de acordo com Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM-IV) ou a conclusão de ausência de transtornos psicóticos e de humor.

Para diagnóstico de Transtorno de Estresse Pós Traumático (TEPT) o participante tem que referir no mínimo 5 sintomas (dificuldade para dormir, dificuldade para se concentrar, irritabilidade com explosões de raiva facilmente, perda de interesse pelas coisas que mais gostava, estado de nervosismo constante com sobressaltos por quase nada, impressão de se ter tornado estranho aos outros, impressão que sua vida não seria nunca mais a mesma); que de uma maneira exacerbada interferiam na sua qualidade de vida no último mês.

5.2.2. Avaliação Neuropsicológica

A avaliação neuropsicológica dos voluntários foi realizada através de um conjunto de testes e a escolha dos testes foi definida a partir dos domínios cognitivos avaliados por cada um deles, pela disponibilidade de versões traduzidas e validadas na população brasileira e cuja aplicação foi verificada em estudos prévios com esta população. A duração da avaliação através dos testes de inteligência, memória (verbal, visual e operacional), atenção e funções executivas, variando entre 40 a 50 minutos, aplicados pela neuropsicóloga Katerina Lukasova.

O QI estimado foi avaliado através dos subtestes raciocínio matricial e vocabulário da Escala de Inteligência Wechsler para Adultos - WAIS-III (Wechsler., 2004). Estes dois subtestes são considerados como as mais adequadas medidas de capacidade intelectual geral, porque juntos avaliam tanto a inteligência fluida como a cristalizada.

O subteste de raciocínio matricial proporciona uma avaliação do raciocínio não verbal por meio de quatro tipos de tarefas: completar padrões, classificação, analogia e raciocínio serial. Todas as tarefas foram apresentadas em forma de uma matriz, na qual estava faltando uma parte e o voluntário foi orientado a achar a melhor opção que complete esta matriz.

No subteste de vocabulário que é uma prova de raciocínio verbal, o voluntário foi orientado a definir o significado das palavras organizadas em uma lista com crescente grau de dificuldade. O escore ponderado foi extraído das pontuações dos testes de acordo com dados normativos da população brasileira do manual do teste. A nota de corte para ambos os grupos foi QI abaixo de percentil 25, segundo as Normas para Conversão dos Resultados Brutos em Ponderados, por Grupo Etário da Amostra Brasileira.

O Teste de Trilhas [versão Delis-Kaplan (Delis, Kaplan & Kramer, 2001)], consiste em 5 condições que avaliam atenção visual, atenção dividida, funções executivas, coordenação motora, principalmente velocidade de processamento visuomotora, em se tratando de uma tarefa cronometrada.

Cada condição requer uma atividade diferente diante de um conjunto de 16 números e 16 letras, sempre focando a rapidez durante a tarefa. Na condição 1-

cancelamento visual, o voluntário foi orientado a cancelar com um lápis, todos os números 3 que estavam espalhados no conjunto de números e letras, o mais rápido possível; na condição 2 - sequência numérica, o voluntário tinha que conectar com o lápis, no menor tempo possível, os 16 números em ordem crescente espalhados no conjunto de letras e números; na condição 3 – sequência de letras, o voluntário tinha que conectar com o lápis, no menor tempo possível, as 16 letras em ordem alfabética espalhadas no conjunto; na condição 4 – intercalar letras e números, o voluntário tinha que conectar com o lápis, no menor tempo possível, as 16 letras e os 16 números intercalando cada um, obedecendo a ordem alfabética e a ordem crescente dos números; e na condição 5 – velocidade motora, o voluntário tinha que conectar com o lápis as linhas tracejadas que ligava os 32 pontos de referência. O tempo e erros foram registrados em cada condição.

O teste de Fluência Verbal avalia a fluência verbal fonológica (FAS) e a fluência verbal semântica (Animais/frutas). O voluntário foi orientado a falar o maior número de palavras que começavam com cada letra durante um minuto. A seguir, foi orientado a falar nomes de animais (um minuto) e finalizando com nomes de frutas (1 minuto). Cada palavra evocada recebeu o valor de um ponto e a sua soma foi a pontuação total, valor este utilizado para a comparação entre os grupos.

Utilizamos a pontuação total e não o percentil (Spreen, 1998; Lezak, 1995) uma vez que não existe base normativa brasileira de FAS na faixa etária da nossa casuística, apenas para alguns itens categorizados (por exemplo, animais e frutas). A base normativa brasileira foi feita com a população geriátrica, por este motivo foram utilizados a pontuação total para comparação.

O teste de Figuras complexas de Rey (figura A) é um teste de cópia e de reprodução de memória de figuras geométricas complexas, visando investigar a memória visual e funções de planejamento e execução. No teste de Evocação tardia da Figura complexa de Rey, após 3 minutos da execução da figura A do teste de Figuras complexas de Rey descrita na parte de funções executivas, foi solicitada a reprodução da mesma sem visualização da figura, sendo corrigido e pontuado segundo o manual do teste. O teste foi aplicado, corrigido e pontuado segundo manual e seu percentil foi extraído baseado nos dados normativos da população brasileira (Oliveira e Rigoni, 2010).

No teste de Atenção Concentrada (AC) (Cabraia, 2003) o voluntário foi orientado a cancelar três estímulos alvos entre uma série de estímulos distratores durante 5 minutos. A pontuação total deste teste foi gerada com o número de acertos, além de alvos perdidos ou não marcados (omissões) e os marcados erroneamente (erros). O percentil foi computado a partir da pontuação ponderada de acordo com fórmula apresentada no manual do teste; pontuação ponderada = $PT \text{ (pontuação total)} - (\text{Erros} + \text{Omissões})$. Os valores de percentil foram extraídos da tabela normativa brasileira do manual do teste.

O teste de Stroop versão Victoria (Spreen, 1998; Lezak, 1995) é composto por três partes: cores, palavras e nome das cores (Lezak, 1995) Na parte das cores foi apresentada uma sequência de 4 cores (rosa, marrom, verde e azul) ordenadas aleatoriamente e o voluntário devia nomeá-las o mais rápido possível. Na segunda parte foi apresentada uma sequência de palavras coloridas, cujo significado das palavras não referia a uma cor e na terceira parte foram apresentadas palavras coloridas, contendo o nome das cores utilizadas, porém não correspondente à cor apresentada, exemplo – a palavra ROSA, na cor verde.

Em todas as partes a orientação foi a mesma, sendo avaliado o tempo total de execução e o número de erros aumentando-se o grau de dificuldade em cada parte, exigindo do voluntário um maior controle inibitório.

O teste *Brief Visuospatial Memory Test- Revised* (BVM-T-R) é um teste que avalia a memória visuoespacial. Na avaliação foi apresentada uma prancha com 6 figuras geométricas complexas dispostas em uma matriz 2x3. A prancha foi exposta ao voluntário por 10 segundos para exploração visual e posteriormente solicitado a reprodução das figuras em uma folha de sulfite. Este procedimento foi realizado com a mesma prancha em 3 tentativas consecutivas a fim de avaliar a aprendizagem.

Após 20 minutos uma quarta reprodução foi solicitada sem exposição da prancha, com finalidade de avaliar a retenção e evocação tardia. Por último, foi realizado o reconhecimento das 6 figuras dentro de um conjunto de estímulos distraidores, totalizando 12 figuras. A correção foi realizada segundo o manual americano gerando o percentil para o acerto total (soma das três primeiras tentativas), para aprendizagem, evocação tardia e reconhecimento.

O teste *Rey Auditory Verbal Learning Test* (RAVLT) é composto por uma lista de 15 palavras, nas quais o voluntário foi orientado a memorizar ao passo que são faladas para ele. Após o término da lista, o voluntário deveria recitar todas as palavras que conseguiu memorizar independente da ordem. O procedimento foi repetido com a mesma lista por 5 vezes para avaliação de aprendizagem. Na sexta tentativa foi apresentada uma nova lista de 15 palavras, seguindo a mesma instrução, objetivando habilidade de retenção após distração, sendo esta a solicitação da evocação espontânea imediata da lista que foi repetida por 5 vezes. Após 30 minutos foi novamente solicitada uma evocação espontânea da mesma lista, a fim de avaliar a evocação tardia. Por último, o reconhecimento das palavras desta lista em uma folha contendo 36 palavras. A pontuação se deve pelo número de palavras memorizadas em tentativa 1 a 5, em evocação imediata, evocação tardia e reconhecimento (Malloy-Diniz et al., 2000).

O teste de Dígitos Ordem Direta (OD) e Ordem Inversa (OI) do WAIS-III é um teste de memória imediata, que consiste em sequências crescentes de dígitos aleatórios, sendo apresentadas na forma oral para o voluntário. Após a apresentação de uma sequência o voluntário foi orientado a repetir os dígitos na mesma sequência. Há uma variação crescente do nível de dificuldade, o nível 1 inicia-se com duas sequências de 3 dígitos, e nos próximos níveis são adicionados mais um dígito em cada sequência, finalizando com 2 sequências de 8 dígitos. A execução foi interrompida após dois erros consecutivos no mesmo nível. A pontuação é a soma total de 1 ponto para cada sequência acertada. No teste Dígitos OI, o procedimento e a pontuação foram os mesmos, apenas foi solicitado ao voluntário que repetisse a sequência na ordem inversa começando do último dígito para o primeiro.

5.2.3. VAMS PRÉ E PÓS

A Escala Visual-Analógica de Humor (do inglês *Visual Analog Mood Scale-VAMS*, Zuardi e Karniol, 1981) é composta por 16 itens de dois estados emocionais opostos, como por exemplo, forte-fraco. (anexo J)

O participante marca o estado emocional no momento da avaliação em uma linha de 10 centímetros que representa uma escala. Os itens são agrupados em 4

fatores: ansiedade, estresse, comprometimento cognitivo e desconforto (Bergamaschi et al. 2011). Esta escala foi aplicada visando analisar a variação da escala de humor durante a realização do exame de RMf.

As marcações na VAMS foram medidas para cada linha da esquerda para direita. O valor ponderado dos Itens 4, 6, 8, 9, 10, 12, 14, 16 foi computado através de: valor ponderado = 10 - medida obtida. Para os itens 1, 2, 3, 5, 7, 11, 13, 15 o valor ponderado = medida obtida. Em seguida, cada valor ponderado é multiplicado por seu respectivo peso, descrito na Tabela 1.

Tabela 1: Pesos para marcação dos itens da Escala Analógica de Humor

Item	Peso	Item	Peso	Item	Peso
1	0,77782	6	0,75456	11	0,59093
2	0,79684	7	0,56842	12	0,78759
3	0,58922	8	0,74407	13	0,69215
4	0,69263	9	0,79269	14	0,70477
5	0,64236	10	0,79314	15	0,72303

Finalmente, os fatores são calculados a partir da tabela 1 de acordo com a soma dos pesos correspondentes aos itens mencionados para cada fator. Assim temos:

Fator ansiedade = item 2 + item 8 + item 10

Fator estresse = item 9 + item 12 + item 6 + item 4 + item 16 + item 5 + item 3

Fator comprometimento cognitivo = item 1 + item 11

Fator desconforto = item 15 + item 14 + item 13 + item 7

A variação dos valores de cada Fator da marcação colhida Pré-exame foi comparado com o valor do Pós-exame.

5.2.3. Avaliação do exame de RMf

Ao final do exame de RMf, foi questionado o grau de satisfação do voluntário através de perguntas estruturadas sobre a dificuldade sentida ao longo do procedimento, desconforto e condições gerais da avaliação. Esta entrevista Pós-

Exame é composta por 7 perguntas sobre a dificuldade sentida no exame. (anexo K) As respostas das perguntas 1, 3 e 5, com conteúdo qualitativo, foram agrupadas pela palavra chave. Por exemplo, na pergunta “Teve alguma coisa que o incomodou durante o exame?”, a resposta dada pelo participante, “Em alguns momentos senti dor nas pernas” foi assinalada ao grupo “Incômodo em uma parte do corpo”. Respostas 2 e 4 foram do tipo SIM/NÃO. Respostas 6 e 7 eram quantitativas, do tipo escala 0 (ruim) a 10 (excelente).

5.3. Estudo por Ressonância Magnética

Todos os exames de RM foram realizadas no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo utilizando o mesmo aparelho de RM série Achieva 3.0T– Philips (Eindhoven, Holanda), que possui um gradiente Quasar Dual de até 80mT/m, onde as aquisições foram sempre realizadas com a versão do software de operação do tomógrafo LX v.9.1. As imagens foram obtidas utilizando a bobina de crânio de 8 canais. Todos os participantes passaram por 6 aquisições, sendo 3 sequências estruturais e 3 sequências funcionais.

Ao longo do estudo, o aparelho de RM teve o seu comportamento aferido através do protocolo de controle de qualidade diário e manutenções, a fim de garantir uma qualidade adequada das imagens adquiridas, devido a que as imagens de RMf são extremamente sensíveis a pequenas variações na intensidade do campo magnético.

5.3.1. Sequência e parâmetros de aquisição das Imagens por RM

5.3.1.1. Aquisição de imagens estruturais

- Localizador: sequência *Survey* de localização em 3 planos; tempo de repetição (TR)= 9,8 s; tempo de eco (TE)= 4,6s; t= 30,3s; Matriz 256x128; Número de fatias: 10; Espessura: 0,5 mm; Espaçamento: 10mm.

- Localização: sequência Sagital 3D *Balance gradient echo*, TR=6s; TE=2,4s; t=50.6s; Matriz 272x273; Fatias: 20; campo de visão (FOV) 160x160, para a localização das comissuras ântero-posterior
- Volumétrica VBM (*Voxel Basic Morphometry*) com aquisição sagital 3D, TR= 7s; TE= 3,2s; t= 5: 58s; Matriz: 240x240; FOV 240x240; *Flip angle*: 8; Espessura: 1 mm com 180 níveis incluindo todo o segmento cefálico e matriz de reconstrução: 240.
- FLAIR (*Fluid Attenuation Inversion Recovery*) axial: TR= 11000ms; tempo de inversão (TI)= 2800ms; TE=130ms; t= 3: 18s; Matriz: 328x172; FOV= 230x132cm, Número de fatias: 24; Espessura= 5 mm; Espaçamento= 0,5 mm; matriz de reconstrução: 512, realizado para eventual identificação de lesões encefálicas.

5.3.1.2. Aquisição de imagens funcionais

As aquisições foram realizadas através de uma sequência ponderada em T2 gradiente de ecos, imagem ecoplanar (EPI), com aquisição de imagens do cérebro inteiro. Os parâmetros otimizados foram: TR 2000ms, TE 30ms, Espessura de 3 mm, sem intervalo entre as fatias (*gap*), FOV 240x240 mm e Matriz 80x80, matriz de reconstrução: 128, com 39 fatias, precedidas de 5 TR's, referentes ao decaimento do sinal. O número total de volumes e duração da aquisição variou conforme a tarefa realizada, sendo 168 volumes/5:40s no paradigma de memória e 150 volumes/5:04s no paradigma motor.

5.3.2. Instrumentos para estímulos e coleta de dados comportamentais

Todos os instrumentos utilizados no do ambiente da RM foram produzidos com materiais adequados para que não houvesse qualquer tipo de interferência na imagem por RM. Para instalação destes equipamentos foi utilizado um painel de penetração ligando o equipamento de RM à sala de instrumentação. Os instrumentos utilizados foram:

- *Trigger* – aparelho destinado a sincronizar com precisão a aquisição de RMf e a apresentação dos estímulos (Zurc & Zurc, São Paulo –

SP). O funcionamento do aparelho está relacionado ao reconhecimento do pulso de RM e subsequente envio de um pulso de sincronização à um computador. Este computador é utilizado para apresentar os estímulos dos paradigmas, através de uma porta Serial Paralela, USB. Durante a programação dos paradigmas são colocados símbolos de identificação do pulso para que cada estímulo seja apresentado após identificação do pulso, ocorrendo assim a sincronização.

- Sistema de resposta – consta de uma caixa com 3 botões, botão 1 na cor vermelha, botão 2 na cor verde e botão 3 na cor azul, utilizada para a gravação das respostas comportamentais como acerto/erro e tempo de reação no ambiente de RM (Zurc & Zurc, São Paulo – SP).
- Sistema auditivo – consiste em fones de ouvido (pneumáticos) conectado ao sistema de som estéreo (Zurc & Zurc, São Paulo – SP).
- Tela de projeção – consiste em um anteparo de acrílico posicionado perpendicularmente à maca do aparelho, a uma distância de 150 cm da entrada do scanner.
- Espelho refletor acoplado na bobina de crânio, que permite a visualização dos estímulos na tela de projeção quando na posição decúbito dorsal.
- Projetor de vídeo Multimídia Dell (Estados Unidos), modelo 2400mp – localizado no console, fora do ambiente magnético.
- *Eye tracker*– micro-câmera da marca Magconcept (Redwood City, Califórnia, Estados Unidos) utilizada como controle comportamental do voluntário durante a realização das tarefas. Esta câmera ficava posicionada na bobina de crânio em uma distância de 3 a 5 centímetros do olho do participante, sem prejudicar a visualização da tela de apresentação dos estímulos.

5.3.3. Paradigmas da RMf

Todos os paradigmas foram programados e apresentados utilizando o software E-prime® v 1.1 (Psychology Software Tools, inc, Sharpsburg – Pensilvânia, Estados Unidos, <http://www.pstnet.com/eprime.cfm>) e os estímulos

foram sincronizados com o pulso da RM utilizando o equipamento trigger (Zurc & Zurc).

5.3.3.1. Paradigma de memória

O paradigma de memória foi baseado em uma tarefa de memória operacional do banco de dados do *International Consortium of Brain Mapping* - ICBM (*Laboratory of Neuro Imaging* - LONI, *University of California* - UCLA, *Los Angeles*, Estados Unidos - <http://www.loni.ucla.edu/ICBM>), este consórcio internacional é composto por quatro sites de núcleo de pesquisa, Universidade da Califórnia, Instituto Neurológico de Montreal, Universidade do Texas de Santo Antonio e Instituto de Medicina, Universidade Juelich/Heinrich Heine – Alemanha; além de outros lugares de aquisição de dados na Ásia e na Europa, que contribuem para este consórcio internacional. O ICBM foi utilizado inicialmente no projeto de base normativa com pessoas normais (Martin, MGM., 2007). A utilização deste paradigma proporciona uma comparação desses dados com a base normativa e também com de grupos Internacional.

O paradigma de tarefa de memória foi desenhado em bloco do tipo AB, sendo a condição A – tarefa de memória, constituída de figuras abstratas e condição B – tarefa controle, composta por setas apontadas em diferentes direções. Estas condições foram apresentadas 6 vezes cada uma com duração de 28 segundos, totalizando 5 minutos e 38 segundos de experimento (Figura 3).

A condição A (tarefa ativa de memória operacional) consistiu em 5 tentativas consecutivas da tarefa de memória, na qual o sujeito tinha que lembrar de figuras abstratas. As 5 figuras abstratas eram apresentadas antes do experimento de RMf para treino e familiarização das mesmas. Em cada tentativa, inicialmente foi apresentado um círculo verde, seguido por 4 das 5 figuras abstratas, uma de cada vez e um círculo vermelho, finalizando com a figura alvo, no qual o voluntário tinha que responder se a figura alvo era uma das 4 figuras apresentadas anteriormente, entre os círculos ou não.

Cada círculo foi exposto por 400 ms e as figuras por 450 ms, seguidos por uma intervalo entre os estímulos de 50 ms, identificado por uma tela preta. A exceção foi a exposição da figura alvo que ficou exposta por 2200 ms e seguida de uma intervalo de 600 ms de tela preta, totalizando 2800 ms de tempo de resposta. No fim de cada tentativa, o sujeito foi orientado a apertar o botão com o dedo indicador se for repetida e com o botão do dedo médio se a figura não fosse repetida. Ambas as resposta foram realização com a mão direita.

Na condição B (tarefa controle), imagens contendo setas que apontavam para direita, esquerda, para cima e para baixo foram apresentadas em 200 ms cada intercaladas por uma tela preta com duração de 1800 ms. O sujeito foi orientado a apertar o botão somente quando as setas estivessem apontando para direita e para esquerda, com o do dedo indicador quando a seta estava apontada para esquerda e com o dedo médio. Para as outras direções não se apertava nenhum botão.

As figuras e a setas foram randomizadas em dois conjuntos, uma para o treino prévio e outro para o estudo da RMf.

Figura 5 – Representação de paradigma de memória, a sequência das condições AB, os estímulos utilizados, a sequência de uma tentativa de cada condição e o tempo correspondente e o sistema de resposta utilizado para ambas as condições (baixa com dois botões).

5.3.3.2. Paradigma motor

No paradigma motor foi realizada a tarefa de aposição dos dedos ao polegar ritmado pelo próprio indivíduo, um desenho em bloco do tipo ABC. Na condição A,

o voluntário foi orientado a movimentar a mão direita, ao ouvir o comando "DIREITA", na condição B, o voluntário foi orientado a movimentar a mão esquerda, ao ouvir o comando "ESQUERDA", e na condição C, não realizar nenhum movimento, ao ouvir o comando "DESCANSA". Durante esta tarefa o voluntário não teve estímulo visual e o estímulo auditivo foi testado o volume antes do início da tarefa, para garantir que mesmo com o ruído da máquina o voluntário estava conseguindo escutar o comando.

A sequência de movimento foi pseudo-aleatorizado em duas sequências, uma para treinamento e outra para realização do exame de RMf. Cada condição foi repetida 5 vezes, com 20 segundos de duração, totalizando 5 minutos de experimento e 150 volumes adquiridos. (figura 5)

Durante a realização da tarefa o pesquisador acompanhava o exame dentro da sala de RM para contagem do número de movimentos em cada bloco. O pesquisador ficava dentro da sala em área fora do campo de visão do voluntário.

Figura 6 – Representação do paradigma motor, sequência pseudo aleatorizada das condições ABC, a visualização da tela de apresentação (em estímulos visuais) com os comandos sonoros do início de cada condição com duração de 9 ms.

5.3.4. Dinâmica do exame de RMf

5.3.4.1. Treino das tarefas

Todas as tarefas foram treinadas antes do estudo de funcional, em uma sala própria para pesquisa utilizando um computador portátil com as três tarefas na versão treino (sequências de estímulos diferentes das utilizada na RMf). O treino das tarefas foram gravadas e avaliadas quanto a porcentagem de acerto das tarefas. Se o voluntário acertasse mais de 70% da tarefa era encaminhado para o exame de funcional.

5.3.4.2. Posicionamento dos sujeitos

Todos os sujeitos foram posicionados em decúbito dorsal na maca do equipamento de RM, com a cabeça apoiada em posição neutra na bobina, e quando necessário foi utilizada um coxim na região dorsal para proporcionar uma leve extensão cervical nos casos de protrusão de cabeça. Para manter o alinhamento da cabeça durante o exame foi colocado uma fita adesiva na fonte do sujeito prendendo na bobina e entre o fone e a bobina foi posicionado coxins de espuma nas laterais, tentando evitar qualquer tipo de movimentação cefálica. Antes do início do exame, foi testada a visualização adequada da tela, com o posicionamento do espelho na parte superior da bobina e posicionado a mão direita sob o dispositivo de resposta com os dedos apoiados nos três botões, na mão esquerda foi colocada o alarme de segurança.

5.3.4.3. Realização do exame de RMf

Antes do início da aquisição das imagens do exame, foi realizado o contato com o voluntário utilizando o microfone da sala. A sequência de tarefas foi aleatorizada para cada voluntário, sendo iniciada com as imagens de localização e finalizada com as volumétricas e o FLAIR axial, na qual o voluntário neste período poderia ver algumas imagens para distração ou fechar os olhos e descansar até a finalização do exame. Antes de cada tarefa foi mantido o contato com o voluntário para lembrar as instruções. Nesta etapa o voluntário teve a oportunidade de informar desconfortos, dúvidas e continuamos o exame com a autorização do voluntário.

5.4. Análise dos dados.

5.4.1. Análise dos questionários, avaliação neuropsicológica e dados comportamentais.

Os questionários de avaliação pessoal, Classificação Econômica, Índice de Lateralidade, MINI, VAMS pré e pós foram analisados segundo os respectivos índices e pesos relatados na descrição de cada um, e após comparados pelas médias de cada grupo ou pelas categorizações geradas (Classes Socioeconômicas)

A análise dos testes neuropsicológicos foi realizada através dos escores gerados segundo a correção descrita em cada teste e suas médias foram comparados entre os grupos para verificar a existência de diferenças, utilizando ferramentas estatísticas.

Os dados comportamentais de cada paradigma foram analisados de forma diferente. No paradigma de memória foi analisado o número de acertos, o tempo de reação para a resposta correta e para a resposta errada, nas tentativas válidas. No paradigma motor foi analisada a frequência do movimento durante a tarefa de oposição dos dedos.

5.4.2. Análise das imagens de RM estruturais

As imagens estruturais da sequência FLAIR e VBM foram analisadas por inspeção visual de um neurorradiologista experiente EAJr através do programa FSLview (FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK, [HTTP://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/](http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/)).

5.4.3. Análise das imagens de RMf

A análise das imagens de RMf foi realizada utilizando o programa estatístico FMRIB Software Library (FSL) versão 6.0 (*Centre for Functional MRI of Brain - FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK, [HTTP://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/](http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/)*).

5.4.3.1. Análise das imagens de RMf, considerando o cérebro inteiro

As imagens EPI individuais (*First level analysis*) foram pré-processadas nas seguintes etapas: correção de movimento utilizando a opção McFLIRT (*Motion correction using FMRIB's Linear Registration Tool*), cuja orientação de aquisição foi a AP (ântero-posterior), no sentido *regular up*; remoção de voxels em estruturas extra-encefálicas com a ferramenta BET (*Brain Extraction Tool*); suavização espacial com um filtro Gaussiano de 5mm, para aumento da relação sinal ruído das imagens; filtro temporal passa-alto para remoção de artefatos de baixa frequência com tempo máximo de passagem de 100s e controle dos limites de oscilação do sinal BOLD associados à estimulação. O mapa de ativação individual de cada aquisição foi obtido por um modelo linear geral (do inglês, *General Linear Model* - GLM). As respostas à estimulação produzida pelo paradigma foram detectadas pela análise da série temporal de cada *voxel*, que, por hipótese, é a convolução da função estímulo com a função da resposta hemodinâmica canônica dada pela função *Gamma* (tempo para o pico 6s, desvio padrão 3s). Para controle dos resultados falso positivos, foi considerado significativo o conjunto de voxels (*clusters*) sobreviventes ao limiar de Z-score=2,3 ($p=0,01$) corrigidos para comparações múltiplas com o limiar para voxel ao nível de significância de $p<0,05$ (Worsley, 2001).

A análise de grupo (*High level analysis*) foi realizada com as imagens EPI individuais processadas e registradas no espaço padrão MNI (*Montreal Neurological Institute*) 152 utilizando a ferramenta de registro linear (*FMRIB's Linear Image Registration Tool* - FLIRT) e na comparação entre os grupos foi utilizado opção *mixed effect*, considerando a variabilidade entre os sujeitos, o que possibilita generalizar os resultados para as populações das amostras estudadas. Diferenças de ativações entre os grupos foram avaliadas por contrastes com a análise de covariância (ANOVA), através do teste t-Student para amostras independentes, (pacientes > controles e controle > pacientes). Para controle de resultados falso positivos, foi considerado significativo o conjunto de voxels (*clusters*) sobreviventes ao limiar de Z-score=1,96 ($p=0,05$) corrigidos para comparações múltiplas com o limiar para voxel ao nível de significância de $p<0,05$ (Worsley, 2001).

A análise de grupos foi também ajustada pelas covariáveis que apresentaram diferença significativa entre os grupos, verificando a influencia do dado com diferença significativa entre os grupos no resultado da análise entre os grupos sem a

covariável. Para esta análise foi utilizado a diferença do escore total de cada indivíduo pela média dos dois grupos juntos, e utilizada com uma variável estimada adicional na análise de grupo anteriormente realizada descrita acima, considerando o mesmo limiar estatístico das análises anteriores.

5.4.3.2. Análise de conectividade das imagens de RMf

A análise de conectividade foi realizada de duas formas: análise de conectividade funcional PPI (Physicophysiological Interaction) e análise da correlação das ROIs (*Region of Interest*) da rede neural de cada paradigma.

A localização das ROIs da rede neural de cada paradigma foi determinada segundo estudos prévios de meta-análise. No paradigma de memória as quatro ROIs criadas representam a rede frontoparietal da memória operacional que são: ROI frontal direita (FD), ROI frontal esquerda (FE), ROI parietal direita (PD) e ROI parietal esquerda (PE) e foram determinadas através do estudo de meta-análise sobre modelo de correlação neural da memória operacional de Rottschy C et al., 2012 e no paradigma motor as 5 ROIs da rede neural motora foram determinadas através do estudo de meta-análise sobre os correlatos de neuroimagem funcional da variação da tarefa de finger tapping de Witt ST et al., 2008, representando a rede neural nas seguintes regiões: ROI da área motora suplementar (AMS), ROI dos núcleos da base à direita (NBD), ROI dos núcleos da base à esquerda (NBE), ROI da área sensitivomotora à direita (ASME) e ROI da área sensitivomotora à esquerda (ASME).

Todas as ROIs foram determinadas a partir das coordenadas anatômicas MNI de um espaço padrão citada em cada estudo como isocentro e criadas no espaço padrão (MNI152_2mm_brain_nii) com 6 mm de diâmetro. Através da ferramenta featquery, foi extraímos a série temporal do sinal BOLD de cada ROI que permitiu a análise de conectividade em cada método.

A localização anatômica das áreas cerebrais ativadas foi representada no sistema de coordenadas MNI e confirmada por inspeção visual de um neuroradiologista.

As ilustrações com os mapas das ativações foram construídas no software MRIcron (www.mricron.com, versão 12/2009).

5.4.4. Análise Estatística

Para descrição dos resultados, foram empregados a média e o desvio-padrão da média, exceto para a variável sexo que foi descrita como proporção mulheres/homens. Para análise dos dados demográficos e neuropsicológicos, a aderência à curva normal foi avaliada pelo uso do teste Komolgorov-Smirnov para cada grupo. As comparações entre médias foram realizadas pelo teste t-Student para amostras independentes, ou pelo teste de Mann-Whitney. Para a comparação das proporções homens/mulheres entre os grupos, utilizou-se o teste do qui-quadrado.

A homocedasticidade e a normalidade dos resíduos do modelo foram avaliadas. Todas as análises foram realizadas utilizando o pacote estatístico SPSS 19.0 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago - EUA), sendo adotado o nível de significância de 5%.

6. RESULTADOS

6.1. Casuística

Dos 157 casos de afogamento grau 3 ou 4 do banco de dados do 17º. Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista, 95 dos casos estavam dentro dos critérios de inclusão, 44 casos foram encontrados, destes 27 casos concordaram em participar do estudo, mas somente 18 casos compareceram a entrevista inicial, com exclusão de 3 casos por claustrofobia. A casuística final foi composta por 15 voluntários (6 homens) com média de idade de 23,7 anos, variando de 16 a 44 anos.

Figura 7 – Resultado do fluxograma de recrutamento dos voluntários (vítimas de afogamento).

Dos 18 casos incluídos do estudo, 55,6% dos casos se afogou no ano de 2007, seguido por 22,2% dos casos em 2006 e 11,1% dos casos no ano de 2008 e 2009. Podemos ver na tabela abaixo que a maior incidência de afogamento grau 3 e 4 foi no ano de 2007, o que levou a maior participação destes voluntários em nosso estudo, com 55,6% dos casos, fator este que corrobora na interpretação dos resultados.

do estudo, diminuindo a variabilidade do fator tempo após o afogamento entre os voluntários (contribuindo para a homogeneidade do grupo). (Tabela 2)

Tabela 2 – Distribuição do número de casos de afogamento grau 3 e 4 por ano e os casos encontrados e incluídos no estudo, no respectivo ano de ocorrência.

	Afogamento graus 3 e 4	Localizados	Incluídos
2006	54	8	4
2007	63	22	10
2008	20	6	2
2009	16	6	2
2010	4	0	0
total	157	42	18

Das vias de recrutamento utilizadas no estudo, somente o contato telefônico e pesquisa de campo foram efetivas no encontro dos voluntários, não tendo nenhum retorno quanto a publicação em mídia impressa (jornal), provavelmente por ser uma população muito específica.

6.2. Resultado dos questionários e avaliação neuropsicológica

6.2.1. Questionários

6.2.1.1. Dados Pessoais dos voluntários

Grupo de pacientes (dados clínicos) – (GP)

Na entrevista inicial, verificamos que os 18 voluntários afogados incluídos no estudo, não realizaram exame de RM após o afogamento, não foram submetidos a programa de reabilitação e visivelmente não apresentavam nenhum déficit motor. Os dados referentes à entrevista sobre o afogamento foi demonstrado na tabela abaixo (Tabela 3). Quanto ao grau de afogamento, 55,6% foram classificados como grau 3 e 44,4% como grau 4; o período do retorno da consciência foi 83,3% no hospital, 11,1% retomou a consciência no resgate e 5,6% na areia; quanto ao suporte de

oxigênio, todos receberam suplemento de oxigênio durante o transporte e atendimento inicial; o tempo médio de internação foi de 32,9 horas ($\pm$ 1 dias e 9 horas); as internações mais prolongadas foram decorrentes da necessidade de uso de pressão positiva para auxiliar na respiração (39%) e até mesmo de forma invasiva em quatro casos (22%). Outras manifestações clínicas foram referidas após a alta hospitalar, 27,8% de relatos de dispneia, 22,2% relataram episódios de câimbras, 16,7% relataram sensação de pânico em lugares fechados ou apertados, 11,1% relataram problemas de tontura e febre e 5,6% relataram dor torácica e déficit auditivo, sendo este último investigado em uma sequência de RM apropriada durante a avaliação e não foi observada nenhuma alteração estrutural cerebral para este sintoma pelo neurorradiologista responsável do estudo.

Portanto, nossa casuística envolveu na sua maioria pessoas vítimas de afogamento grau 3 (comprometimento respiratório sem sinais de hipotensão), que tiveram um retorno do nível de consciência somente no Hospital e que durante este período tiveram o suporte de oxigênio para auxílio respiratório, necessitando de pouco tempo de observação, com rápido restabelecimento. Das queixas citadas, a câimbra foi a mais ressaltada, seguida por pânico sem comprometimento da rotina diária na maioria dos casos e outros como tontura, dor torácica logo após o evento e déficit auditivo.

Tabela 3. Relação dos casos de afogamento caracterizando pela idade, grau de afogamento, período que retomou a consciência, utilização de oxigênio (O₂), pressão positiva (P+) e entubação orotraqueal (Eot), como também o tempo de internação em horas e outras manifestações clínicas após a alta hospitalar, segundo informações colhidas.

Voluntários	Grau	Consciência	O ₂ /P+/Eot	Internação (horas)	Manifestações Clínicas
1	4	Hospital	sim/sim/não	48	
2	4	Hospital	sim/sim/sim	90	Dispneia/Pânico
3	3	Hospital	sim/não/não	24	Câimbra/Def auditivo
4	4	Hospital	sim/sim/sim	28	

5	4	Resgate	sim/sim/nã o	48	Dispneia/Câimbra
6	3	Areia	sim/não/nã o	8	
7	3	Hospital	sim/não/nã o	24	Dispneia/Dor torácica
8	4	Hospital	sim/sim/si m	90	Dispneia/febre/Tont ura
9	4	Hospital	sim/sim/si m	90	Dispneia/febre/Pânic o
10	4	Hospital	sim/sim/nã o	24	Câimbra/Pânico
11	3	Resgate	sim/não/nã o	3	Câimbra
12	3	Hospital	sim/não/nã o	24	Tontura
13	4	Hospital	sim/não/nã o	3	
14	3	Hospital	sim/não/nã o	8	
15	3	Hospital	sim/não/nã o	24	Câimbra
16	3	Hospital	sim/não/nã o	24	Pânico
17	3	Hospital	sim/não/nã o	24	
18	3	Hospital	sim/não/nã o	8	Pânico

Grupo controle – (GC)

A casuística do GC foi composta por 18 voluntários saudáveis (5 homens) com média de idade de 25,5 anos, variando de 16 a 47 anos. Foram excluídos 12 voluntários, por apresentarem nos testes de QI estimado (WAIS - III) pontuação total acima de 120.

O nível de escolaridade foi analisado pelo número de anos de estudo formal. Entre os participantes do grupo controles a média foi de 10,8 anos, com desvio padrão de 2,1 e do grupo de pacientes a média foi de 10,5 anos, com desvio padrão de 3,1 anos, não apresentando diferença estatisticamente significativa ($p=0,745$) pelo teste t de Student, considerando $p=0,05$.

A distribuição da classe socioeconômica no grupo controle foi 11,1% na classe A2, 5,6% na classe B1, 50% na classe C1, 22,2% na classe C2 e 11,1% na classe D; já a distribuição no grupo de pacientes foi 20% na classe C1, 60% na classe C2 e 11,1% na classe D; não sendo significativa a diferença entre os grupos. (Figura 8)

Figura 8 – Distribuição dos grupos (em %) pela Classificação Socioeconômica. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

A avaliação de lateralidade mostrou índice de lateralidade (I.L.) médio de 0,7, com desvio padrão de 0,42 para os controles e médio de 0,7, com desvio padrão de 0,39 para os pacientes, sendo todos destros (I.L. > zero) e sem diferença estatisticamente significativa ($p=0,920$) pelo teste t de Student, considerando $p=0,05$. (Figura 9)

Figura 9 - Distribuição dos grupos pelo Índice de lateralidade. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

MINI (Mini International Neuropsychiatric Interview)

A entrevista estruturada MINI (Amorim, 2002) mostra que três participantes do grupo de pacientes poderiam ter diagnóstico de TEPT, sendo os principais sintomas irritabilidade, perda de interesse, impressão de se ter tornado estranho aos outros, impressão que sua vida não seria nunca mais a mesma; e no grupo controle nenhum transtorno psicótico de humor foi diagnosticado. Os pacientes que apresentaram este diagnóstico foram: A.S, 43 anos, masculino, V.G.C.S, 21 anos e M.S.R., 19 anos, ambas mulheres; não sendo específico nem ao gênero e nem a idade. Estes pacientes foram orientados a procurar auxílio terapêutico e a neuropsicóloga responsável os encaminhou a serviços gratuitos de apoio psicológico.

6.2.2. Resultados da avaliação neuropsicológicos

Os resultados da avaliação dos testes neuropsicológicos foram comparados entre os grupos pelas suas médias e desvio padrões, sendo testada a significância pelos testes estatísticos t de Student com $p < 0,05$. Abaixo serão mostrados os testes que apresentaram diferença significativa e em anexo todos os testes realizados, suas médias, desvios padrões e valor de p. (ANEXO L)

O resultado da avaliação de Inteligência foi gerado através dos subtestes raciocínio matricial ($GC = 15,4 \pm 4,9$ e $GP = 15,2 \pm 4,6$; $p = 0,910$) e vocabulário ($GC =$

37,0±9,5 e GP = 33,3±8,5; $p=0,260$), QI estimado (GC = 22,2±4,5 e GP = 23,1±3,8; $p=0,540$) e QI total (GC = 99,8±11,3 e GP = 102,0±9,8; $p=0,550$), como foi um parâmetro utilizado para pareamento dos grupos, não foi evidenciada diferença estatística. (Figura 10)

Figura 10 - Teste de Inteligência do WAIS-III (raciocínio matricial e vocabulários) e o quociente de inteligência (QI), estimado e total. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

O resultado da avaliação de fluência verbal apresentou diferença estatisticamente significativa somente no teste FAS (F = GC = 14,7±3,6 e GP = 11,2±3,6 ; $p=0,012$; A = GC = 13,7±4,1 e GP = 10,7 ±3,2 ; $p=0,034$; S = GC = 11,7±3,9 e GP = 9,8±3,6 ; $p=0,172$ FAS_total: GC = 40,1±8,6 e GP = 31,7±8,9; $p=0,010$), segundo o teste t de Student. (Figura 11)

*Diferença estatisticamente significativa em nível de 5%

Figura 11- Teste de fluência verbal fonológica (FAS) e fluência verbal semântica (animais e frutas) pontuado pelo número de palavras. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

O resultado da avaliação da função memória visual apresentou diferença estatisticamente significativa somente na última parte do teste BVMT-reconhecimento, ($GC = 5,6 \pm 0,1$ e $GP = 6,00$; $p=0,005$), segundo o teste t de Student. (Figura 12)

*Diferença estatisticamente significante em nível de 5%

Figura 12 - Função memória visual avaliado em ambos os grupos pelos testes BVMT-R (cópia, retenção, evocação tardia e reconhecimento) através do percentil para acerto total. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

O resultado da avaliação da função memória de trabalho através do teste Dígitos OD e OI apresentou diferença significativa somente no escore total (OD + OI) ($GC = 14,3 \pm 3,4$ e $GP = 12,3 \pm 2,1$; $p=0,050$), com diferença significativa segundo o teste t de Student. (Figura 13)

*Diferença estatisticamente significante em nível de 5%

Figura 13 - Função de memória de trabalho em ambos os grupos avaliado pelo teste Dígitos Ordem Direto (OD) e Ordem Indireto (OI) ponderado. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

6.2.3. Resultados do VAMS

A pontuação na Escala Analógica de Humor permite a análise de fatores relacionados a ansiedade, estresse, comprometimento cognitivo e desconforto. A escala foi aplicada apenas em 11 participantes do grupo controle e 9 do grupo de pacientes (dados não foram considerados confiáveis por erro de preenchimento ou perda de dados nos demais participantes). Utilizando testes ANOVA oneway, PostHoc – LSD e Bonferroni, nenhuma variável da escala apresentou diferença significativa na avaliação de pontuações antes do exame entre os grupos, ou na avaliação de pontuações após o exame de RMf. Quanto comparamos as diferenças intra grupos entre as pontuações antes e após o exame, a variável ansiedade diminuiu no grupo de pacientes e o variável estresse aumentou no grupo controle. As outras variáveis se comportaram de forma semelhantes entre os grupos e intra grupos comparando valores pré e pós-exame. (Figura 14)

Figura 14 - Valores da análise de VAMS intra e entre grupos, antes a pós o exame de RMf. À esquerda do gráfico, valores antes do exame da RMf e à direita, valores após o exame de RMf. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

6.2.4. Resultados dos dados comportamentais do exame RMf

6.2.4.1. Paradigma de memória

O desempenho comportamental no paradigma de memória foi avaliado quanto a porcentagem de acerto nas tentativas válidas e o tempo de reação da resposta certa e da resposta errada, no grupo controle o acerto foi de 70,2% com desvio padrão de 11,3% e no grupo de pacientes foi 73,0% com desvio padrão de 10,1% ($p=0,460$) (Figura 15); a média do tempo de reação para resposta certa no grupo controle foi de 1328,6ms com desvio padrão de 196,8ms e no grupo de pacientes foi de 1163,7ms com desvio padrão de 198,5ms ($p=0,020$); e a média do tempo de reação para resposta errada no grupo controle foi de 1386,1ms com desvio padrão de 202,0 ms e no grupo de pacientes foi de 1310,3 ms com desvio padrão de 203,6 ms ($p=0,270$) (Figura 16). Somente o tempo de reação para a resposta certa apresentou diferença significativa ($p=0,020$) através do teste t de Student com $p<0,05$; este dado foi utilizado como variável ajustada na análise da diferença entre

os mapas de ativação dos grupos e não foi verificada nenhuma região ativada. (ANEXO M).

Figura 15 – Paradigma de memória – média de acerto para as tentativas válidas, em porcentagem (%). Em azul, grupo controle e em vermelho, grupo de pacientes.

*Diferença estatisticamente significante em nível de 5%

Figura 16 – Paradigma de memória – distribuição da média do tempo de reação nas tentativas válidas para o acerto e para o erro na resposta, em milissegundos (ms). Em azul, grupo controle e em vermelho, grupo de pacientes.

6.2.4.1. Paradigma motor

O desempenho comportamental no paradigma motor foi avaliado quanto a média da frequência de movimentos de aposição do polegar com os dedos para cada mão. A média da frequência de movimentos da mão direita no grupo controle foi de 2,98 Hz com desvio padrão de 0,89 Hz e no grupo de pacientes foi de 2,46 Hz com desvio padrão 0,47 Hz ($p=0,108$); a média da frequência de movimentos da mão esquerda no grupo controle foi de 2,90 Hz com desvio padrão de 0,86 Hz e no grupo de pacientes foi de 2,41 com desvio padrão 0,53Hz ($p=0,125$) (Figura 17). Não houve diferença significativa entre os grupos através do teste t de Student com $p<0,05$.

Figura 17 – Paradigma motor – Frequência de movimento de aposição dos dedos ao polegar para cada mão, direita e esquerda, em Hz. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

6.3. Ressonância magnética

6.3.1. Resultados das imagens de RM estruturais

Os exames de RM estruturais (FLAIR axial e volumétrico 3D T1) foram avaliados visualmente por um neurorradiologista responsável e não foi encontrado nenhuma anormalidade ou sinais de lesão focal ou difusa em ambos os grupos.

6.3.2. Resultados das imagens de RMf

Os resultados de RMf foram subdivididos por paradigma, levando em consideração inicialmente o mapa de cada grupo, em relação a condição ativa (memória e movimentos de cada mão separadamente) versus a condição controle de ambos os paradigmas, após a o mapa da comparação entre os grupos e o mapa da comparação entre os grupos ajustadas pelas variáveis comportamentais (testes neuropsicológicas com diferença significativa), em relação a condição ativa dos paradigmas, sempre considerando todo o cérebro para cada paradigma. Em uma segunda etapa, foi realizado a análise por regiões de interesse ROI através da análise de PPI e correlação em cada paradigma. Por último, uma análise suplementar com subseleção da casuística (18 controles e 12 pacientes). Na descrição dos resultados dos mapas de RMf, usaremos o termo ativação para a respostas BOLD positivas.

6.3.2.1. Paradigma de memória

No mapa de ambos os grupos do paradigma de memória em relação a condição de interesse, as áreas com maior ativação foram as seguintes: pólo frontal bilateral, giro frontal inferior bilateral, insula bilateral, giros fusiformes, pólo occipital bilateral, cíngulo anterior, borda do sulco intraparietal bilateral, giro frontal médio (porção posterior do pré-frontal dorso-lateral) bilateral, cerebelo bilateral, giro frontal superiores (porção mesial), tegmento mesencefálico, nos glóbulos pálidos interno e nos giros pára-centrais, hipocampo posterior, tálamo principalmente à direita, putame bilateral (porções basais), com menor extensão das área no mapa do grupo pacientes nas regiões frontais, núcleos da base e parietal inferior à esquerda. No mapa da comparação entre os grupos, somente no contraste grupo controle maior que grupo de paciente (GC>GP) observamos diferença significativa, ativando as

seguintes áreas: região occipital e parietal esquerda e temporal média à direita. (Figura 18, ANEXO N)

Figura 18 – Resultado do exame de RMf do paradigma de memória. a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >2,3; $p<0,05$); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,3; $p<0,05$). Em ambos a) e b) as regiões ativadas foram: pólo frontal bilateral, giro frontal inferior bilateral, insula bilateral, giros fusiformes, pólo occipital bilateral, cíngulo anterior bilateral, borda do sulco intraparietal bilateral, giro frontal médio (porção posterior do pré-frontal dorso-lateral) bilateral, giro frontal superiores (porção mesial) e nos giros pára-centrais e c) Mapa da comparação entre os grupos 3D (GC>GP, ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 1,96; $p<0,05$), na condição ativa os principais clusteres ativados foram: giro temporal média e junção têmporo-parieto-occipital à direita e cuneus, região lingual e borda do sulco intraparietal à esquerda. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Na análise da comparação entre os grupos ajustadas pelas covariáveis neuropsicológicas com diferença significativa (o teste dígitos, teste de FAS e o teste de reconhecimento do BVMT), observamos as mesmas áreas descritas da comparação entre os grupos, com exceção da junção têmporo-parieto-occipital à direita, presente quanto ajustada ao teste FAS, a observação de ativação no giro supramarginal à esquerda; quando ajustada ao teste de FAS e dígitos, ao ajustar ao teste de reconhecimento BVMT, a ativação foi maior no grupo de pacientes no pólo frontal à direita e no giro frontal superior mesial à esquerda. (Figura 19, ANEXO O)

Figura 19 – Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas 3D (Z -score > 1.96 , $p < 0,05$). Na escala de cor vermelho-amarelo a) Mapa da comparação entre os grupos, áreas ativadas: giro temporal média e junção têmporo-parieto-occipital à direita, cuneus, região lingual e borda do sulco intraparietal à esquerda b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos - áreas ativadas: cuneus bilateral, região lingual, borda do sulco intraparietal, giro supramarginal à esquerda c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pelo teste de FAS - áreas ativadas: cuneus e junção têmporo-occipital à direita, giro temporal médio bilateral, giro supramarginal à esquerda e d) Mapa da comparação entre os grupos (GP>GC) ajustada pelo teste de reconhecimento do BVMT - áreas ativadas: pólo frontal à direita e no giro frontal superior mesial à esquerda. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Análise por Região de Interesse (ROI)

Não verificamos diferença estatisticamente significativa entre os grupos na análise de PPI, quando a conectividade funcional da rede frontoparietal (a partir de dados das quatro regiões de interesse) no paradigma de memória.

Por outro lado, houve diferença entre os grupos na análise da correlação das séries temporais das ROIs da rede frontoparietal, observamos que os pacientes não produzem uma resposta BOLD condizente na correlação das ROIs frontoparietal à direita, a média da correlação do grupo controle foi maior que no grupo de paciente

(GC = $0,5 \pm 0,1$; GP = $0,4 \pm 0,2$ e $p=0,030$), com diferença significativa segundo o teste t-student, considerando valor de $p=0,05$ (Figura 20)

*Diferença estatisticamente significativa em nível de 5%

Figura 20 – Média da correlação das séries temporais das quatro ROI da rede frontoparietal bilateral em cada grupo. FD = ROI frontal à direita, PD = ROI parietal à direita, FE = ROI frontal à esquerda e PE = ROI parietal à esquerda. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

Análise suplementar com subseleção da casuística

Na análise suplementar da tarefa de memória, podemos observar que com uma subseleção da casuística (18 controles e 12 pacientes), devido a exclusão de 3 pacientes que apresentaram alta pontuação no questionário MINI., o mapa da comparação entre os grupos permaneceu com as mesmas regiões com exceção do cluster do giro temporal médio à direita. (Figura 21, ANEXO P).

Figura 21 – Comparação entre os mapas da casuística do estudo e da subseleção. a) Mapa da comparação entre os grupos 3D (18 GC e 15 GP), áreas de ativação: giro temporal média e junção têmporo-parieto-occipital à direita, cuneus, região lingual e borda do sulco intraparietal à esquerda e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística 3D (18 GC e 12 GP), áreas de ativação: cuneus, região lingual e borda do sulco intraparietal à esquerda. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

6.3.2.2. Paradigma motor

No paradigma motor, os resultados foram subdivididos em relação as condições ativas do paradigma, denominando mapa da mão direita, o mapa em relação a condição ativa - movimentos da mão direita maior que repouso e denominando mapa da mão esquerda, mapa em relação a condição ativa, movimentos da mão esquerda maior que repouso.

Mapa da mão direita

No mapa da mão direita de ambos os grupos da tarefa motora, as áreas de maior ativação na condição de interesse foram: cerebelo bilateral, núcleos da base principalmente tálamo, putame, globo pálido bilaterais, mais evidente à esquerda, regiões motoras primárias (giro pré e pós-central na topografia da mão), área pré-motora bilateral, mais evidente à esquerda. No mapa da comparação entre os grupos, observamos diferença significativa da ativação do grupo de pacientes nas seguintes áreas: putame e ínsula à esquerda. (Figura 22, ANEXO Q)

Figura 22 – Resultado do exame de RMf do paradigma motor. Na escala de cor vermelhor-amarelo. a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >2,3; $p<0,05$); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,3; $p<0,05$). Em ambos a) e b) as regiões ativadas foram: regiões motoras primárias (giro pré e pós-central na topografia da mão), área pré-motora bilateral, mais evidente contralateral ao movimento; c1) e c2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (GP>GC, ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 2,3; $p<0,05$), as regiões ativadas foram: putame e ínsula á esquerda. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Nos mapas da comparação entre os grupos ajustadas pelas covariáveis neuropsicológicas (teste dígitos, o teste de FAS e teste de reconhecimento do BVMT), as regiões ativadas foram similares ao observado no mapa da comparação entre os grupos, ativando mais no grupo controle as regiões do putame e ínsula à esquerda, com um aumento da extensão da região do putame, quando ajustada pelo teste FAS e BVMT. (Figura 23, ANEXO R)

Figura 23 – Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$). Na escala de cor vermelho-amarelo a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente ($GP > GC$) b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos 2D, c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste FAS 2D e d) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste de reconhecimento do BVL 2D. Em todos os mapas a1), a2), b), c) e d) foram observadas ativação nas áreas do putame e ínsula à esquerda, com menor extensão da região ativada em c) e d). HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Mapa da mão esquerda

No mapa da mão esquerda de ambos os grupos da tarefa motora, as áreas de maior ativação na condição de interesse foram: cerebelo bilateral, núcleos da base principalmente tálamo, putame, globo pálido bilaterais, mais evidente à direita,

regiões motoras primárias (giro pré e pós-central na topografia da mão), área pré-motora bilateral, mais evidente à direita. No mapa da comparação entre os grupos, somente no contraste grupo de pacientes maior que grupo controle (GP>GC) observamos diferença significativa nas seguintes áreas ativadas: putame e ínsula à esquerda. (Figura 24, ANEXO S)

Figura 24 – Resultado do exame de RMf do paradigma motor. Na escala de cor vermelho-amarelo; a) Mapa do grupo controle 3D (N=18; z-score >3; $p<0,05$); b) Mapa do grupo de pacientes 3D (N=15; z-score >2,81; $p<0,05$). Em ambos a) e b) as regiões foram: regiões motoras primárias (giro pré e pós-central na topografia da mão), área pré-motora bilateral, mais evidente contralateral ao movimento; c1) e c2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (GP>GC - ANOVA corrigido pela variabilidade entre os sujeitos, z-score > 2,3; $p<0,05$), os principais áreas ativadas foram: putame e ínsula à esquerda. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Nos mapas da comparação entre os grupos ajustadas pelas covariáveis neuropsicológicas (teste dígitos, o teste de FAS e teste de reconhecimento do BVMT), no contraste grupo de paciente maior que grupo controle, as regiões ativas foram similares ao mapa da comparação entre os grupos, porém em duas análises outras regiões foram significativas além das encontradas na comparação entre os

grupos. Quando ajustada ao teste dígitos, as regiões ativas foram: núcleos da base bilaterais (principalmente putame), área motora suplementar e giro frontal superior à direita e na análise ajustada ao teste FAS, as regiões ativas foram: os núcleos da base bilaterais. (Figura 25, ANEXO T)

Figura 25 – Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ajustada pelas variáveis neuropsicológicas ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$ – $GP > GC$). Na escala de cor vermelho-amarelo a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente, as principais áreas ativadas foram: putame e ínsula à esquerda; b) Mapa da comparação entre os grupos ajustada ao teste dígitos, observamos ativação na região do putame bilateral, cíngulo anterior, giro frontal superior à direita; c) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pelo teste de FAS, observamos ativação na região do putame bilateral e ínsula à esquerda e d) Mapa da comparação entre os grupos ajustada pela teste de reconhecimento do BVMT, observamos ativação nas mesmas áreas de a2). HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Análise por Região de Interesse (ROI)

Na análise de PPI da tarefa motora foi observada diferença do padrão de conectividade na comparação entre os grupos, no mapa de PPI da área motora suplementar, observamos diferença significativa entre os grupos (GP>GC) nas seguintes regiões: giro pré e pós-central à esquerda, e porção opercular do córtex frontal médio à direita. (Figura 26, ANEXO U)

Figura 26 - Resultado da análise de PPI – O região em azul, indica a máscara da ROI da área motora suplementar (AMS $x=47,y=59,z=62$). A escala de cor representa o z-score. No mapa da comparação entre os grupos (GP>GC) na análise de PPI para a ROI da SMA as áreas ativas foram: giro pré e pós-central à esquerda e porção opercular do córtex frontal médio à direita. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Observamos que a variação do sinal da área motora suplementar e em relação às outras áreas mostradas no mapa da diferença entre os grupos (GP>GC), foi positiva em ambos os grupos e no grupo de pacientes as áreas no hemisfério direito e esquerdo apresentaram sinal principalmente negativo. Portanto, os pacientes apresentam um decréscimo da conectividade funcional entre estas regiões e a área motora suplementar, quando comparados ao grupo controle (Figura 27).

Figura 27 – Comportamento do sinal BOLD no PPI da tarefa motora para ROI AMS (área motora suplementar) e as regiões ativadas na comparação entre os grupos (GP>GC), do hemisfério direito (HD), porção opercular do córtex frontal médio à direita e hemisfério esquerdo (HE), giro pré e pós-central à esquerda. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

Na análise da correlação das séries temporais das ROIs da rede motora observamos que a região da área motora suplementar mostrou maior variação da correlação com a área sensitivomotora à esquerda no grupo de pacientes ($GP = 0,64 \pm 0,11$; $GC = 0,45 \pm 0,22$ e $p=0,005$), com diferença significativa segundo o teste t-student, considerando valor de $p=0,05$ (Figura 28)

*Diferença estatisticamente significativa em nível de 5%

Figura 28 – Média da correlação das séries temporais das cinco ROIs em cada grupo. AMS = área motora suplementar, NBD = núcleos da base à direita, NBE = núcleos da base à esquerda, ASMD = área sensitivomotora à direita e ASME = área sensitivomotora à esquerda. Em azul, os valores do grupo de controles e em vermelho, os valores do grupo de pacientes.

Análise suplementar com subseleção da casuística

Na análise suplementar da tarefa motora podemos observar que com uma subseleção da casuística (12 pacientes e 18 controles), devido a exclusão de 3 pacientes que apresentaram alta pontuação no questionário MINI, o mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa mão direita, não foi observado regiões ativadas, isto com diferença significativa; já a comparação entre os grupos em relação a condição ativa mão esquerda, as áreas foram similares ao mapa da comparação entre os grupos da casuística do estudo, com exceção da ínsula à esquerda. (Figura 29 e 30, ANEXO V)

Figura 29 – Comparação entre os mapas de grupo utilizando a casuística do estudo e a subseleção, no contraste mão direita maior que repouso. a) Mapa da comparação entre os grupos (18 GC e 15 GP) ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$), observamos resposta BOLD positiva na região dos núcleos da base à esquerda e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística (18 GC e 12 GP) ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$), não observamos regiões com resposta BOLD positiva. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

Figura 30 – Comparação entre os mapas com a casuística do estudo e a subseleção. a1) e a2) Mapa da comparação entre os grupos 3D e 2D respectivamente (18 GC e 15 GP) ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$) áreas com ativação no putame e ínsula à esquerda e b) Mapa da comparação entre os grupos com subseleção da casuística 3D e 2D (18 GC e 12 GP) ($Z\text{-score} > 2,3$, $p < 0,05$) área com ativação no putame. HD = hemisfério direito e HE = hemisfério esquerdo.

7. DISCUSSÃO

7.1. Casuística

O intuito do presente trabalho foi avaliar as diferenças de resposta hemodinâmica associada à atividade neural em pacientes vítimas de afogamento comparadas a um grupo de pessoas saudáveis. As funções testadas envolviam componentes de memória operacional e função motora. Utilizamos testes neuropsicológicos e exame de ressonância magnética funcional. Até onde pudemos verificar na literatura, não há estudo de RMf nesta população, tornando estes os primeiros dados a respeito de função cerebral em pacientes vítimas de afogamento.

Este tema é relevante pela dimensão da área da encosta brasileira e ainda mais com recente aumento da exploração turística do litoral. Por outro lado, foi uma constatação feliz observarmos que programas direcionados à prevenção e atendimento ao afogado estão associados à menor incidência de casos na cidade do Guarujá, uma das cidades com maior renda do litoral do país. Infelizmente não parece ser a realidade de outras cidades, nas quais a casuística de afogamento, a estratificação do grau e os recursos para atendimento nem sempre são presentes. Acreditamos que um dos resultados indiretos deste estudo seja demonstrar os efeitos cerebrais mesmo em casos moderados de afogamento, o que contribuir para melhor entendimento da população a respeito dos riscos e seus possíveis comprometimentos.

Na seleção dos casos de pacientes vítimas de afogamento, optamos por analisar apenas afogamento em mar, excluindo os casos de afogamento em piscina, lago e cachoeira, pois estudos experimentais em animais demonstraram que o comprometimento pulmonar da aspiração de água doce é maior em relação à água salgada. Há evidências de mudanças significativas nas células epiteliais basais dos brônquios e células epiteliais alveolares do tipo I (Hayashi et al., 2009) em pacientes vítimas de afogamento em água doce. Este tipo de alteração é comum na síndrome da angústia respiratória do adulto, condição clínica associada a quadros de hipoxemia severa, o que pode contribuir a uma hipoxemia secundária ao afogamento, levando a um maior comprometimento cerebral (Gregorakos et al., 2009). Assim, o afogamento em água salgada teria menor componente indireto e constituiria um modelo menos variável de hipoxia sem hipofluxo cerebral. Por outro lado, a inclusão de casos de

afofamento em água doce na casuística, os quais teriam maior comprometimento da oxigenação sanguínea (e por tempo maior) aumentaria a variabilidade da amostra deste estudo. Como comentamos a seguir, o esforço para conseguir a amostra com critérios de seleção mais estritos resultou numa casuística limitada – mas mais homogênea quando observada do ponto de vista de mecanismo básico de etiologia da hipóxia cerebral.

A classificação do afogamento foi um dos critérios de seleção. Esta classificação é resultado da avaliação clínica realizada pelos bombeiros logo após a retirada da vítima da água. Os graus 3 ou 4 representam um comprometimento moderado do afogamento, e envolvem diminuição do nível de consciência, sinais de comprometimento respiratório, porém sem repercussões hemodinâmicas da parada cardíaca (Szpilman D., 1997). Este quadro clínico intermediário foi escolhido, pois permite a avaliação das alterações decorrentes do processo hipóxico por afogamento, sem a influência da hipoperfusão, e ao mesmo tempo representa agressão suficiente para levar à repercussão clínica de perda da consciência, indicando efeito (ao menos momentâneo) no sistema nervoso central (Auld et al., 1995). Em um estudo patofisiológico das lesões cerebrais hipóxia-isquêmicas, Busl et al, descrevem que o acometimento respiratório primário frequentemente lida com disfunções cerebrais transitórias, resultando em menores chances de lesões severas e permanentes, comparados aos causados por lesões isquêmicas primárias (Busl et al, 2010). A hipóxia pura sem parada cardíaca parece induzir a mudanças funcionais no neurônio (afetando o processo neuronal da sinapse), sem necessariamente causar a morte da célula (neste caso, especificamente o neurônio) (Burst et al., 2010). Já nos casos mais severos, como grau 5 ou 6 estudos demonstram que os quadros de coma e falecimentos são frequentes (Christophe et al., 2002).

Desta maneira, em pacientes desta população que foram classificados em grau 3 ou 4 há possibilidade de analisar a influência da hipóxia cerebral generalizada e induzida por um episódio único e marcado no tempo. E em nossa casuística, formam incluídos indivíduos sem comprometimento neurológico prévio, e sem os efeitos prolongados da hipóxia que podem ser encontrados em afogamentos em água doce pelo dano em epitélio pulmonar. Este estudo representa uma oportunidade de descrição de achados neuropsicológicos e adaptações cerebrais (ou de efeitos

protetores de mecanismos que sustentam a função cerebral após uma agressão temporária) após injúria. Em especial, estudamos as regiões cerebrais envolvidas na tarefa de memória operacional e motora, e num desenho que permite analisar também as adaptações do circuito neural envolvido nas tarefas, em pessoas com boa recuperação clínica.

A incidência de afogamento grau 3 ou 4, em praias do Guarujá-SP teve grande declínio entre os anos de 2006 e 2010. Os casos descritos de vítimas com mais que 18 anos de idade, no período de 2006 somam 54 casos; já em 2010 somente 4 casos foram verificados em boletim de ocorrência, com as mesmas características (Banco de dados do 17º, Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista, na região do Guarujá, Estado de São Paulo). A diminuição do número de afogamentos pode estar relacionada com ações e investimento do Estado tanto em recursos humano, quanto em material, como: contratação de socorristas temporários em períodos com grande demanda turística, a implementação de Jet-ski e botes no protocolo de salvamento. Representa um avanço das autoridades públicas na prevenção e combate ao afogamento – em última instância, o benefício que esperamos, inclusive, com a divulgação dos resultados deste trabalho. Ao mesmo tempo este foi um fator de dificuldade para o recrutamento de voluntários para o estudo.

O período de tempo entre o início do processo de afogamento, submersões aquáticas, até o resgate, atendimento, fornecimento de suporte de oxigênio e procedimentos de reanimação, quando necessário, são fatores importantes para a recuperação neurológica dos pacientes (Choi et al., 2012). Na entrevista inicial deste estudo, alguns aspectos fenomenológicos quanto ao tipo de resgate e atendimento no afogamento foram averiguados com os pacientes e/ou familiares que os acompanharam. Todos os pacientes apresentaram perda da consciência após o evento de afogamento, confirmando a classificação em grau 3 ou 4, sendo mais incidente o grau 3, com retorno da consciência em grande parte somente o hospital (83,33%); durante este período de transporte até o hospital, todos receberam oxigênio, e destes 39% também necessitaram de suporte respiratório não invasivo e 22% de forma invasiva, decorrente do maior comprometimento respiratório. Desta maneira, acreditamos que nossa amostra sofreu parada evidente (ainda que temporária) da função cerebral: a perda da consciência se deu em todos e na maior parte durou até,

pelo menos, a chegada ao hospital. O tempo exato entre a constatação da perda de consciência e a recuperação da consciência não estava disponível para análise. Apesar disto, na maior parte dos casos, estimamos que não menos que 20 minutos separaram o atendimento no local (praia) até o primeiro atendimento no hospital. Portanto a perda da consciência em nossa amostra não foi fugaz, e indica que o mecanismo de agressão hipóxica teve consequência na modulação do nível de consciência com duração de minutos.

Ainda referente ao grau de afogamento, nenhum dos pacientes tiveram parada cardíaca, confirmando ausência de pacientes com classificação 5 ou 6 na nossa casuística. Alguns destes pacientes após a alta hospitalar continuaram a relatar quadro de comprometimento pulmonar como: dispneia aos esforços, febre e dor torácica. Este tipo de queixa é de difícil análise objetiva. Várias são as razões que podem influenciar a resposta subjetiva de ‘dispneia’ inclusive a própria internalização de que o paciente sofreu uma agressão pulmonar (passa então a ter mais atenção para qualquer sintoma) e a expectativa de que tenha dificuldades respiratórias, inclusive aquelas pulmonares causadas pela ventilação externa e manipulação de vias aéreas. Idealmente, em estudos prospectivos, é interessante averiguar objetivamente a função pulmonar, obter dados de oxigenação sanguínea, grau de alcoolização (se presente) e análise mais detalhada do nível de consciência e exames neuropsicológicos adaptados ao contexto, ainda durante o atendimento destes pacientes. Este cuidado no desenho experimental poderá contribuir para entender melhor a contribuição destas variáveis na função cerebral. Ainda que tenhamos constatado as dificuldades experimentais para este procedimento em nosso meio, é importante investigar estes parâmetros em condições que permitam esta análise. Paradoxalmente, espera-se que centros mais equipados para atendimento também tenham programas de prevenção mais eficazes para o afogamento – o que torna ainda mais desafiadora a investigação científica destes pacientes.

Os voluntários foram questionados, ainda na entrevista, sobre a influência do episódio de afogamento em relação às funções da memória, atenção, linguagem e alterações motoras. O quadro mais presente nestes relatos espontâneos foi episódios de câimbras e em alguns, sensação de pânico em lugares fechados e tonturas. Este dado é de difícil contextualização no trabalho, uma vez que não avaliamos estes

sintomas no grupo maior de pacientes que tiveram alta dos mesmos serviços após internações relacionadas à causas diversas. É difícil imputar estes sintomas especificamente ao episódio de afogamento, entretanto é uma indicação da valorização subjetiva dos pacientes a respeito das sequelas decorrentes do afogamento (indistintas de outras possibilidades relacionadas ao atendimento médico e hospitalização).

Para minimizar a variabilidade entre os grupos, a seleção de indivíduos do grupo controle seguiu os critérios de idade, lateralidade e QI estimado (WAIS-III) semelhante ao dos grupos de pacientes, como forma de manter o pareamento entre os grupos. Quanto à idade, em ambos os grupos, a idade mínima foi de 16 anos (critério de inclusão) e a idade máxima, no grupo de pacientes foi de 44 anos e do grupo controle 47 anos. Apesar de não ser observada diferença significativa entre as médias de idade dos participantes dos grupos, potencialmente este fator poderia representar possibilidade de que diferenças de resposta BOLD entre os grupos fossem decorrentes de efeitos da idade. De fato, Sperling et al (2003) mostraram que indivíduos saudáveis idosos apresentam menor efeito BOLD em tarefas de memória quando comparados à indivíduos jovens saudáveis. Acreditamos que esta diferença de idade máxima em nossa casuística não seja de suficiente magnitude para explicar as diferenças encontradas. Ainda, é interessante notar que em estudos epidemiológicos sobre afogamento, a faixa etária com maior prevalência é menor que a encontrada na população de onde amostramos nossos voluntários. Enquanto vítimas de 6 à 12 anos são a maioria em casuísticas internacionais (Szpilman D., 1997), a base de dados do 17º. Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista, mostra que 54% dos sujeitos vitimados eram de adultos entre 18 a 35 anos (vide o anexo W). Assim, nossa casuística representa o grupo com maior porcentagem entre os grupos de vítimas de afogamento desta localidade. E, portanto, a generalização de nossos resultados para outras casuísticas deve ser feita tomando-se o cuidado de observar a faixa etária dos voluntários.

7.2. Questionários e testes neuropsicológicos

A escolha do QI estimado (Wais-III) como critério de inclusão permitiu equilibrar os grupos quanto à este índice neuropsicológico. Participantes com diferentes resultados para QI estimado tem maiores chances de apresentarem desempenhos diferentes em tarefas de RMf. Este item de pareamento é, portanto, necessário para entendimento de resultados de RMf quando comparamos grupos de pacientes e controles saudáveis. Além disto, é um critério de pareamento adotado em grande parte de estudos na literatura científica internacional. Mas, por outro lado, devido ao baixo índice de analfabetismo e diferença de escolaridade, é também um fator a ser considerado quando comparamos os resultados deste estudo com a literatura de outros países (Ramsden et al., 2011 e Toga et al., 2005).

A escolaridade é um critério frequentemente informado e utilizado como variável dependente ou independente em estudos que avaliam aspectos cognitivos ou de aprendizagem. Porém não é um critério que traduz exatamente a experiência e intensidade do aprendizado. O tipo de escola frequentada, pública ou privada, pode influenciar no desempenho do aluno em testes mais específicos a respeito do conhecimento adquirido e habilidades específicas. Menezes Filho N, em 2007, observou nos dados do Sistema de Avaliação do Ensino Básico (SAEB), que os alunos das escolas privadas tinham um melhor desempenho em tarefas de matemática ao comparar com os alunos das escolas públicas. Já no estudo de Soares e Andrade, em 2006, o desempenho cognitivo do aluno foi influenciado por três categorias, a estrutura escolar, a família e características do próprio indivíduo. No estudo de base normativa em RMf de Martin MGM (2007), realizado em nosso grupo, foi observada correlação positiva da escolaridade com os testes neuropsicológicos e com o desempenho comportamental das tarefas realizadas durante a RMf.

Este critério – nível de escolaridade - foi avaliado em nosso estudo e considerado de difícil comparação entre os grupos. Três participantes do grupo de pacientes não continuaram os estudos colegiais após o trauma do afogamento. Eles também descontinuaram outras atividades como trabalho, cursos e atividades de lazer. Sabe-se que pós um evento traumático há tendência do paciente perder o

interesse por pessoas, objetos e atividades as quais eram parte da rotina e faziam parte de experiências positivas antes do trauma. É, portanto, um componente de depressão que acompanha estes casos, mas não apenas e tão simples quanto – é um componente de estresse pós-traumático. Este quadro clínico é descrito também em estudo com vítimas de tsunami, sendo este um dos cinco sintomas mais citados entre as vítimas com TEPT. A prevalência deste transtorno foi de 57,3% nas primeiras seis semanas e, apesar do recebimento de apoio financeiro, reabilitação e suporte da saúde mental, 2,7% das vítimas continuavam sofrendo de TEPT após cinco anos do evento (Piyasil et al., 2011). Em nosso estudo, estes três participantes apresentaram alta pontuação no questionário estruturado MINI, ferramenta utilizada para avaliação de transtornos, entre os quais o TEPT. Apesar de, dada sua alta prevalência, ser considerado ‘parte do quadro’, é um fator a ser considerado na interpretação dos resultados. Por esta razão, realizamos as análises de comparação entre os grupos, excluindo estes três participantes. Podemos observar que os mapas da comparação entre os grupos continuaram apresentando diferença significativa na resposta BOLD no paradigma de memória e no paradigma motor, somente no contraste mão esquerda maior que repouso, com variação do tamanho das regiões ativadas. A nossa opção foi de mantê-los em nossa casuística: porque a taxa desta “co-morbididade” é elevada na população de vítimas de afogamento e acreditamos que este tema – a prevalência de TEPT – representa oportunidade de desdobramento deste trabalho em projeto específico.

Os resultados das comparações da classificação sócioeconômica, índice de lateralidade e entre VAMS pré e VAMS pós, não apresentaram diferença estatística entre os grupos. A maior prevalência de classificação socioeconômica baixa no grupo de pacientes (com pareamento deste item no grupo controle) foi descrito no estudo do perfil epidemiológico do afogamento no Brasil (Szpilman D., 2012). Em particular, a classificação socioeconômica foi comparada a outros fatores que de maior incidência de afogamento nesta população, como menor acesso a prática da natação, o que poderia auxiliar na prevenção do acidente e ate mesmo uma baixa percepção de risco (Orlowski et al., 2001). O índice de lateralidade indicou que todos os participantes de ambos os grupos como destros, uma constatação relevante para a interpretação dos resultados da função motora. Nos resultados da comparação do

VAMS pré e VAMS pós entre os grupos, encontramos diminuição (sem diferença estatística) do fator ansiedade no grupo de pacientes após o exame de RMf (VAMS pós). Resultado semelhante foi encontrado no estudo de Kirschen (2006) sobre a expectativa dos voluntários participantes de uma pesquisa de neuroimagem, no qual a expectativa gerada no pacientes ao realizar um exame de avaliação cerebral atingiu níveis altos. Cerca de 90% dos participantes esperavam que o exame mostrasse anormalidades e mais de 97% esperava ser comunicado de tais anormalidades. Já o aumento do fator estresse no grupo controle comparando antes e após o exame de RMf (VAMS pré e pós), segundo o estudo de Bergamaschi (2011) pode estar indiretamente relacionado com o manutenção do grau de ansiedade durante o exame. A análise ANOVA 2X2 não mostrou efeito de interação, de maneira que a diferença intra-grupo, a rigor, não parece ser modulada pela diferença entre grupos neste parâmetro.

Avaliação neuropsicológica em geral mostrou similaridades no funcionamento cognitivo em afogados e controles, com diferença significativa e desempenho inferior dos pacientes no teste de FAS e Dígitos, e com desempenho superior no teste de memória visual BVMT parte reconhecimento. O padrão encontrado pode ser considerado normal ou com alterações leves, o que difere dos demais estudos nessa população, cujos resultados indicam prejuízos amplos em afogados em funções cognitivas tais como memória, atenção, funções executivas, orientação visuo-espacial, linguagem expressiva e fluência verbal. (Samuelson et al, 2008; Hughes et al., 2002). Cabe ressaltar que esses estudos avaliaram crianças ou adolescentes com afogamento severo e frequentemente com parada cardiorrespiratória. Acreditamos que, em nosso estudo a avaliação de vítimas de afogamento de grau moderado, mostra que este nível de agressão não levou à prejuízos comportamentais mensuráveis nos testes aplicados. Isto pode significar que mecanismos cerebrais de reparação contribuíram para a preservação do funcionamento cognitivo sadio, mesmo com claras evidências de algum grau de agressão cerebral pela hipóxia, constadas pela perda de consciência, em 3/4 de nossos voluntários somente recuperada durante a internação hospitalar.

A diferença no grau de afogamento é uma variável importante, junto com outros fatores, no prognóstico de recuperação após salvamento, gravidade das sequelas físicas e cognitivas. No estudo de Bell (1985) não foi encontrada diferença no funcionamento cognitivo em 7 das 49 crianças em comparação com dados normativos, interpretando esse resultado como boa recuperação neurológica, apesar do evento de afogamento ter sido classificado como severo; outros estudos também descrevem boa recuperação neurológica em pacientes após afogamento (Johnstone & Brouman., 1992). Frente a isso, pode ser concluir que com o grau de afogamento moderado o padrão de funcionamento cognitivo descrito na literatura tende a ser normal ou com alterações leves – e isto após um período mínimo de recuperação. Entretanto, apenas com base em dados comportamentais, resta a questão a respeito de quais adaptações cerebrais poderiam contribuir para este comportamento praticamente normalizado após a fase aguda do afogamento.

As alterações leves encontradas entre os grupos na avaliação neuropsicológica indicaram um prejuízo no funcionamento da memória de trabalho, observado pela menor pontuação do grupo de pacientes no teste Dígitos. Tal resultado é coerente com outros relatos de casuísticas de afogados (em outros contextos) que apresentam graves comprometimentos de memória visual e verbal (Hughes et al., 2002). Memória de trabalho é considerada um tipo de memória de curto prazo na qual acontecem codificação e manipulação inicial da informação até que esta possa ser consolidada na memória de longo prazo (Raaijmakers & Shiffrin, 1981). Por tanto, faz se necessário olharmos o processo de consolidação da informação avaliado pela curva de aprendizagem dos afogados.

Diferentemente do encontrado na avaliação neuropsicológica longitudinal de um caso de afogamento (Hughes et al., 2002), no presente estudo não foi constatada uma curva de aprendizagem planejada tanto na memória verbal (RAVLT I) como na memória visual (BVMT I). Na memória verbal, na primeira evocação dos estímulos apresentados, os pacientes mostraram uma pontuação menor (sem significância estatística) do que controles, porém na segunda evocação o seu desempenho alcançou ou até superou a pontuação dos controles (tendência a diferença significativa no RAVLT II). O mesmo padrão foi observado na memória

visual. Esse padrão cognitivo dos pacientes sugere que apenas alguns dos subcomponentes da memória de trabalho apresentam alteração no funcionamento, diferentemente dos casos graves, nos quais o comprometimento de memória é generalizado.

Outra alteração foi encontrada nos pacientes: o teste de fluência verbal mostrou menor desempenho deste grupo. Este resultado é coerente com o que foi encontrado no desempenho de tarefas de linguagem em casos graves no estudo do Hughes (Hughes et al., 2002). Estes autores reportaram pobreza na habilidade expressiva, mas preservado funcionamento da linguagem receptiva. Outro estudo, de menor casuística, descreve baixo desempenho na fluência verbal em 2 adultos avaliados 3 anos após o afogamento (Samuelson et al., 2008).

Considerando-se o desempenho pior do grupo de pacientes na fluência verbal, mas não em tarefas verbais como vocabulário, é plausível sugerir que esta alteração pode ser decorrente da relação entre fluência verbal e memória de trabalho, ambas prejudicadas nos pacientes. A alteração na manipulação e evocação imediata da informação visual ou verbal, presente em ambas as funções, explicaria o padrão de funcionamento cognitivo dos pacientes encontrados no presente estudo. Observando-se o padrão de desempenho em tarefas de evocação versus reconhecimento, os pacientes tiveram desempenho inferior aos controles em tarefas de evocação, tais como dígitos, fluência verbal, animais/frutas, BVMT I, RAVLT I, mas não apresentam diferença ou superaram os controles em tarefa de reconhecimento, RAVLT reconhecimento ou BVMT reconhecimento. Dentro desse padrão encontra-se também o desempenho na tarefa RMf, na qual os pacientes tiveram que indicar se o estímulo estava presente na sequência anterior. Sua melhor pontuação e menor tempo de reação (sendo estatisticamente significativo somente o tempo de reação) indicam que, quando a exigência de evocação espontânea é reduzida, os pacientes apresentam um bom desempenho.

O desempenho comportamental no paradigma de memória de ambos os grupos, foi analisado pela acurácia e tempo de resposta e acompanhados pelo equipamento Eye Tracker para assegurar que os voluntários estavam atentos a todos os estímulos, sem apresentar sonolência durante a realização da tarefa. Assim, são

salvaguardas para uma interpretação dos dados, tendo como base de referência ao desempenho para ambas as tarefas o estudo da base normativa de RMf. A média de acerto nas tentativas válidas do paradigma de memória (GC= 70,2% e GP= 73,1%) foi superior ao estudo da base normativa em RMf de (61%) na mesma tarefa. Os dados comportamentais do paradigma motor, mensurados pela média da frequência de movimentos de aposição dos dedos ao polegar (frequência da mão direita: GC = 3,0 Hz e GP = 2,5 Hz e frequência da mão esquerda: GC = 2,9 Hz e GP = 2,4 Hz), estão próximos aos observados no estudo sobre base normativa em RMf, cuja a média da frequência do movimento das duas mãos em todos os ciclos foi de 2,26 Hz (Martim, MGM, 2007). Este resultados permitem a interpretação mais específica de dados da RMf quando da comparação entre grupos, de maneira que as diferenças entre regiões cerebrais possam ser imputadas à condição intrínseca de cada grupo (no caso, vítimas de afogamento) e não à diferentes desempenhos comportamentais. Ainda, esses dados comportamentais são não apenas semelhantes aos do grupo controle deste estudo, mas também aos voluntários saudáveis de uma base normativa, realizada com os mesmos paradigmas de RMf, de maneira que reproduzimos os resultados comportamentais encontrados naquele trabalho.

7.3. Ressonância magnética funcional

7.3.1. Paradigma de memória

As regiões ativas para ambos os mapas de grupos do paradigma de memória foram semelhantes nas seguintes regiões: pólo frontal bilateral, giro frontal inferior bilateral, insula bilateral, giros fusiformes, pólo occipital bilateral, cíngulo anterior, borda do sulco intraparietal bilateral, giro frontal médio (porção posterior do pré-frontal dorso-lateral) bilateral, cerebelo bilateral, giro frontal superiores (porção mesial), tegmento mesencefálico, nos glóbulos pálidos internos e nos giros pára-centrais, hipocampo posterior, tálamo principalmente à direita, putame bilateral (porções basais). Observamos que no mapa de grupo dos pacientes algumas regiões tinham uma menor extensão, mas esta observação não alcançou o limiar estatístico no teste ANOVA para comparação entre os grupos. Estes achados são congruentes

com os descritos na literatura em estudos de meta-análise que descrevem as regiões principais da rede neural da tarefa de memória operacional. Ainda, estes autores ressaltam a importância das regiões da rede neural no lado esquerdo em tarefas de Sternberg, modelo semelhante ao utilizado em nosso estudo. Mais adiante, comentamos os resultados da análise direta de diferenças de conectividade entre as regiões da rede frontoparietal na comparação entre os grupos (Rottschy et al, 2012).

Na comparação direta entre os grupos em relação a condição de interesse memória, houve maior ativação no grupo controle nas seguintes regiões: cuneus se estendendo para a região do lobo lingual à esquerda (regiões do lobo occipital), bordas do sulco intraparietal à esquerda e giro temporal médio e junção têmporo-parieto-occipital à direita. As regiões cerebrais significativas na diferença da comparação entre os mapas de grupos estão na sua maioria fora da região frontoparietal, com exceção da região da borda do sulco intraparietal à esquerda. Quando utilizamos tarefas de memória operacional temos como base a região frontoparietal bilateral com as principais regiões da rede neural para esta tarefa, levando em consideração os componentes da tarefa (verbal ou não verbal), outras áreas podem estar relacionadas além da rede frontoparietal, como: a participação da região de Broca na tarefa verbal e córtex pré-motor ventral ou dorsal na tarefa não verbal de identificação de objeto e espacial, respectivamente (Rottschy, et al, 2012).

A região do cuneus e lingual fazem parte do lobo occipital e ambas participam no processamento visual, como também na memória visual, na identificação e reconhecimento de imagens, no estudo sobre memória discriminativa para cenas visuais complexas, a região do cuneus foi descrita como uma importante resposta quando o reconhecimento visual era mais difícil, imagens mais complexas e de difícil distinção (Blondin & Lepage., 2008) e a região lingual é descrita como região de alta capacidade de codificação, no estudo paramétrico de memória visual foi demonstrado que o número de novas imagens a serem armazenada em memória por unidade de tempo teve um efeito significativo na resposta BOLD da região lingual à esquerda como também parahipocampal (Rombouts et al., 1999).

A região do sulco intraparietal tem um importante papel na modulação da atenção, na manutenção ativa das redes neurais da memória a longo prazo desde a

percepção inicial e no processamento da informação específica a ser mantida, no estudo sobre a participação do sulco intraparietal à esquerda na memória de curto prazo comparando tarefa de memorização sequencial e de identificação, foi observado que em ambas as tarefas a resposta BOLD desta região foi significativa, com conexões funcionais diferentes para cada condição (sequencia/identificação) (Majerus et al., 2007).

A região temporal média é foco de muitos estudos sobre a lateralização da memória verbal e não verbal, no hemisfério direito, o temporal médio é dado como o representativo da memória não verbal e no hemisfério esquerdo, como o verbal (Banks et al., 2012), como também descritas em estudo clínicos sobre a lateralização da memória no lobo temporal medial, sendo relevante a disfunção da memória não verbal quando há o comprometimento do lobo temporal médio à esquerda (Golby et al, 2002). A junção têmporo-parieto-occipital á direita é descrita como uma área de associação (próxima a área visual extraestriatal), como papel importante na percepção visual, para cor e forma de objetos (Hotson & Anand, 1998)

Portanto, as áreas observadas à direita (lobo temporal médio) são descritas na literatura como regiões vinculadas ao processamento visual da memória operacional e áreas significativas observadas à esquerda estão vinculada a carga de memória da tarefa durante a memorização, como a manutenção da informação visual durante o processo de memorização das imagens.

Do ponto de vista clínico, estas regiões foram descritas em alguns artigos sobre casos de afogamento, como regiões com anormalidade constatadas por RM após o afogamento, como também em avaliações clínicas ou neuropsicológicas sobre o comprometimento visuomotor ou de percepção visual, como também memória operacional, porém todos os casos descritos se tratam de afogamento severos, envolvendo quadros de parada cardiorrespiratória e associando a hipóxia primária do afogamento (foco do nosso estudo) com a hipóxia secundária devido a parada cardíaca (Hugles, et al, 2002; Suominen et al, 2011; Pearn et al 1977; Koo EH et al, 2011, Beltz, 2010; Samuelson H et al, 2008).

A comparação entre os grupos ajustadas pelas covariáveis neuropsicológicas (o teste dígitos e o teste de fluência verbal fonológica e teste de reconhecimento do BVMT) podem auxiliar na avaliação da influência destes no resultado da RMf. A diferença entre os grupos ajustada ao teste dígitos, apresentou as mesmas áreas descritas da comparação entre os grupos com exceção da junção têmporo-parietal-occipital à direita e nota-se ativação no giro supramarginal à esquerda; quando ajustada ao teste de FAS, a ativação foi maior no grupo controle nas junções têmporo-parieto-occipitais bilaterais e giro supramarginal à esquerda e ao ajustar ao teste de reconhecimento BVMT, a ativação foi maior no grupo de pacientes no pólo frontal à direita e no giro frontal superior mesial à esquerda.

Levando em consideração algumas regiões do cérebro, como as regiões da rede neural da memória operacional frontoparietal bilaterais observamos que, o padrão neural da rede não apresentou diferença entre os grupos através da análise de PPI. Já na análise da correlação média destas ROIs observamos diferença significativa entre os grupos nas ROIs frontoparietais do hemisfério direito. Este achado pode representar menor componente de lateralização funcional, já descrita anteriormente como a dominante para memória operacional não verbal, no grupo de pacientes. Entretanto, não descartamos a possibilidade do recrutamento de outras regiões neurais para manter o desempenho comportamental similar ao grupo controle, o que representaria mecanismo de adaptação da circuitaria neural.

Com a subseleção da casuística, somente as regiões ativadas de maior valor estatístico permaneceram na análise complementar, desaparecendo a região temporal à direita, o que pode ser explicada pela diminuição do poder estatístico vinculada a diminuição da amostragem.

Diante dos resultados, podemos dizer que mesmo tendo como foco de estudo um evento de hipóxia moderada por afogamento, nossos resultados são congruentes com as raras descrições da literatura que reportam alterações de hipóxia severa por afogamento. Nestes estudos, entretanto, os achados clínicos e comportamentais em geral são mais severos, evoluindo muitas vezes com comprometimento neurológico. Em nosso estudo não constatamos alterações nas imagens estruturais e nem do desempenho comportamental. Entretanto, as alterações da resposta cerebral durante a

tarefa de memória e a diferença na correlação do sinal BOLD entre as regiões da rede neural da memória operacional verificadas podem indicar neuroadaptação após insulto. A presença destas alterações, por outro lado, indicam que o afogamento classificado em graus 3 ou 4 está associado à modificações da resposta cerebral em áreas específicas e no padrão de correlação entre as áreas da rede neural de suporte a função de memória. Especula-se que estas alterações podem deixar de ser suficientes em situações de estresse ou aumento da demanda cognitiva destes pacientes. Outra possibilidade é investigar outras funções cognitivas que também possam estar alteradas neste contexto.

7.3.2. Paradigma motor

No resultado do paradigma motor, observamos que ambos os grupos tiveram ativação em regiões similares, considerando os mapas de grupos nas condições de movimentação da mão direita e da mão esquerda: cerebelo bilateral, núcleos da base principalmente tálamo, putame, globo pálido bilaterais, mais evidente contralateral ao movimento, regiões motoras primárias (giro pré e pós-central na topografia da mão), área pré-motora bilateral - mais evidente contralateral ao movimento. Apesar de visualmente termos a impressão de menor extensão das regiões ativadas nos mapas do grupo de pacientes, não foi verificada diferença significativa no teste ANOVA. Estas regiões são as descritas no estudo de meta-análise da tarefa motora de finger-tapping (movimento de aposição dos dedos com o polegar) como as regiões principais do circuito motor neural vinculado a esta tarefa, levando em consideração todas as variações da tarefa, como os diferentes tipos de estímulos (visual/auditivo), a complexidade do movimento (sequência ou livre) e a dominância manual (canhoto/destro) (Witt et al., 2008).

No mapa da comparação entre os grupos em relação às condições ativas, foi observada maior ativação no grupo de paciente nas regiões do putame e insula à esquerda, para ambas as mãos. Quando ajustada a comparação entre os grupos pelas covariáveis neuropsicológicas, o mapa da comparação entre os grupos em relação à condição ativa mão direita apresentou as mesmas áreas e em relação à condição ativa

mão esquerda, com discretas modificações em sua extensão, porém observando-se a presença da região do cíngulo anterior, córtex pré-motor bilateral, tálamo esquerdo e putame bilateral.

Os núcleos da base foram as áreas onde se verificou maior frequência de descrição de anormalidades de sinal em estudos clínicos de RM (Nucci-da-Silva & Amaro, 2009). Este resultado tem sido citado em outros estudos de descrição de casos de afogamento (Beltz et al, 2010; Andronikous et al 2009), bem como também em estudos sobre lesão cerebral hipóxia-isquêmica, que também relatam achados de anormalidade de RM em núcleos da base e em outras regiões cerebrais associadas (Howard et al, 2012; Chaleta et al, 2001). , Outros estudos compararam o grau de hipóxia (tempo de hipóxia) e os diferentes acometimentos cerebrais em áreas de alta susceptibilidade a lesão hipóxia devido a diferença metabólica cerebral. De maneira interessante e que pode ajudar a entender os nossos resultados, os achados de anormalidade dos núcleos da base comum compatíveis com os graus de leve a moderado de hipóxia, associados a baixa repercussão neurológica clínica (pacientes com boa recuperação e sem comprometimentos). Em alterações de graus mais severos de hipóxia é frequente o achado da lesão do hipocampo (anormalidade em RM) com descrição de comprometimento neurológico severo em pacientes e muitas vezes a maior incidência de óbito após evento (Busl & Greer, 2010; Caine & Watson, 2000; Neumann et al., 2013, Greer et al., 2012).

O acometimento de regiões cerebrais ocorre de forma heterogênea após eventos hipóxicos em geral. Esta variação é também descrita em estudos de casos clínicos de vítimas de afogamento. A descrição das áreas cerebrais acometidas através de estudos de neuroimagem (tomografia computadorizada e RM estrutural) não mostra claramente um padrão homogêneo em eventos hipóxicos. Entretanto, há maior prevalência na literatura de descrição de anormalidades na região dos núcleos da base e córtex parieto-occipital, o que é explicado por se tratar de regiões de alta atividade metabólica, que requerem um maior suprimento de oxigênio (Beltz & Mullins, 2010; Hopkins RO, 2008; Dubowitz et al, 1998; Hughes et al, 2002; Holshouser et al, 1997; Kreis et al, 1996; Arbelaez et al, 1999).

A tarefa motora de aposição dos dedos ao polegar utilizada em nosso trabalho consiste em uma tarefa simples, robusta e muito empregada na análise clínica do comprometimento do sistema motor. Os quadros clínicos de espasticidade, ataxia e dentre outros quadros motores são descritos nos relatos de casos de afogamento na literatura (Kruus et al, 1979; Bell et al, 1984, Bratton et al 1994; Ceuliman et al, 2008; Asmstrong et al, 1997) e cujo grau de envolvimento pode ser avaliado por testes comportamentais envolvendo a movimentação na rotina do consultório. Esta possibilidade pode trazer maior conexão entre os dados de RMf e sua utilidade clínica. Nossos resultados mostram que, mesmo com desempenho nesta tarefa semelhante entre os grupos, já existem diferenças na atividade cerebral. Desta maneira, o desempenho preservado em tarefa de aposição digital não descarta alteração cerebral. Ainda, alguns autores sugerem, por outro lado, que os piores quadros de espasticidade são encontrados em pacientes com história de episódio de hipóxia cerebral de diferentes causas etiológicas (Abrams et al., 1991; Gillogly et al, 1987). Talvez haja subnotificação de alterações cerebrais nesta população, considerando os argumentos apresentados.

Analisando a conectividade funcional (PPI) desta tarefa motora, podemos observar que há diferença no padrão neural da rede motora entre os grupos, região da área motora suplementar, quanto a correlação das regiões da rede neural, novamente a região da área motora suplementar mostrou maior variação da correlação com a região sensitivomotora à esquerda no grupo de pacientes, indicando que a tarefa modifica o padrão de conexão entre estas áreas de maneira diferente que a simples correlação entre o sinal BOLD ao longo do tempo de execução da tarefa e seu controle. Ou seja, a conectividade entre estas áreas é alterada pela presença da tarefa, e esta alteração é diferente, sendo mais pronunciada no grupo de pacientes. A área motora suplementar é uma região fundamental no planejamento motor, como imitação de movimento, aprendizado motor ou movimentos complexos (Witt et al 2008), sua interação pode estar correlacionada com os vários fatores da preparação motora, como o componente ativo da execução motora, no qual o giro pré-central bilateral (áreas motora primária –M1) tem um importante papel, a atenção continua durante a execução do movimento desempenhado pela participação da insula e a imaginação do movimento na pré-execução (Tamaki et al, 2013). As alterações

observadas podem indicar que o grupo de pacientes requer maior interação entre as áreas motora suplementar e motora primária para dar suporte à execução de uma tarefa simples. Esta hipótese pode ser investigada em modelos de aprendizagem motora. Se este for o caso, estes pacientes devem apresentar menor transferência da resposta neural entre os sistemas de aprendizagem para os sistemas de execução automatizada, semelhante ao verificado em pacientes com doenças degenerativas (Mallol et al., 2007).

Nossa hipótese inicial era que observaríamos maior comprometimento motor que de memória após o afogamento. Em parte, os achados estão na direção ao que havíamos previsto na elaboração das hipóteses. Porém, a diferença foi encontrada em ambas as tarefas, com respostas cerebrais diferentes. O comprometimento pode ser verificado tanto pela adaptação do sistema à agressão (com maior recrutamento de áreas cerebrais) ou pela agressão direta (com menor tecido cerebral de suporte à tarefa). Diante destes resultados, em cenário de estudo caso-controle com dois paradigmas de RMf, é possível observar que os mapas de grupo de pacientes apresentaram diminuição da resposta BOLD com relação ao grupo controle, com diferença significativa em ambas as tarefas, mas com comportamento do sinal BOLD diferente.

Consideramos as adaptações á agressão como possibilidades que poderiam resultar em diferenças na resposta hemodinâmica, não necessariamente menos amplas ou menos intensas que as de voluntários normais. É interessante notar que, por ser este (até onde pudemos verificar) o primeiro estudo de RMf investigando especificamente um grupo de vítimas de afogamento, e com seleção estrita de casos onde houve perda da consciência, é difícil comparar nossos resultados com a literatura. Ainda que não haja pesquisa com metodologia semelhante encontrada nas referências literárias pesquisadas, é possível que mecanismo de adaptação possa explicar as diferenças entre os grupos. Caso este mecanismo compensatório exista, algumas explicações são possíveis. A seguinte hipótese talvez explique a conjunção de mecanismos de agressão relacionada à hipóxia e à função motora. Seria o caso, de acordo com a nossa hipótese *post hoc*, que os pacientes vítimas de afogamento

estejam utilizando recursos neurais em excesso enquanto para manter a função, e que estes mecanismos seja suficientes conquanto a agressão seja menos severa. E, por outro lado, este mecanismo não nos parece inesgotável, de maneira que, ao progredir o grau de severidade da agressão, a resposta cerebral passará a ser insuficiente e haverá prejuízo comportamental mais pronunciado.

Apesar de utilizarmos critérios de seleção mais estritos que a maioria dos estudos, e com análise neuropsicológica e comportamental além do estudo de neuroimagem, julgamos importante avaliar a interferência, ou modulação de variáveis nos resultados de resposta cerebral (ainda que todas as possíveis variáveis que possam explicar a diferença de atividade entre os grupos não estejam sob controle). De maneira interessante, houve modificações dos resultados, mas essencialmente não deixamos de verificar diferenças entre os grupos levando em consideração fatores que poderiam influenciar nossos resultados - e que fossem passíveis de tratamento pelas ferramentas de análise - como a diferença em testes neuropsicológicos e a presença de alguns pacientes com alta pontuação do questionário estruturado para TEPT. Discretas alterações na resposta foram observadas, mas podemos concluir que nossos resultados são consistentes: há diferenças do padrão de resposta cerebral entre os grupos. Ainda que com limitações (vide a sessão a seguir), os resultados deste trabalho representam passo inicial para investigação dos efeitos tardios do processo fisiopatológico do afogamento. Ainda, fica claro que, ainda que os resultados de resposta cerebral sejam robustos em relação à menor evidência de comprometimento neuropsicológico, as diferenças entre os grupos foram moduladas pelos parâmetros obtidos nestes testes. Mesmo considerando que a utilização de técnicas estatísticas para análise de covariáveis em comparações entre grupos podem conter armadilhas (se as diferenças entre os grupos forem caracterizadas justamente pelos parâmetros utilizados como covariáveis, a utilização destas análises é questionável), ainda é muito complexo e pouco claro e as interações entre comportamento e resposta cerebral. Desta maneira, as alterações decorrentes da hipóxia pura, de acordo com achados descritos em nosso estudo, são consistentes, mas ainda longe de serem definidos os mecanismos de interações da resposta cerebral e as alterações comportamentais (discretas, em nosso caso).

7.4. Limitações do estudo

O número relativamente reduzido de participantes representa a principal dificuldade para generalização dos resultados desta pesquisa. Ressaltamos que o estudo utilizou uma grande base de casos, registrada ao longo de 4 anos. Porém houve grande dificuldade para localização das vítimas de afogamento, por mudança de endereço, dados incorretos ou inexistentes, contatos de pessoas não próximas ao paciente no momento do evento, a dificuldade do acesso aos endereços; além de falecimentos após a ocorrência e a não aceitação na participação do estudo. Prolongamos o período de coleta de dados para conseguir atingir o número atual. Entretanto, por outro lado, a inclusão de vítimas de afogamento com diferentes graus de avaliação, de menor faixa etária ou casos de afogamento em água doce trariam menor chance de especulações mecanicistas a respeito da agressão cerebral. Modelos experimentais poderiam contribuir para este entendimento – fisiopatologia da agressão cerebral por hipóxia sem hipoperfusão - mas a complexidade das funções afetadas, além de diferenças entre espécies, seriam outros obstáculos a serem considerados neste desenho. E por outro lado, aumentar a casuística é um desafio interessante: poucas vezes pode-se ficar agradecido por não termos a chance de aumentar a casuística devido à mecanismos mais eficazes de prevenção e atendimento precoce em saúde pública.

A dificuldade da colaboração do voluntário em participar de um estudo que envolva entrevista presencial e a realização de exame, principalmente para os homens, foi um segundo aspecto limitante em nosso estudo. Em alguns casos o voluntário concordava em participar inicialmente e depois desistia ao saber que uma das etapas se tratava de um exame de RMf. Talvez o esclarecimento da população a respeito da menor invasibilidade do exame, ou mesmo das salvaguardas da Ética para participantes de pesquisa, que possam resultar em maior participação dos voluntários em estudos futuros.

E por fim, por se tratar de estudo pioneiro, a ausência de parâmetros para comparação entre resultados com outras populações trouxe a natureza especulativa de várias possibilidades de mecanismo de agressão cerebral que contribuíssem para

os nossos resultados. Ainda, a escassez de estudos com amostras maiores dificultou a interpretação dos nossos resultados, até o momento só temos descrições de relatos de casos – sem neuroimagem – com grau de afogamento 3 ou 4. Estudos com casuísticas maiores envolvem casos de hipóxia geral e lidam com diferentes mecanismos de lesão, o que dificulta a interpretação e comparação entre aqueles e os nossos dados.

7.5. Direções futuras

Em relação às dificuldades para conseguir casuística mais expressiva, alguns pontos podem ser considerados. É possível que estudos multicêntricos, prospectivos e com melhor controle de variáveis possam contribuir para o entendimento do afogamento. Estes estudos envolveriam, a nosso ver, a necessidade de trazer a locais mais remotos a assistência e ações de prevenção – de maneira a trazer contribuição para a população, e ao mesmo tempo permitir a análise de dados mais específicos e casuísticas maiores.

Analisar casos mais severos do afogamento em jovens adultos com boa recuperação neurológica ou comparar os mesmos parâmetros deste estudo em casos de afogamento em piscina (que continuam a manter incidência elevada) também podem trazer mais informações a respeito dos efeitos aqui demonstrados. Modelos experimentais com investigação de resposta cerebral pela RMf podem ser utilizados para avaliar a agressão hipóxica por afogamento estratificada pelo grau da agressão e assim determinar alguns componentes do mecanismo de agressão que permitam testar a nossa hipótese..

Apesar da baixa incidência de pessoas com alta pontuação no questionário estruturado MINI para avaliação de transtornos, sendo um deles o estresse pós-traumático, este tema pode representar uma oportunidade de desdobramento deste trabalho para analisar os efeitos de pacientes vítimas de afogamento com e sem diagnóstico de estresse pós-traumático. Acreditamos que seja mais viável esta análise em casos de afogamento em água doce, pelas dificuldades apontadas acima.

8. CONCLUSÃO

Em resumo, houve diferenças neuropsicológicas e de resposta hemodinâmica cerebral medida por RMf em tarefas de memória e motora na nossa amostra de vítimas de afogamento com perda de consciência comparados a um grupo controle. Entretanto, o desempenho neuropsicológico encontrado em nossa amostra de vítimas de afogamento pode ser considerado normal ou com alterações leves. As diferenças de atividade cerebral na rede associada à tarefa de memória – uma função frequentemente descrita como alterada em casos de afogamento - pode representar mecanismo de reorganização neural, presente mesmo sem evidente comprometimento estrutural ou neuropsicológico. Ainda, a alteração do padrão de funcionamento da rede neural motora nestes pacientes corrobora as hipóteses baseadas na literatura de pacientes com agressão severa, com alta probabilidade de acometimento estrutural em núcleos da base. Os nossos resultados mostram que alterações estão presentes nestas áreas, mesmo em graus leves. Por fim, é importante observar que nossas conclusões são feitas no contexto de número limitado de voluntários, mas que foram selecionados com critério estrito, contribuindo para avaliação deste segmento de pacientes vítimas de afogamento.

Em relação aos objetivos específicos, podemos concluir que:

1. O desempenho neuropsicológico dos grupos de pacientes vítimas de afogamento e de indivíduos saudáveis foi similar para a maior parte das variáveis analisadas. Houve diferença significativa com desempenho inferior do grupo de pacientes vítimas de afogamento no teste de FAS e teste Dígitos, e o desempenho deste grupo foi superior na parte do reconhecimento do teste BVMT em relação ao grupo controle.
2. A resposta cerebral medida pela RMf durante a tarefa de memória no grupo de pacientes vítimas de afogamento se mostrou semelhante ao grupo controle em grande parte das áreas cerebrais. Entretanto, houve áreas com diferença significativa entre os grupos: observamos maior resposta do grupo controle em áreas dos lobos parietal e occipital à

esquerda, e temporal à direita. Houve modulação dos resultados da RMf pelas variáveis neuropsicológicas. Na comparação entre os grupos covariada pelo resultado do teste de Dígitos mostra-se presença de áreas parieto-temporais esquerda e ausência de áreas temporais à direita; quando covariada pelo teste FAS nota-se presença de áreas parieto-temporais e ausência de regiões occipitais; e quando covariada pelo teste BVMT mostra a presença de áreas frontais mesiais e ausência das demais áreas originalmente encontradas. O padrão de conectividade das redes neurais foi diferente entre os grupos. Apesar de não observarmos interação psicofísica na conectividade funcional, na análise direta entre as áreas da rede frontoparietal houve maior correlação à direita no grupo controle. Em conjunto estes resultados indicam que a execução da tarefa de memória tem diferentes substratos neurais, e que esta diferença é modulada principalmente por processos visuo-espaciais, e cujo padrão de conectividade não é alterado pela condição ativa da tarefa.

3. A resposta hemodinâmica medida pela RMf durante a tarefa motora nos grupos de pacientes vítimas de afogamento também se mostrou semelhante ao grupo de indivíduos saudáveis em grande parte das áreas cerebrais. Entretanto, houve áreas com diferença significativa: observamos resposta maior no grupo de pacientes em putame e insula à esquerda (na movimentação da mão direita e esquerda). Houve modulação dos resultados da RMf pelas variáveis neuropsicológicas. Na tarefa motora da mão direita observamos discretas modificações na dimensão das áreas. Já a diferença entre os grupos na tarefa motora da mão esquerda covariada pelos resultados dos testes de dígitos e FAS mostra presença de núcleos da base, tálamo, cíngulo anterior; a modulação dos mapas pelo resultado do teste BVMT levou à discretas alterações nas dimensões das áreas originais. O padrão de conectividade das redes neurais foi diferente entre os grupos. Houve interação psicofísica na conectividade funcional da rede neural motora com decréscimo da conectividade funcional entre a AMS e as regiões do giro pré e pós-central à esquerda e porção opercular do giro frontal médio à

direita em pacientes em relação aos controles. Porém, houve maior correlação da série temporal dos pacientes entre a AMS e a área sensitivomotora à esquerda. Em conjunto estes resultados indicam que a execução da tarefa motora também tem diferentes substratos neurais, e que mais provavelmente a diferença se dá às custas de alterações em núcleos da base, moduladas principalmente por funções executivas, e com alterações na conectividade cerebral, em parte dependentes da condição ativa da tarefa.

9. REFERÊNCIAS

- ABEP - Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa – 2012. Critério de classificação econômica Brasil 2010. Disponível em: <http://www.abep.org>. Acesso em jan/2012.
- Abrams RA and Mubarak S. Musculoskeletal consequences of near-drowning in children. *J Pediatr Orthop* 1991;11(2):168-75.
- Amicuzi F, Cappelli F, Stortini M, Cherubini S and Pierro MM. Follow-up of neuropsychological function recovery in a 9-year-old girl with anoxic encephalopathy: A window on the brain re-organization processes. *Brain Injury*. 2005; 19(5): 371-388.
- Amorim P (2002) - Mini International Neuropsychiatric Interview (MINI): validação de entrevista breve para diagnóstico de transtornos mentais. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 2002; 22:106-115.
- Analog Mood Scale, 1981
- Andronikou S, Van Toorn R. The DWI 'reversal sign' of white matter hypoxic ischaemic injury in older children: an unusual MRI pattern for age. *Pediatr Radiol* 2009;39(3):293-8
- Arbelaez, A, Castillo M, and Mukherji SK, Diffusion-weighted MR imaging of global cerebral anoxia. *Am J Neuroradiol*, 1999; 20(6): 999-1007.
- Armstrong RW, Steinbok P, Cochrane DD, Kube SD, Fife SE and Farrell K. Intrathecally administered baclofen for treatment of children with spasticity of cerebral origin. *J Neurosurg*. 1997; 87(3): 409-414.
- Auld KL, Ashwal S, Holshouser BA, Tomasi LG, Perkin RM, Ross BD, Hinshaw DB Jr. Proton magnetic resonance spectroscopy in children with acute central nervous system injury. *Pediatr Neurol*, 1995. 12(4):323-34.
- Baldursdottir S, Sigvaldason K, Karason S, Valsson F, Sigurdsson GH. Induced hypothermia in comatose survivors of asphyxia: case series of 14 consecutive cases. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010;54(7):821-6
- Banks SJ, Sziklas V, Sodums DJ, Jones-Gotman M. fMRI of verbal and nonverbal memory processes in healthy and epileptogenic medial temporal lobes *Epilepsy Behav* 2012;25:42-9

- Bell TS, Ellenberg L, McComb JG. Neuropsychological outcome after severe pediatric near-drowning. *Neurosurgery* 1985;17:604–608.
- Beltz EE and Mullins ME. Radiological Reasoning: Hyperintensity of the Basal Ganglia and Cortex on FLAIR and Diffusion-Weighted Imagins. *American Journal of Roentgenology* 2010;195:3, S1-S8.
- Bergamashi MM, Queiroz RHC, Chagas MHN, Oliveira DCG, Martins BS, et al. Cannabidiol Reduces the Anxiety Induced by Simulatd Public Speaking in Treatment- Naive Social Phobia Patients. *Neuropsychopharmacology*. 2011; 36, 1219-1226.
- Biazoli CE, Sato JR, Cardoso EF, Brammer MJ, Amaro E. Nonlinear estimation of neural processing time from BOLD signal with application to decision-making. *Hum Brain Mapp*. 2012;33(2):334-48.
- Blondin F and Lepage M, An fMRI study on memory discriminability for complex visual scenes. *Hum Brain Mapp*. 2008;29(10):1159-69.
- Bratton SL, Jardine DS and Morray JP. Serial neurologic examinations after near drowning and outcome. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 1994; 148(2): 167-170.
- Brucki SM and Rocha MS. Category fluency test: effects of age, gender and education on total scores, clustering and switching in Brazilian Portuguese-speaking subjects. *Braz J Med Biol Res* 2004;37(12):1771-7.
- Brucki SM, Malheiros SM, Okamoto IH and Bertolucci PH. Normative data on the verbal fluency test in the animal category in our milieu. *Arq Neuropsiquiatr* 1997;55(1):56-61.
- Buke C, Armand-Lefevre L, Lolom I, Guerinot W, Deblangy C, Ruimy R, Andremont A, and Lucet JC. Epidemiology of multidrug-resistant bacteria in patients with long hospital stays. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28(11):1255-60.
- Busl KM and Greer DM. Hypoxic-ischemic brain injury: pathophysiology, neuropathology and mechanisms. *NeuroRehabilitation*. 2010;26(1):5-13
- Caine D, and Watson JD. Neuropsychological and neuropathological sequelae of cerebral anoxia: a critical review. *J Int Neuropsychol Soc*. 2000;6(1):86-99.

- CAMBRAIA, S. V. **Teste de atenção concentrada**. Manual. São Paulo: Vetor, 2003.
- Carvalho WB and Nakazora WR, (2002). São Paulo, Editora Atheneu. CCBE; Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa, ABEP, 2010
- Ceulemans B, van Rhijin J, Kenis S, Krols R. Opisthotonus and intrathecal treatment with baclofen (ITB) in children. *Eur J Pediatr*, 2008;167:641-645
- Chalela JA, Wolf RL, Maldjian JA, Kasner SE MRI identification of early white matter injury in anoxic-ischemic encephalopathy. *Neurology*. 2001;56(4):481-5.
- Choi SP, Youn CS, Park KN, Wee JH, Park JH, Oh SH et al. Therapeutic hypothermia in adult cardiac arrest because of drowning. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2012; 56(1): 116-123.
- Christophe C, Fonteyne C, Ziereisen F, Christiaens F, Deltenre P, De Maertelaer V and Dan B., Value of MR imaging of the brain in children with hypoxic coma. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23(4): 716-23.
- Claesson A, Svensson L, Silfverstolpe J and Herlitz J. Characteristics and outcome among patients suffering out-of-hospital cardiac arrest due to drowning. *Resuscitation*. 2008; 76(3): 381-387.
- Delis DC., Kaplan E, and Kramer, JH. (2001a). *Delis-Kaplan Executive Function System (D-KEFS)*. San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
- Diemling M, Barth M and Moser E. Quantification of signal changes in gradient recalled echo FMRI. *Magn Reson Imaging*, 1997;15(7): 753-62.
- Dietz PE and Baker SP. Drowning: Epidemiology and prevention. *American Journal of Public Health*, 1984; 64(4):303-312.
- Doucet G, Osipowicz K, Sharan A, Sperling MR, Tracy JI. Tracy Hippocampal Functional Connectivity Patterns During Spatial Working Memory Differ in Right Versus Left Temporal Lobe Epilepsy, *Brain Connect*. 2013;3(4):398-406.
- Dubowitz DJ, Bluml S, Arcinue E and Dietrich RB, MR of hypoxic encephalopathy in children after near drowning: correlation with quantitative proton MR spectroscopy and clinical outcome. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1998;19(9): 1617-27.

- Fox PT and Raichle ME., Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1986; 83(4): 1140-4.
- Frackowiak, RSJ, Friston KJ, Friston, Frith C, Dolan R, Price CJ, Zeki S, Ashburner J, and Penny WD. 1997. Human Brain Function. Academic Press.
- Gati JS, Menon RS, Ugurbil K and Rutt BK. Experimental determination of the BOLD field strength dependence in vessels and tissue. *Magn Reson Med*, 1997; 38(2): 296-302.
- Giammona ST, Modell JH. Drowning by total immersion, effects on pulmonary surfactant of distilled water, isotonic saline and sea water. *Am J Dis Child*, 1967;114(6):612-6.
- Golby AJ, Poldrack RA, Illes J, Chen D, Desmond JE, Gabrieli JD. Memory lateralization in medial temporal lobe epilepsy assessed by functional MRI. *Epilepsia*. 2002;43(8):855-63.
- Greer DM, Scripko PD, Wu O, Edlow BL, Bartscher J, Sims JR et al. Hippocampal Magnetic Resonance Imaging Abnormalities in Cardiac Arrest are Associated with Poor Outcome. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2012; doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.08.006>
- Gregorakos L, Markou N, Psalida V, Kanakaki M, Alexopoulou A, Sotiriou E, Damianos A, Myrianthefs P. Near-Drowning: Clinical Course of Lung Injury in Adults. *Lung*, 2009;187(2): 93-7.
- Groneberg DA, Schilling U, Scutaru C, Uibel S, Zitnik S, Mueller D, Klingelhofer D, Kloft B. Drowning - a scientometric analysis and data acquisition of a constant global problem employing density equalizing mapping and scientometric benchmarking procedures. *International Journal of Health Geographics* 2011;10:55
- Hayashi T, Ishida Y, Mizunuma S, Kimura A, Kondo T. Differential diagnosis between freshwater drowning and salt water drowning base on intrapulmonary aquaporin-5 expression. *Int J Legal Med*, 2009;123(1):7-3
- Holshouser BA, Ashwal S, Luh GY, Shu S, Kahlon S, Auld KL, Tomasi LG, Perkin RM, Hinshaw DB Jr., Proton MR spectroscopy after acute central

nervous system injury: outcome prediction in neonates, infants, and children. *Radiology*, 1997;202(2): 487-96.

- Hopkins RO. Does near drowning in ice water prevent anoxic induced brain injury? *Journal of the International neuropsychological Society*, 2008;14:656-659.
- Hotson JR, Anand S. The selectivity and timing of motion processing in human temporo-parieto-occipital and occipital cortex: a transcranial magnetic stimulation study. *Neuropsychologia*. 1999;37(2):169-79.
- Howard RS, Holmes PA, Siddiqui A, Treacher D, Tsiropoulos I and Koutroumanidis M. Hypoxic-ischaemic brain injury: imaging and neurophysiology abnormalities related to outcome. *QJM*. 2012; 105(6): 551-561.
- Huettel SAS and MacCathy G. Functional magnetic resonance imaging. Ed Sinawer (2009).
- Hughes SK, Nilsson DE, Boyer RS, Bolte RG, Hoffman RO, Lewine JD, Bigler ED. Neurodevelopmental outcome for extended cold water drowning: a longitudinal case study. *J Int Neuropsychol Soc*, 2002;8(4):588-95.
- Idris AH, Berg RA, Bierens J, Bossaert L, Branche CM, Gabrielli A, Graves SA, et al., American Heart Association. Recommended guidelines for uniform reporting of data from drowning: the "Utstein style". *Circulation*. 2003;108(20):2565-74.
- Johnstone B, Bouman DE. Anoxic encephalopathy: a case study of an eight-year-old male with no residual cognitive deficits. *Int J Neurosci*. 1992 62(3-4):207-12.
- Kirschen MP, Jaworska A, Illes J. Subjects expectations in neuroimaging research. *J Magn Reson Imaging*. 2006; 23(2):205-9.
- Koo EH, Boxerman JL and Murphy MA. Cortical blindness following a near-drowning incident. *J Neuroophthalmol*. 2011; 31(4): 347-9.
- Kreis R, Arcinue E, Ernst T, Shonk TK, Flores R, Ross BD. Hypoxic encephalopathy after near-drowning studied by quantitative ¹H-magnetic resonance spectroscopy. *J Clin Invest*. 1996; 97(5): 1142-1154.

- Kriel RL, Krach LE, Luxenberg MG, Jones-Saete C, Sanchez J., Outcome of severe anoxic/ischemic brain injury in children. *Pediatr Neurol*, 1994. 10(3): 207-12.
- Kruus S, Bergström L, Suutarinen T and Hyvönen R. The prognosis of near-drowned children. *Acta Paediatr Scand*. 1979; 68(3): 315-322.
- Kwong KK, Belliveau JW, Chesler DA, Goldberg IE, Weisskoff RM, Poncelet BP, et al. Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992; 89(12): 5675-9.
- Levin, HS. Neurobehavioral outcome of closed head injury: implications for clinical trials. *J Neurotrauma*, 1995;12(4): 601-10.
- Lezak MD. Neuropsychological assessment (3rd ed.). New York: Oxford University Press, 1995:438-445
- Lu TH, Philippe LP, Walker S. Quality of cause-of-death reporting using ICD-10 drowning codes: a descriptive study of 69 countries. *BMC Medical Research Methodology*, 2010;10:30.
- Majerus S, Bastin C, Poncelet M, Van der Linden M, Salmon E, Collette F, Maquet P. Short-term memory and the left intraparietal sulcus: focus of attention? Further evidence from a face short-term memory paradigm. *Neuroimage*. 2007;35(1):353-67.
- Mallol R, Barrós-Loscertales A, López M, Belloch V, Parcet MA, Avila C. Compensatory cortical mechanisms in Parkinson's disease evidenced with fMRI during the performance of pre-learned sequential movements. *Brain Res*. 2007;1147:265–71.
- Malloy-Diniz LF, Da Cruz MF, Torres V, Cosenza R. O Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey: normas para uma população brasileira. *Rev Bras Neurol*. 2000;36(3):79-83.
- Mandel R, Martinot A, Delepoulle F, Lamblin MD, Laureau E, Vallee L et al. Prediction of outcome after hypoxic-ischemic encephalopathy: a prospective clinical and electrophysiologic study. *J Pediatr*. 2002; 141(1): 45-50.

- Mandeville JB, Marota JJ, Ayata C, Moskowitz MA, Weisskoff RM, Rosen BR. MRI measurement of the temporal evolution of relative CMRO(2) during rat forepaw stimulation. *Magn Reson Med*, 1999; 42(5): 944-51.
- Martin MGM. Ressonância magnética funcional em indivíduos normais: base de dados do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo / Maria da Graça Morais Martin. – São Paulo, 2007.
- Menezes RA and Costa RVC. Resgate e recuperação de 12.038 afogados. *J Bras Med*. 1972; 9:50-64.
- Menezes-Filho NA. Os determinantes do desempenho escolar do Brasil. 2007 - http://www.cepe.ecn.br/seminarioiv/download/menezes_filho.pdf
- Neumann JT, Cohan CH, Dave KR, Wright CB and Perez-Pinzon MA. Global cerebral ischemia: synaptic and cognitive dysfunction. *Curr Drug Targets*. 2013; 14(1): 20-35.
- Nucci-da-Silva, MP and Amaro Jr, E. A systematic review of Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy in brain injury after drowning. *Brain Inj*. 2009;23(9):707-14.
- Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. Oxigenation- sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Journal Magnetic Resonance in Medicine*. 1990;14:68-78.
- Oldfield R. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory *Neuropsychologia*, 1971; 9: 97-113.
- Oliveira, Margareth da Silva & Rigoni, Maisa dos Santos. Figuras complexas de Rey: teste de cópia e de reprodução de memória de figuras geométricas complexas. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2010.
- Orłowski JP, Abulleil MM, Phillips JM. Effects of tonicities of saline solutions on pulmonary injury in drowning. *Crit Care Med* .1987;15:126.
- Orłowski JP, Abulleil MM, Phillips JM. The hemodynamic and cardiovascular effects of near-drowning in hipotonic, isotonic, or hypertonic solutions. *Ann Emerg Med* 1989;18:1044-9.
- Orłowski JP, Szpilman D. Drowning. Rescue, resuscitation, and reanimation. *Pediatr Clin North Am*. 2001;48(3):627-46

- Papa L, Hoelle R, Idris A. Systematic review of definitions for drowning incidents. *Resuscitation*, 2005;65(3): 255-64.
- Passmore JW, Smith JO, Clapperton A. True burden of drowning: compiling data to meet the new definition. *Int J Inj Cont Saf Promot* 2007;14(1):1-3
- Pearn J: Neurological and psychometric studies in children surviving freshwater immersion accidents. *Lancet* 1977, 8001:7-9.
- Peden MM e McGee K, The epidemiology of drowning worldwide, *Injury Control and Safety Promotion*, 2003;10(4):195-199.
- Pierro MM, Bollea L, Di Rosa G, Gisondi A, Cassarino P, Giannarelli P, Gentile M, Morocutti A, Ossella MT, Talone L, Stortini M. Anoxic brain injury following near-drowning in children. Rehabilitation outcome: three case reports. *Brain Inj*. 2005;19(13):1147-55.
- Piyasil V, Ketumarn P, Prubrukarn R, Ularntinon S, Sitdhiraksa N, Pithayaratsathien N, et al. Post-traumatic stress disorder in children after the tsunami disaster in Thailand: a 5-year follow-up. *J Med Assoc Thai*. 2011; 94(3): S138-S144.
- Raaijmakers JGW and Shiffrin RM. Search of associative memory. *Psychological Review*. 1981; 88(2): 93-134.
- Ramsden Sue, Richardson Fiona M., Josse , Thomas , Caroline Ellis, Clare Shakeshaft, Mohamed L. Seghier & Cathy J. Price. Verbal and non-verbal intelligence changes in the teenage brain. *Nature*, 2011; 479:113-116
- Rombouts SA, Scheltens P, Machielson WC, Barkhof F, Hoogenraad FG, Veltman DJ, Valk J, Witter MP. Parametric fMRI analysis of visual encoding in the human medial temporal lobe. *Hippocampus*. 1999;9(6):637-43.
- Samuelson H, Nekludov M and Levander M. Neuropsychological outcome following near-drowning in ice water: two adult case studies. *J Int Neuropsychol Soc*. 2008; 14(4): 660-666.
- Santos EB, Tudesco ISS, Coboclo LOSF and Yacubian EMT. Low educational level effects on the performance of healthy adults on a Neuropsychological Protocol suggested by the Commission on Neuropsychology of the Liga Brasileira de Epilepsia. *Arq Neuropsiquiatr*. 2011; 69(5): 778-784.

- Soares JF and Andrade RJ. Nível socioeconômico, qualidade e equidade das escolas de Belo Horizonte. *Ensaio: aval pol públ Educ*. 2006; 14(50): 107-126.
- Sperling R, Bates J, Chua E, Cocchiarella A, Rentz D, Rosen B et al. fMRI studies of associate encoding in young and elderly controls and mild Alzheimer's disease. *J Neurol neurosurg psychiatry*. 2003; 74(1): 44-50.
- Spreen O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests. New York: Oxford University Press, 1998:326-340
- Suominen PK and Vahatalo R. Neurologic long term outcome after drowning in children. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2012; 20: 55.
- Suominen PK, Vallila NH, Hartikainen LM, Sairanen HI and Korpela RE. Outcome of drowned hypothermic children with cardiac arrest treated with cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010; 54(10):1276-1281.
- Suominen PK, Vähätalo R, Sintonen H, Haverinen A and Roine RP. Health-related quality of life after a drowning incident as a child. *Resuscitation*. 2011; 82(10): 1318-1322.
- Szpilman D and Soares M. In-water resuscitation--is it worthwhile?. *Resuscitation*. 2004; 63(1): 25-31.
- Szpilman D. Afogamento - Perfil epidemiológico no Brasil - Ano 2012. Publicado on-line em www.sobrasa.org, Julho de 2012
- Szpilman D. Afogamento. *Rev Bras Med Esporte*. 2000; 6(4): 131-144.
- Szpilman D. Drowning Death in Brazil: Can we trust our database of death certifactes concerning place and circumstance? Word Conference on Drowning Prevention, Danang – Vietnan 2011, Book of Abstracts, www.sobrasa.org/biblioteca/obitos_2009/Perfil%20epidemiol%C3%B3gico%20do%20afogamento%20no%20Brasil%20-%20Ano%202012.pdf
- Szpilman D. Near-drowning and drowning classification: a proposal to stratify mortality based on the analysis of 1,831 cases. *Chest*. 1997; 112(3): 660-665.
- Tamaki M, Huang TR, Yotsumoto Y, Hämäläinen M, Lin FH, Náñez JE Sr et al. Enhanced spontaneous oscillations in the supplementary motor area are

associated with sleep-dependent offline learning of finger-tapping motor-sequence task. *The Journal of Neuroscience*. 2013; 33(34): 13894–13902.

- Thulborn KR, Waterton JC, Matthews PM and Radda GK. Oxygenation dependence of the transverse relaxation time of water protons in whole blood at high field. 1982. *Biochim Biophys Acta*. 714(2): 265-270.
- Toga AW and Thompson PM. Genetics of Brain Structure and Intelligence. *Annu Rev Neurosci*. 2005; 28: 1-23.
- Turner R, Le Bihan D, Moonen CT, Despres D and Frank J. Echo-planar time course MRI of cat brain oxygenation changes. *Magn Reson Med*. 1991; 22(1): 159-166.
- van Beeck EF, Branche CM, Szpilman D, Modell JH, Bierens JJ., A new definition of drowning: towards documentation and prevention of a global public health problem. *Bull World Health Organ*. 2005;83(11):853-6.
- Wechsler D. WAIS-III: Manual para administração e avaliação. 1a. ed. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2004. p. 161-192. (NASCIMENTO, 2004 Nascimento E. Adaptação, validação e normatização do WAIS-III para uma amostra brasileira).
- Witt ST, Laird AR and Meyerand ME. Functional neuroimaging correlates of finger-tapping task variations: an ALE meta-analysis. *Neuroimage*. 2008; 42(1): 343-356.
- World Health Organization. Injury & Violence Preventio: Non-Communicable Disease and Mental Health. Factsheet on drowning – Geneva 2003. www.who.int/violence_injury_prevention/Zuardi e Karniol, EAH, em inglês Visual
- Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. Ch 14, in *Functional MRI: An Introduction to Methods*, eds. P. Jezzard, P.M. Matthews and S.M. Smith. OUP, 2001.

ANEXOS

**Anexo A - Aprovação do projeto pela CAPPesq - Protocolo de Pesquisa
número 0004/97**

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 29.03.07, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **0004/07**, intitulado: **"FUNÇÕES COGNITIVAS EM VÍTIMAS DE AFOGAMENTO: ANÁLISE NEUROPSICOLÓGICA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL"**, apresentado pelo Departamento **de RADIOLOGIA**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IX. 2, letra "c")

Pesquisador (a) Responsável: **Edson Amaro Junior**

Pesquisador(a) Executante: **Mariana Penteado Nucci da Silva**

CAPPesq, 29 de março de 2007.

PROF. DR. EDUARDO MASSAD
Presidente da Comissão de Ética para Análise
de Projetos de Pesquisa

PROTOCOLO
Local: *Sonha - Ps. graduação*
Recebido por: *Sandra*
Data: *12-04-2007*

PROTOCOLO
Local: *RM - Prof. Edson*
Recebido por: *Elaine*
Data: *13/04/07*

**Anexo B – Carta de autorização oficial da colaboração do 17º.
Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista**

www.polmil.sp.gov.br

**SECRETARIA DE ESTADO DOS NEGÓCIOS DA SEGURANÇA PÚBLICA
POLÍCIA MILITAR DO ESTADO DE SÃO PAULO**

Guarujá, 11 de outubro de 2006.

OFÍCIO Nº 17GB – 256/500/06

Do Cmt do 17º GB

Ao Ilmo Sr Dr. Edson Amaro Júnior.

DD. Orientador do Curso de Doutorado da Faculdade de Medicina da USP

Assunto: Solicitação de dados para pesquisa científica.

Com os nossos cordiais cumprimentos, pelo presente estamos formalizando afirmativamente a intenção de colaboração na pesquisa da tese de doutorado a ser apresentada pela candidata Mariana Penteado Nucci da Silva, na Faculdade de Medicina - Instituto de Radiologia da USP, a qual trata de "Análise Neuropsicológica e de Ressonância Magnética Funcional", para detectar funções cognitivas das vítimas de quase afogamento.

Esclareço que a candidata deverá manter contato, pelo telefone (13) 3358-2700 com o Sargento Nery, encarregado do Cop- Salvamar, setor responsável pela Coleta de Dados e Registros Estatísticos.

Aproveito o ensejo para apresentar os protestos de elevada estima e distinta consideração.

DANIEL ONIAS NOSSA

Ten Cel PM – Comandante

Anexo C – Aprovação do modelo da carta convite CAPPesq, em sessão de 10/09/2008

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 10/09/2008, **APROVOU o(s) documento(s)** abaixo mencionado(s) no Protocolo de Pesquisa nº **0004/07**, intitulado: "**FUNÇÕES COGNITIVAS EM VÍTIMAS DE AFOGAMENTO: ANÁLISE NEUROPSICOLÓGICA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL**" apresentado pelo Departamento de **RADIOLOGIA E RADIOTERAPIA**.

- **Emenda ao protocolo, com texto que será enviado via correio para participação dos pacientes**

Pesquisador (a) Responsável: **Dr. Edson Amaro Junior**

Mariana Penteado Nucci da Silva
CAPPesq, 10 de Setembro de 2008

**Prof. Dr. Eduardo Massad
Presidente da Comissão
de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa**

Projeto da Universidade de São Paulo – USP, participação do Grupamento de Bombeiros.

São Paulo, 10 de junho de 2008.

Prezado _____, você que passou pelo episódio de afogamento no dia _____, está convidado a participar como colaborador de uma **Pesquisa sobre afogamento no Brasil, realizada por um projeto de pesquisa da UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – USP**. A sua participação neste projeto é muito importante para que possamos entender um pouco mais sobre o afogamento e o processo envolvido neste episódio.

Caso tenha interesse em participar de uma entrevista inicial (o deslocamento com transporte será reembolsado no dia da entrevista), entre em contato pelo telefone 11-80326040 ou a cobrar 9 021 13 803206040, por mensagem no celular enviando um telefone para contato, por e-mail nuccimar@gmail.com ou carta resposta do tipo cartão social, no qual o custo é apenas R\$ 0,01 (um centavo de real).

OBSERVAÇÃO – Se a vítima for conhecido ou parente próximo da pessoa que recebeu esta carta, por favor, encaminhe esta para que tenhamos o efetivo contato com a pessoa que se afogou. Para o sucesso deste projeto será muito importante contarmos com a participação do maior número de pessoas, para isto solicitamos a colaboração de voluntários.

Muito obrigada pela atenção e colaboração,

Mariana Penteado

Pesquisadora da USP

Cel 11-80326040 ou e-mail- nuccimar@gmail.com

**Anexo D –Aprovação da publicação de anúncio em mídia impressa
(Jornal METRONEWS, 15/08/2011) CAPPesq, em sessão de 22/07/2011**

APROVAÇÃO

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em 22/07/2011, **APROVOU ad-referendum o(s) documento(s)** abaixo mencionado(s) no Protocolo de Pesquisa nº **0004/07**, intitulado: **"FUNÇÕES COGNITIVAS EM VÍTIMAS DE AFOGAMENTO: ANÁLISE NEUROPSICOLÓGICA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL"** apresentado pelo Departamento de Radiologia e Radioterapia .

- Carta datada de 16/02/11 - Texto Para Divulgação do Projeto

Pesquisador (a) Responsável: **Edson Amaro Junior**

Pesquisador (a) Executante: **Mariana Penteado Nucci da Silva**

CAPPesq, 22 de Julho de 2011

PROF. DR. EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do HCFMUSP da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo Rua Ovídio Pires de Campos, 225, 5º andar - CEP 05403 010 - São Paulo - SP Fone: 011 3069 6442 Fax: 011 3069 6492 e-mail: cappesq@hcnet.usp.br

Sentença 'na mão' de sete cidadãos

■ JULIANA A GUAR CARNEIRO

O silêncio toma conta do plenário, enquanto o olhar do réu demonstra ansiedade ao saber que dentro de alguns instantes sua vida estará nas mãos de sete cidadãos comuns. Este é o conselho de sentença ou popularmente chamado de júri popular, um grupo de pessoas responsável por condenar ou absolver um acusado.

De acordo com a legislação brasileira, o júri popular está previsto para quatro crimes contra a vida: homicídio, auxílio-suicídio, infanticídio e aborto. Para cada audiência, 21 pessoas são intima-

das para comparecer ao fórum, mas um sorteio definirá quem serão os responsáveis em definir o destino do réu.

Para um julgamento ser realizado é necessário que ao menos 15 pessoas compareçam. Esses cidadãos podem ser simplesmente convocados ou voluntários. Para participar de um júri é preciso ser maior de 18 anos, não trabalhar na polícia ou no Judiciário e não ter antecedentes criminais.

O auxiliar de enfermagem Lucas Macedo, 35 anos, ficou assustado quando chegou a sua casa após o dia de trabalho e encon-

trou um telegrama do Tribunal de Justiça, intimando-o a comparecer no Fórum da Barra Funda.

'Nunca havia entendido como funcionava um júri até receber a carta em casa. Não me voluntariei, fui convocado há três anos. E

co ins... deri... partic... eu já... liar d... A... Mato... após... siona... comp...

criminal e realizar um cadastro.

No dia do julgamento, sete pessoas da lista de convocados são sorteadas para formar o júri. Conforme o nome é divulgado, defesa e acusação têm o direito de aceitar ou recusar aquela pes-

Lei do silêncio é regra entre jurados

Os sete jurados escolhidos podem conversar entre si apenas em um breve intervalo para um lanche, horário determinado pelo

Radiologia do HC seleciona Voluntários para projeto de pesquisa sobre Afogamento.

O Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da USP está realizando uma pesquisa com pessoas de ambos os sexos, com idade entre 18 a 40 anos, que tenham passado por episódio de afogamento em mar nos últimos quatro anos, e que tenham perdido a consciência. O objetivo desse estudo é de obter informações da atividade cerebral destes voluntários, observada em imagens de Ressonância Magnética funcional. Os interessados devem entrar em contato com o Departamento de Radiologia da FMUSP – LIM 44, pelos telefones (11) 3069-7916 e 69522250, de segunda a sexta-feira, das 9:00 às 17:00 horas, após este contato, poderão ser selecionados para agendamento de uma pré-triagem.

Pesquisadora Mariana Penteado afogamento@gmail.com

Casos de homicídio são maioria no júri

O advogado Alexandre de Sá Domingues contabiliza cerca de 250 casos como defensor em audiências com júri popular. Do total 98% envolviam homicídios.

'Tenho bastante experiência em júri popular, mas até hoje eu nunca defendi um réu que estivesse acusado de aborto. Sou a favor de que outros casos de gravidade possam ser julgados por cidadãos, por exemplo, latrocínio', disse ele. Alexandre é advogado da família de Mércia Nakashima, assassinada no dia 23 de maio do ano passado. Mizael Bispo e Evandro Bezerra, acusados pela morte da advogada, deverão encarár um júri. 'Acredito que o júri popular é um local onde se faz justiça.' (JAC)

TODAS AS COMPANHIAS AÉREAS

PACOTES NACIONAIS

PACOS

USP Universidade de São Paulo

Radiologia do HC seleciona Voluntários para projeto de pesquisa sobre Afogamento.

O Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da USP está realizando uma pesquisa com pessoas de ambos os sexos, com idade entre 18 a 40 anos, que tenham passado por episódio de afogamento em mar nos últimos quatro anos, e que tenham perdido a consciência. O objetivo desse estudo é de obter informações da atividade cerebral destes voluntários, observada em imagens de Ressonância Magnética funcional. Os interessados devem entrar em contato com o Departamento de Radiologia da FMUSP – LIM 44, pelos telefones (11) 3069-7916 e 69522250, de segunda a sexta-feira, das 9:00 às 17:00 horas, após este contato, poderão ser selecionados para agendamento de uma pré-triagem.

Pesquisadora Mariana Penteado afogamento@gmail.com

ANEXO E – Aprovação da mudança da faixa etária e Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

Hospital das Clínicas da FMUSP
Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CAPPesq

Nº Protocolo: 0004/07

Título: FUNÇÕES COGNITIVAS EM VÍTIMAS DE AFOGAMENTO: ANÁLISE NEUROPSICOLÓGICA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Pesquisador Responsável: Edson Amaro Junior

Pesquisador Executante: Mariana Penteado Nucci da Silva

Departamento: RADIOLOGIA E RADIOTERAPIA

O Coordenador da Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, **APROVOU / TOMOU CIÊNCIA ad-referendum** em 17/01/2013, do(s) documento(s) abaixo mencionado(s):

- Carta datada de 27/11/2012 - Mudança de faixa etária dos voluntários
- Novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

A CAPPesq em obediência à Resolução CNS 196/96, solicita ao pesquisador (a) s elaboração de relatório parcial e final.

No caso de relatório parcial é necessário informar o tempo previsto para a conclusão do protocolo e breve resumo dos resultados obtidos.

CAPPesq, 17 de Janeiro de 2013

PROF. DR. LUIZ EUGÊNIO GARCEZ LEME
Coordenador
Comissão de Ética para Análise de
Projetos de Pesquisa - CAPPesq

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

Anexo I

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO
DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M 2 F 2
 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 2 F 2
 DATA NASCIMENTO :/...../.....
 ENDEREÇO : Nº : APTO :
 BAIRRO : CIDADE :
 CEP : TELEFONE : DDD (.....) :

DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA "Funções cognitivas em vítimas de afogamento: análise Neuropsicológica e Ressonância Magnética funcional"
 PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Prof Dr Edson Amaro Junior
 PESQUISADORA EXECUTANTE: Mariana Penteado Nuoci da Silva
 CARGO/FUNÇÃO: Fisioterapeuta INSCRIÇÃO no CREFITO 37790-F
 UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia – InRad
 AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
 SEM RISCO ☐ **RISCO MÍNIMO ☒** RISCO MÉDIO ☐ RISCO BAIXO ☐ RISCO MAIOR ☐
 DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

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

1. **Objetivo do estudo:** Você está sendo convidado(a) a participar voluntariamente de um estudo que tem o objetivo de entender como é o funcionamento do cérebro depois de um afogamento e também o efeitos dos danos cerebrais nas funções do cérebro através de uma avaliação neuropsicológica, que é um exame feito por uma psicóloga que estuda estas funções e também um exame de Ressonância Magnética funcional.
2. **Procedimentos** - Caso você aceite participar e o responsável por você autorize sua participação, você vai realizar três etapas experimentais, primeiro uma entrevista, segundo uma avaliação neuropsicológica e por último um exame chamado Ressonância Magnética funcional. A primeira etapa serve para identificação do voluntário, nome, idade, sexo, escolaridade, dentre outras informações; na segunda etapa o voluntário faz uma entrevista com a psicóloga, realizando uma série de tarefas que avaliam a inteligência, atenção, memória e aprendizagem; e por último será realizado um exame chamado Ressonância Magnética funcional que serve para ver as áreas do cérebro que estão funcionando mais quando realizamos uma determinada tarefa. No dia deste

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

2

exame, você será colocado(a) deitado dentro de um túnel semi-aberto, de barriga para cima, na sua cabeça colocaremos uma bobina que é como um capacete, que ajuda a captar as imagens do cérebro. Durante o exame, você irá ouvir um som relativamente alto. Porém, seus ouvidos serão protegidos com fones. Então serão realizadas imagens do cérebro. Você será orientado(a) durante o exame a realizar 3 tarefas específicas, motora (mexer a mão), memória (usando figuras) atenção (responder a cor das palavras), isto tudo será ensinado e treinado antes de entrar na máquina. Este exame não necessita do uso de contraste ou usa radiação. Para tanto, será necessário a sua permanência por volta de quarenta minutos a 1 hora no equipamento, sem mexer a cabeça. Existe na máquina um alarme de segurança que fica o tempo todo do exame na sua mão e que você pode apertar a qualquer momento durante o exame, para avisar qualquer problema e, além disso, estaremos falando com você diversas vezes durante o exame para perguntar como você está se sentindo.

3. **Riscos e Inconveniências** - O exame de ressonância magnética não causa nenhum mal conhecido à saúde, sendo contra-indicado para pessoas que possuam qualquer metal no corpo, e para isto é feita uma entrevista com a enfermeira responsável para checar possíveis contra indicações antes do exame. Apesar do protetor de ouvido que você vai estar usando, o barulho que a máquina faz é desconfortável. O médico estará o tempo todo observando o exame e pode se comunicar com a pessoa dentro do aparelho. A qualquer momento você pode apertar um botão para parar o exame. Se não estiver se sentindo bem ou com algum desconforto, basta pedir e você será retirado(a) imediatamente. O aparelho possui diversos microfones e você se comunica com o pesquisador em diversos momentos durante o exame. O túnel é iluminado e tem um ventilador, mas algumas pessoas se sentem mal em lugares pequenos, isto geralmente é percebido no início do exame e a pessoa nem chega a entrar totalmente na máquina. Em qualquer momento do estudo você poderá solicitar sua retirada do protocolo de pesquisa sem que isso apresente qualquer consequência caso venha a ser atendida no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
4. **Benefícios** - A conclusão deste estudo poderá ajudar a melhorar a avaliação dos pacientes em relação aos possíveis danos cerebrais que podem ocorrer ou não após o afogamento, ajudando no tratamento e as medidas preventivas da equipe de resgate. Caso seja identificada alguma alteração nas imagens do cérebro, você junto com o seu responsável legal serão comunicados e, depois será realizado um exame completo de ressonância magnética para avaliação específica da alteração. Caso escolha poderá ser encaminhado para atendimento no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
5. **Alternativas para participação** - Sua participação é voluntária e caso você decida não participar da pesquisa, isto não interferirá na continuidade do atendimento neste mesmo hospital ou na rede de saúde da comunidade

A seguir, as considerações usuais envolvidas com estudos de pesquisa envolvendo seres humanos, que devem constar de todos os consentimentos:

Durante a pesquisa, as imagens serão adquiridas e utilizadas para avaliação científica, pesquisa e ensino. Caso você e seu responsável legal concordem, poderão ser convocados para assinar novo termo de consentimento autorizando o uso desses exames para os objetivos já apresentados.

6. **Sigilo e privacidade** - Os resultados deste estudo serão mantidos em lugar seguro, codificados, ou seja identificados por números ao invés de nomes, e a identificação só poderá ser realizada pelo pessoal envolvido diretamente com o projeto. Caso o material venha a ser utilizado para publicação científica ou atividades didáticas, não serão utilizados nomes que possam vir a identificá-lo. O seu nome nunca vai aparecer em nenhum trabalho que venha a ser gerado desta pesquisa.
7. **Despesas e compensações** - Você não tem que pagar nada em nenhum momento do estudo, inclusive para exames e consultas. Também não vai receber nenhum dinheiro relacionada à sua participação. Se aparecer alguma despesa em relação a pesquisa, ela será paga pelo orçamento da pesquisa. Caso aconteça alguma lesão pelos procedimentos ou tratamentos propostos neste estudo, o participante tem direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

2

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

3

Em qualquer etapa do estudo, você poderá falar com os profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas, Pesquisadora Mariana Penteado Nuoci da Silva e seu orientador Prof Dr Edson Amaro Junior, no endereço Rua Ovídio Pires de Campos s/n Portaria 5 Ressonância Magnética- Cerqueira César – São Paulo – SP, telefone(s) 2661-7918 ou 2661-7916. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou 20, FAX: 3069-6442 ramal 26 – E-mail: marcia.carvalho@hc.fm.usp.br

Eu entendi que posso desistir de participar do estudo a qualquer momento sem perder nenhum de meus direitos.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo: **"Funções cognitivas em vítimas de afogamento: análise Neuropsicológica e Ressonância Magnética funcional"**

Eu discuti com a Srta Mariana Penteado Nuoci da Silva 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 participante/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 ____/____/____

Eu entendi a informação apresentada neste TERMO DE ASSENTIMENTO. Eu tive a oportunidade para fazer perguntas e todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu receberei uma cópia assinada e datada deste Documento DE ASSENTIMENTO INFORMADO.

Rubrica do sujeito de pesquisa ou responsável _____

Rubrica do pesquisador _____

3

ANEXO F - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
 DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
 CAIXA POSTAL, 8091 – SÃO PAULO - BRASIL

Anexo I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :
 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 (.....)

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA “Funções cognitivas em vítimas de afogamento: análise Neuropsicológica e Ressonância Magnética funcional”
2. PESQUISADOR: Mariana Penteado Nucci da Silva
 CARGO/FUNÇÃO: Fisioterapeuta INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº
 CREFITO 37790-F
 UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia - InRad
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
 SEM RISCO RISCO MÍNIMO ☒ RISCO MÉDIO
 RISCO BAIXO RISCO MAIOR
- (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 24 meses

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

1. justificativa e os objetivos da pesquisa – o estudo permitirá aprofundar o entendimento do processo fisiopatológico e as alterações cognitivas geradas pelo afogamento, tendo como objetivo estudar os

eventuais efeitos das lesões cerebrais, através de testes cognitivos e ressonância magnética funcional no pós-afogamento em uma amostra de pessoas vítimas de afogamento classificadas entre grau 3 e 4, numa gradação em que o máximo é 6.

2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais – entrevistas neuropsicológica, nas quais serão aplicados alguns testes de atenção (dígitos diretos e inversos WAIS-R, Trail Marking test A e B, Stroop Test e Controle mental de WMS III); e de memória e aprendizagem (RAVLT – Réu Auditory Verbal Learning Tet ou HOplins Verbal Learning Test com recuperação 30 minutos e reprodução visual WMS-R); além da Ressonância Magnética funcional, no qual serão utilizados paradigmas para avaliação de determinadas funções cerebrais (paradigma motor, de memória, stroop, de movimento oculares e visuoespacial)
3. desconfortos e riscos esperados – não estar apto conforme os teste neuropsicológico e em casos de fobias durante a análise na Ressonância Magnética e conter metais no corpo (próteses, órteses ou marca-passo) que impossibilite a realização do exame.
4. benefício que poderão ser obtidos – com a análise da ressonância magnética funcional poderá ter uma melhor avaliação das áreas cerebrais lesadas como as re-alocadas/decorrentes da reestruturação cerebral, beneficiando a evolução terapêutica e as medidas preventivas da equipe de resgate.
5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

1. acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas: - Através do contato telefônico ou email
 2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e de deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência: - Terá liberdade para desistir a qualquer momento do estudo, neste estudo não há caráter assistencial.
 3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade: Sim
 4. disponibilidade de assistência no HCFMUSP: por eventuais danos à saúde, decorrentes da pesquisa.
 5. viabilidade de indenização por eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa.
-

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A principal investigadora é a doutoranda Mariana Penteado Nucci da Silva e seu orientador Prof Dr Edson Amaro Jr. Que pode ser encontrado no endereço Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255 – 3º. Andar- Cerqueira César – São Paulo – SP – CEP 05403-001, telefone(s) 3069-

7918 ou 30697916. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê Ético em Pesquisa(CEP) – Rua Dr Ovídio Pires de Campos, 225-5º.andar- tel 30696448 ramais 16, 17, 18 ou 20 – email: cappesq@hcnet.usp.br

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

Este documento será impresso em duas vias, sendo uma para o pesquisador e outra para o voluntário.

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de 19 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome Legível)

ANEXO G e H – Ficha da Entrevista dos voluntários e Classificação Socioeconômica.

Dados Pessoais

Nome					ID
Sexo	F ()	M ()	DN	/ /	Idade
Fone	Email				
Endereço					
Estado Civil	Solteiro	Casado	divorciado	outro	
Escolaridade	Profissão				
Medicação atual					
Lateralidade	esquerda		Óculos		
Peso	Altura		E. Optométrica		
Data da última menstruação	Alimentação pela manhã:				
Ja fez RM antes?	Sim ()	Não ()	Proteses?	Sim ()	Não ()
Grau de afogamento	6 5 4 3 2				
Consciência	na água	tempo resgate		PS	HSA
O2	Sim ()	Não ()	IRpA		Sim () Não ()
EOT	Sim ()	Não ()	P+	PCR	Sim () Não ()
AVM	Sim ()	Não ()	Dias		
Intubação	Sim ()	Não ()	Dias	CTI	Dias
Queixas:					
memória					
atenção					
espasmo					
linguagem					
coordenação					
espasticidade					
outras					
OBSERVAÇÕES					

Classificação Sócio-econômica

- a) Instrução do chefe da família
- ___ ginásial completo / colégio incompleto
- ___ analfabeto / primário completo
- ___ colégio completo / superior incompleto
- ___ primário completo / ginásial incompleto
- ___ superior completo

b) Itens de conforto Familiar - critério ABIPENE

Itens de posse	Não tem	Quantidade possuída					
	X	1	2	3	4	5	6 ou +
Refrigerador							
Televisão em cores							
Carro (excluindo o de carro)							
Ar-condicionado							
Computador pessoal							
Aspirador de pó							
Máquina de lavar roupa							
Videocassete ou DVD							
Refrigerador comum ou c/ freezer							

ANEXO I. Inventário de Edimburgo

Questionário de Lateralidade

Indique a preferência do uso das mãos nas seguintes atividades, colocando + na coluna apropriada.

Se você usa esta mão na maioria das vezes, mas algumas vezes pode usar a outra mão, assinale apenas uma +.

Se você utilizar sempre esta mão, assinale ++. Ou seja, marque ++ se você utiliza a outra mão somente se for forçado.

Se não houver preferência por qualquer uma das mãos, assinale + nas duas colunas.

Algumas atividades requerem as duas mãos, neste caso, a questão é em relação à parte da atividade explicitada entre parênteses.

Tente responder todas as questões e somente deixe em branco caso você não tenha absolutamente nenhuma experiência com o objeto da tarefa descrita.

		Direita	Esquerda
1	Escrever		
2	Desenhar		
3	Arremessar		
4	Tesoura		
5	Escova de dente		
6	Faca (sem garfo)		
7	Colher / garfo		
8	Vassoura		
9	Acender um fósforo		
10	Abrir uma caixa (tampa)		
11	Qual o pé você usa para chutar?		
12	Qual o olho você usa, se forçado a usar somente um?		

I.L.	
------	--

Decil	
-------	--

ANEXO J. Escala analógica de Humor (EAH)

V A M S - P R E

INSTRUÇÕES: Avalie como você se sente agora em relação aos itens abaixo e marque cada linha com um traço vertical no ponto que melhor descreve seus sentimentos. O centro de cada linha indica como você habitualmente se encontra e as extremidades indicam o máximo de cada condição.

ALERTA	_____	SONOLENTO
CALMO	_____	AGITADO
FORTE	_____	FRACO
CONFUSO	_____	COM IDÉIAS CLARAS
ÁGIL	_____	DESAJEITADO
APÁTICO	_____	DINÂMICO
SATISFEITO	_____	INSATISFEITO
PREOCUPADO	_____	TRANQUILO
RACIOCÍNIO DIFÍCIL	_____	PERSPICAZ
TENSO	_____	RELAXADO
ATENTO	_____	DISTRAÍDO
INCAPAZ	_____	CAPAZ
ALEGRE	_____	TRISTE
HOSTIL	_____	AMISTOSO
INTERESSADO	_____	DESINTERESSA DO
RETRAÍDO	_____	SOCIÁVEL

V A M S pós

INSTRUÇÕES: Avalie como você se sente agora em relação aos itens abaixo e marque cada linha com um traço vertical no ponto que melhor descreve seus sentimentos. O centro de cada linha indica como você habitualmente se encontra e as extremidades indicam o máximo de cada condição.

ALERTA	_____	SONOLENTO
CALMO	_____	AGITADO
FORTE	_____	FRACO
CONFUSO	_____	COM IDÉIAS CLARAS
ÁGIL	_____	DESAJEITADO
APÁTICO	_____	DINÂMICO
SATISFEITO	_____	INSATISFEITO
PREOCUPADO	_____	TRANQUILO
RACIOCÍNIO DIFÍCIL TENSO	_____	PERSPICAZ
ATENTO	_____	RELAXADO
INCAPAZ	_____	DISTRAÍDO
ALEGRE	_____	CAPAZ
HOSTIL	_____	TRISTE
INTERESSADO	_____	AMISTOSO
RETRAÍDO	_____	DESINTERESSA DO SOCIÁVEL

ANEXO K. Entrevista Pós-exame de Ressonância Magnética funcional**ENTREVISTA PÓS-EXAME RMF**

1. Como você se sentiu de uma forma geral?

2. Você voltaria para fazer o exame?

Tempo de resposta () < 2 seg () > 2 seg

3. Qual tarefa achou mais difícil de fazer?

4. Viu os estímulos claramente?

5. Teve alguma coisa que o incomodou durante o exame?

6. Sentiu dor ou sensação desconfortável pela posição? Pontuar de 0 a 10.

7. Dê uma nota de 0 (ruim) a 10 (excelente) para a sua impressão do exame.

Entrevistador(a): _____

ANEXO L – Avaliação Neuropsicológica – Resultado dos testes aplicados com suas médias, desvio padrão e valor de p, em ambos os grupos.

	Grupo Controle		Grupo de Pacientes		valor de p	
	média	sd	média	sd		
AC_acertos	91,6	± 21,7	93,9	± 24,3	0,780	n.s
AC_erros	1,4	± 1,9	1,3	± 1,3	0,830	n.s
AC_omissões	19,4	± 10,4	18,2	± 10,6	0,749	n.s
pontuação total	70,8	± 22,5	74,4	± 26,1	0,676	n.s
AC_percentil	32,9	± 25,2	45,6	± 29,0	0,188	n.s
T. Stroop						
Color (s)	875,0	± 178,8	903,5	± 149,4	0,635	n.s
Palavra (s)	1019,2	± 207,1	1128,7	± 218,7	0,158	n.s
Interferência (s)	1460,1	± 293,0	1586,0	± 348,0	0,275	n.s
Trail Making (s)						
Trail I (s)	1375,1	± 539,8	1314,6	± 181,3	0,662	n.s
Trail II (s)	2679,6	± 1347,5	2183,6	± 750,6	0,227	n.s
Trail III (s)	2812,2	± 1573,3	2719,1	± 976,4	0,847	n.s
Trail IV (s)	7044,3	± 3635,7	6981,9	± 3438,2	0,962	n.s
Trail V(s)	1632,7	± 579,2	1802,6	± 536,0	0,402	n.s
Fluência Verbal						
Animais	18,2	± 5,4	16,8	± 3,3	0,405	n.s
Frutas	15,1	± 3,5	14,4	± 3,3	0,334	n.s
F	14,7	± 3,7	11,2	± 3,7	0,012	0,012
A	13,7	± 4,1	10,7	± 3,2	0,034	0,034
S	11,7	± 3,9	9,8	± 3,6	0,172	n.s
FAS_Total	40,1	± 8,6	31,7	± 8,9	0,012	0,012
Teste RAVLT (n. de palavras)						
RAVLT_I	5,5	± 1,5	5,1	± 1,9	0,476	n.s
RAVLT_II	7,9	± 2,2	9,1	± 1,6	0,103	n.s
RAVLT_III	9,8	± 2,0	10,4	± 2,1	0,385	n.s
RAVLT_IV	11,0	± 2,2	11,4	± 1,9	0,623	n.s
RAVLT_V	11,6	± 2,4	11,5	± 1,7	0,943	n.s
RAVLT_B	5,7	± 1,3	4,9	± 1,7	0,151	n.s
RAVLT_Im	8,9	± 3,1	9,6	± 2,6	0,503	n.s
RAVLT_Tar	9,2	± 3,2	9,1	± 3,1	0,934	n.s
RAVLT_Rec	13,2	± 2,4	13,6	± 1,4	0,574	n.s
Teste de Dígitos						
Dígitos_OD	8,9	± 2,3	7,8	± 1,4	0,102	n.s
Dígitos_OI	5,4	± 1,5	4,5	± 1,3	0,092	n.s
total	14,3	± 3,4	12,3	± 2,1	0,051	0,051
Dígitos_Total(ponderado)	10,9	± 2,4	9,9	± 1,7	0,170	n.s
Teste BVMT						
BVMT_I	5,3	± 2,3	4,5	± 3,1	0,398	n.s
BVMT_II	6,9	± 2,5	7,4	± 2,8	0,624	n.s
BVMT_III	9,1	± 1,8	9,4	± 3,1	0,694	n.s
BVMT_Total Recall	21,3	± 6,1	21,3	± 7,9	0,996	n.s
BVMT_Learning(higher of trial 2 or 3)-trial 1	3,9	± 1,5	4,7	± 3,5	0,428	n.s
BVMT_Delay Rec	9,5	± 1,8	9,5	± 2,9	0,966	n.s
BVMT_Recognition	5,6	± 0,5	6,0	± 0,0	0,005	n.s
Teste Figura Complexa de Ray						
Ray_Cop	32,4	± 3,3	31,5	± 5,3	0,589	n.s
Ray_Cop(p)	51,4	± 35,8	46,3	± 22,3	0,464	n.s
Ray_Tar	18,9	± 5,7	18,4	± 5,5	0,811	n.s
Ray_Tar(p)	48,1	± 22,6	55,8	± 22,2	0,623	n.s
Avaliação de Inteligência WAIS-III						
Voc	37,0	± 9,6	33,3	± 8,5	0,257	n.s
Voc_pond	11,1	± 2,6	11,1	± 2,1	0,989	n.s
Matrizes	15,4	± 5,0	15,2	± 4,6	0,912	n.s
Matr_pond	11,2	± 2,6	12,1	± 2,6	0,330	n.s
QI reduzido	22,2	± 4,5	23,1	± 3,9	0,540	n.s
QI total	99,8	± 11,3	102,0	± 9,8	0,554	n.s

ANEXO M – Paradigma de memória - Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa, ajustada pelo tempo de reação à resposta correta, contraste controles maior que pacientes.

ANEXO N – Paradigma de memória - Mapa do Grupo controle (a), Mapa do grupo de pacientes (b) e mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa, contraste controles maior que pacientes (c).

ANEXO O – Paradigma de memória – Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa, ajustada as covariáveis neuropsicológicas: Dígitos (a), FAS (b) e BVMT reconhecimento (c).

ANEXO P– Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa, contraste controles maior que pacientes, com a subseleção da casuística.

ANEXO Q – Paradigma motor - Mapa do Grupo controle (a), Mapa do grupo de pacientes (b) e mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa (mão direita), contraste pacientes maior que controles (c).

ANEXO R – Paradigma de memória – Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa (mão direita), ajustada as covariáveis neuropsicológicas: Dígitos (a), FAS (b) e BVMT reconhecimento (c).

ANEXO S – Paradigma motor - Mapa do Grupo controle (a), Mapa do grupo de pacientes (b) e mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa (mão esquerda), contraste pacientes maior que controles (c).

ANEXO T – Paradigma de memória – Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa (mão esquerda), ajustada as covariáveis neuropsicológicas: Dígitos (a), FAS (b) e BVMT reconhecimento (c).

ANEXO U – Mapa da comparação entre os grupos da análise de PPI na ROI MAS, contraste pacientes maior controles.

ANEXO V – Mapa da comparação entre os grupos em relação a condição ativa (mão esquerda), contraste pacientes maior controles, com a subseleção da casuística.

ANEXO W – Perfil do Afogado do 17º. Grupamento de Bombeiros da Baixada Santista.

ARTIGO SUBMETIDO

Brain injury after drowning: later effects detected by functional magnetic resonance imaging

Journal:	Brain Injury
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Paper
Keywords:	functional MRI, neurobehavioral, neurological, neuropsychological, memory

SCHOLARONE™
Manuscripts

Research Article

Title: *Brain injury after drowning: later effects detected by functional magnetic resonance imaging.*

Authors: Nucci-da-Silva, Mariana Penteado¹; Lukasova, Katerina^{1,2}; Sato, João R.³; Amaro Jr, Edson¹

Filiation:

- ¹ LIM-44 (NIF - Neuroimagem Funcional), Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of São Paulo (USP), São Paulo (SP), Brazil.
- ² Faculdade de Psicologia, Universidade Cruzeiro do Sul, São Paulo, Brazil.
- ³ Center of Mathematics, Computation and Cognition, Universidade Federal do ABC, Santo André (SP), Brazil.

Correspondenting author: Nucci-da-Silva, Mariana Penteado, Departamento de Radiologia. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, s/n 3o andar. Cerqueira César. São Paulo – SP, Brazil. CEP- 05403-900. Phone: +55-11-3069-7919. Fax: + 55-11-3069-7095. E-mail address: marinucci@usp.br / eamaro@usp.br.

Short Title: Study of brain injury after drowning by fMRI.

Abstract

Objective: to describe neuropsychological and cerebral activity in working memory tasks by fMRI data in of long term drowning victims compared to healthy

Method: Subjects were recruited in the same city using data from the National Guard, and local hospitals. All were rescued by the same team (first aid and hospital care). Subjects surviving moderate gravity drowning episodes (at least loss of consciousness - degree 3 and 4 from (5), and no neuropsychiatric history were studied. We recruited 47 drowning subjects from which 18 (DS: 6men, $23.7 \pm 7.1y$) met the inclusion criteria and were compared to 18 healthy controls (HC: 5 women, $25.3 \pm 7.1y$), matched for IQ and formal education. A working memory (WM) transcultural paradigm (ICBM library, ref.6) was a block design. In the active WM condition (A), subjects had to decide if a target picture matched a set of 4 figures presented before and in the control condition (B) they had to inform an arrow direction. BOLD EPI images ($TR=2s, TE=32ms$, 3mmn voxels) were acquired on a 3.0T MR system. Images were analyzed using FSL software (7). Preprocessing included motion correction, spatial smoothing and transformation of image into standard. The activation group maps (general linear model) were thresholded at $Z\text{-voxel} > 1.96$ and corrected cluster-wise $p\text{-value} < 0.05$. Behavioral data in WM was analyzed for accuracy rate (ACR) and reaction time (RT) across the whole fMRI run. Furthermore, we investigated the connectivity between regions of each neural network paradigm by analyzing psychophysiological interaction (PPI) and direct correlation analysis between classical regions of the motor and memory networks.

Results: The neuropsychological performance of the groups were similar in most tests, but DS group showed differences with worse performance in and Digit (DS = 31.7 ± 8.9 ; CG = 40.0 ± 8.6 ; $p=0.01$) and FAS (DS = 12.3 ± 2.1 ; HC = 14.3 ± 3.7 ; $p=0.05$) tests, and had better performance in the recognition part of the BVMt test compared to the HC group (DS

=6,0; HC =5,6±0,05; p=0,01). In the memory task, HC group showed greater activation compared to DS group in the middle temporal gyrus and right cuneus, lingual and borders of the left intraparietal sulcus; this difference was modulated by performance on Digits, FAS and BVMT tests; we found no difference in the pattern of neural network on PPI analysis; there was, however, a higher correlation of the right frontoparietal network in the control group.

Conclusions: The neuropsychological performance differences found in this sample of drowning victims can be considered normal or mild abnormalities. Differences in brain activity in the network associated with memory task - a function often affected in more severe cases of drowning - may represent a neural reorganization mechanism. Our results show that changes in brain network associated with memory function is present even without apparent structural or neuropsychological impairment.

Keywords: Hypoxic encephalopathy, fMRI, drowning, near drowning, anoxic brain damage, working memory impairment/deficit.

Abbreviations: BOLD = blood oxygen level-dependent; fMRI = functional MRI; GLM = general linear model; ROIs = regions of interest; PPI = Psychophysiological interaction; WM = working memory

1. Introduction

Drowning is the process of experiencing respiratory impairment from submersion/immersion in liquid [1]. It produces considerable burden to public health, particularly in Brazil there are more than 1.3 million drowning victims in the country per year, representing 3.4 deaths per 100.000 inhabitants [2]. Brazil has a large offshore area, and is ranked first in a list of 50 countries in the world regarding natural water drowning, with 2,413 deaths (total: 9,754 deaths / weighted average: 180,6 deaths). [3] (WHO, 2003). Efficient rescue programs have increased the number of survivors in the past years. As a consequence, there is an increased number of drowning victims in our population, especially in countries with touristic activities in natural water resorts. These subjects are survivors of a particular mechanism of brain injury: hypoxia without hipoperfusion. The cascade of events involved in the brain of drowning victims is not well determined, and the physiological context is quite complex. Primary respiratory arrest often leads to brain dysfunction that tends to be transient, resulting in less severe and permanent damage than that caused by a primary ischemic insult. This is particularly true if the insult is purely hypoxic without circulatory arrest. Hypoxia seems to induce functional changes of the neuron (affecting neuronal processes at the synaptic level) without necessarily causing cell death. Thus, patients may be poorly responsive and even comatose after a pure hypoxic event, but may have a much better change for survival with good neurological recovery than those with cardiac arrest. [4]

There are few population-based surveillance studies on drowning incidents or prospective clinical studies of prognostic factors and outcomes of drowning events, especially in an adult population. Nevertheless, drowning victims apparently have a higher survival rate in comparison with patients that suffering from out-of-hospital primary cardiac arrest by another etiology [5,6] This group of patients also seems to have good neurologic

status after initial resuscitation, and usually have an overall good prognosis. This fact seems to be true even in spite of old age, presence of acute respiratory failure, or the presence of different co-morbidities. [7] In some isolated case reports, no neurological deficits are found following brain injury after drowning. [8]

Clinical literature reports a variable number of cognitive deficits and different outcomes in severe cases of drowning, such as visuospatial processing, executive functions and verbal fluency deficits - but the most commonly described cognitive dysfunction is memory impairment [9,10]

When analyzing these deficits using neuropsychological assessment, patients victims of drowning show deficits in divided attention, verbal and visual memory, especially in encoding, dominance visuospatial and verbal fluency [8,9,11,12,13,14,15,16] Other investigators have also described poor performances in working memory, executive function and fine motor coordination in drowning victims. [17,18]

Studying subjects surviving a drowning episode is important, not only because of the increased prevalence of this population group, but also regarding the mechanistic aspect: it allows analysis of the effect of a clearly and temporally defined single hypoxia injury event on the brain. Even more, the majority of these individuals had no prior neurological or developmental injuries – thus the effects of hypoxia can be considered of a single nature. Descriptions of other hypoxic events usually involve a combination of causes, thus making it less clear to distinguish each component burden in the final injury.

In this study we analysed neuropsychological and fMRI data of long term drowning victims compared to healthy controls. It is a rare opportunity to describe direct effects of hypoxia in the human brain and its later effects. Considering the currently available literature, even considering moderate hypoxic brain injury, we believe that the brain activity during the memory task is altered.

Our hypothesis is that the mechanism of hypoxia would act in the same systems, but with less severe effects. The structural damages detected in cases of worse neurological outcome are not present in mild cases, but the same areas may not be able to sustain the same functional level. On the other hand, loss of consciousness, hospitalization and lung injuries are found in the majority of patients classified as class 3 or 4, thus such moderate mechanism may be sufficient to produce function damage, or at least to provide conditions that could lead to functional lesions in the brain tissue, or adaptation.

2. Methods

Subjects

Drowning subjects were recruited in the same city using data from the National Guard and local hospitals. All subjects were attended by the same team (first aid and hospital care). The inclusion criteria for all participants were as follows: Male or female, more than 16 years-old; no history or present use of medications; no medical conditions known at the time of the exam. The drowning group had the following additional inclusion criteria: moderate gravity (classified as levels 3 or 4 according to the Drowning classification [19]; at least 1 year after the drowning accident, (chronic stage); and no previous neuropsychiatric diseases. We recruited 47 drowning subjects from which 18 (6 men; mean age = 23,7 years, SD = $\pm 7,1$ years, range = 16 - 43 years; mean years of education – 10,5 years, SD = $\pm 2,1$ years, range = 6 - 17 years), met the inclusion criteria and were compared to 18 healthy subjects matched for IQ and formal education (5 men; mean age = 25,3 years, SD = $\pm 7,1$ years, range = 16 - 47 years; mean years of education – 10,8 years, SD = $\pm 3,1$ years, range = 6 - 15 years). All were right-handed, neurologically normal, young adults, had normal or corrected-to-normal vision, had no history of neurological or psychological disorder, no self-reported health problems, no chronic medication

usage, and no past diagnoses and treatment of psychiatric illnesses. Two drowning subjects were excluded for claustrophobia. Three drowning subjects showed clinical symptoms similar to reports from posttraumatic stress disorder (PTSD) patients. However, we did not excluded theses participants since the symphomatology was strictly related to drowning event and all reported well functioning coping strategies – thus not fulfilling the criteria for PTSD. All subjects provided informed written consent, and the study was approved by the ethics committee of the Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Neuropsychological Assessment

All subjects were evaluated by neuropsychological testing sensitive to intelligence, memory and attention deficits. The tests comprised the following domains: attention/concentration/working memory (with measures for speed of information processing): Concentrated Attention (AC) [20]; Trail Making subtests from the Delis-Kaplan Executive function System [21]; episodic and procedural memory: Rey Auditory Verbal Learning Test [22]; *Brief Visuospatial Memory Test- Revised* (BVRT); Rey Osterrieth Complex Figure Test [23]; Digit Span; subtests form the Wechsler Intelligence Scale for adults- III [24]; Executive systems functioning: Controlled Oral Word Association (FAS) [25]; Stroop Colour-Interference Test [26]; estimate of intellectual functioning: vocabulary and matrix reasoning subtests form the Wechsler Intelligence Scale for adults-III [24];.

fMRI Experimental design

All participants performed the visual working memory task from the fMRI reference battery, available from the Laboratory of Neuro Imaging (LONI) (<http://www.loni.ucla.edu/ICBM/>) from the International Consortium for Brain Mapping (ICBM).

1
2
3 The visual working memory (WM) is a transcultural fMRI block design task (the original
4 name is “external ordering task”) consisting of consecutive “off” and “on” blocks, totaling 12
5 blocks per run (6 “off” and 6 “on”), with duration of 28 seconds each and total experiment time 5
6 min 48 s. In the “on” blocks, the subjects were presented with four abstract design stimuli
7 followed by a stop sign and a fifth stimulus for memory recall. Subject had to make forced
8 choice signaling via a button press whether the fifth stimulus was among the four presented
9 previously. Each stimulus was visible for 450 ms and was interleaved by blank screen
10 presented for 50 ms. The experimental design is depicted in Figure 1. This test was repeated
11 five times during each ‘on’ block. In the “off” blocks, the subjects had to respond with the left
12 button press every time they saw an arrow pointing to the left and the right button press every
13 time they saw an arrow pointing to the right, and not button press, for the arrows pointing up or
14 down. [28] The accuracy rate (ACR) and reaction times (RT) for correct on trials were stored for
15 off-line analyses.
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

34 **Procedure**

35
36 Data collection was performed between 2010 and 2013. All the tests were performed in
37 one day in sessions interleaved with rest breaks. The order of experimental sessions was
38 randomized: eight volunteers from the controls and ten subjects from the drowning performed
39 the neuropsychological assessment before the fMRI/MRI session.
40
41
42
43

44 All subjects practiced the fMRI tasks before entering the scanner in order to familiarize
45 with the procedures. During these training sessions we used a different set of images and the
46 training was repeated until 4 out of 5 correct responses in a row were achieved.
47
48
49
50

51 The stimulus was projected onto a screen positioned at the entrance of the scanner
52 bore, and subjects viewed the stimuli via a mirror mounted to the head coil. All stimuli were
53 presented centrally against a black background, using E-Prime v1.1 software (Psychology
54 Software Tools Inc., Pittsburgh, PA) for programming and synchronization during acquisition
55
56
57
58
59
60

(visual angle of 14.8 graus). An RF triggered TTL pulse was used to maintain the stimulus display software synchronized to the MR acquisition at every brain volume.

Data acquisition

Participants were scanned with a Phillips Achieva 3.0T fMRI scanner (Eindhoven, Netherlands) equipped with 80mT/m gradients and a 8 channel head coil. Head movement was minimized using foam padding and a tape across participants' foreheads. Experimental tasks were presented using E-Prime software version 1.0 (Psychology Software Tools, Inc., Pittsburgh, PA). Eye tracking was performed using ViewPoint (Arrington Research, Inc., Scottsdale, AZ) to ensure that the subject was performing the task maintaining the eye-gaze at the center of the screen.

The fMRI acquisition was based on gradiend recalled echo planar images (EPI) for the whole brain. Image parameters: TR=2s, TE=30ms, 3mm isotropic voxels, 39 AC-PC oriented slices, FOV = 240 mm and matrix 80x80. A total of 168 volumes were collected in 5min36sec.

We collected axial fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) images in order to access white matter lesions and eventual incidental findings (TR:11000ms; TI:2800ms; TE:130ms; T=3:18s; matríz size: 328x172; FOV:230x132 mm; slices:24; slice thickness of 5mm; inter-slice separation: 0.5 mm and reconstruction 512) and 3D T1 1mm isotropic voxels (TR:7s; TE:3.2s; t=5:58s; matríz size: 240x240; FOV:240x240 mm; flip angle=8 and reconstruction 240) serving as anatomical reference during the registration process. These images were visually inspected by an expert neuroradiologist with more than 15 years of clinical practice (E.A.).

Data processing

Behavioural data was analysed using Statistical Package for the Social Sciences software version 17 (SPSS Inc.). Demographic data analysis and behavioral data in WM was analyzed for accuracy rate (ACR) and reaction time (RT) for correct WM trials.

The fMRI data analysis was performed within FMRIB Software Library – FSL version 6.0 (Centre for Functional MRI of Brain – FMRIB, Analysis Group, Oxford, UK, [HTTP://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/](http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/)). The individual activation maps were obtained using pre-statistic processing with motion correction using MCFLIRT [27], slice-timing correction using Fourier-space time-series phase-shifting (regular up), non-brain removal using BET [29], spatial smoothing using a Gaussian kernel of FWHM 5 mm, highpass temporal filtering (Gaussian-weighted least-squares straight line fitting, with sigma=100.0s). Time-series statistical analysis was carried out using FILM with local autocorrelation correction [30]. $x.Z$ (Gaussianised T/F) statistic images were thresholded using clusters determined by $Z>2.3$ and a (corrected) cluster significance threshold of $P=0.05$ [31]. The registration was applied in the high-resolution structural image and the standard space image MNI-152 atlas (Montreal Neurological Institute, Montreal, QC, Canada) using a 12 parameter affine registration. The group activation maps were obtained using the mixed-effect model, in order to include the within-subject variances of parameters estimate. Statistic image were assessed for cluster-wise significance using a cluster-defining threshold of z-score >1.96 and corrected single-voxel level $p\text{-value}<0.05$. We determine brain regions more active in the working memory condition (“on” blocks) related to the baseline condition (“off” blocks) in between group comparison.

In addition, we also tested if there was a functional correlation between difference between these nodes of the front parietal network (LFxLP, LFxRP, RFxRP and RFxLP). We used a t-student for analysis of significance difference of mean correlation between groups. We have also investigated connectivity between frontoparietal regions through Psychophysiological Interaction (PPI) analyses and the mean correlation analysis in the same regions between

groups. We used four ROIs masks, represented by 6mm radius spheres centered at MNI coordinates obtained by a meta-analysis study concerning neural correlates of working memory [32]. The four ROIs were located in the right frontal (RF: $x=20,y=70,z=48$), left frontal (LF: $x=69,y=68,z=49$), right parietal (RP: $x=24,y=41,z=58$), and left parietal (LP: $x=66,y=42,z=59$) areas. Featquery was used to extract the time-series of each subject's ROIs. In the PPI analysis we determined which voxels' time-series showed a functional correlation with the ROI of interest only in the active condition in the WM task. The difference between groups in the PPI analysis and the mean effect of each group were displayed in a threshold group map ($z>2.3$; $p\text{-value} < 0.05$, corrected).

3. Results

Drowning information

There were no coexisting injuries (e.g., head or upper cervical spine) reported in medical records. The majority (83.33%) of the participants regained consciousness after arrival in the hospital; two patients were intubated on arrival. All patients received supplemental oxygen during transport to the hospital and in the hospital on spontaneous ventilation. Patients were discharged after 1–4 days (mean stay duration: ± 1 day and 9 hours).

Neurophysiological assessment

At first analys the DS group showed differences with worse performance in and Digit (DS = $31,7\pm 8,9$; CG = $40,0\pm 8,6$; $p=0,01$) and FAS (DS = $12,3\pm 2,1$; HC = $14,3\pm 3,7$; $p=0,05$) tests, and had better performance in the recognition part of the BVMT test compared to the HC group (DS = $6,0$; HC = $5,6\pm 0,05$; $p=0,01$). The drowning group showed only trends for worse performance on tests requiring verbal response, especially at the beginning of the learning test, following a trend for slower reaction times on the choice reaction task. However, no statistically

significant differences were observed on any of these tests after corrections for multiple comparisons.

fMRI - Behavior task performance

The performances in accuracy of the drowning ($73.0\% \pm 10.1\%$) and control ($70.2\% \pm 11.4\%$) groups did not differ ($p = 0,47$). However, there were significant differences between groups on reaction times for correct answer: the drowning group had shorter response times ($1163.8 \pm 198.5\text{ms}$) compared to the control group ($1324.6 \pm 191.7\text{ms}$; $p = 0,03$).

Functional images

Both groups showed similar regions when the active condition (WM) was compared to the baseline condition. We found positive BOLD effect in: bilateral prefrontal cortex, bilateral occipital-parietal cortex, bilateral inferior frontal gyrus, basal ganglia, hippocampus and cingulated anterior cortex. (figure 2 ab) When the two groups were compared directly (ANOVA test) the HC group showed an increased BOLD response in the middle temporal gyrus and temporo-parieto-occipital junction in the left hemisphere, and cuneus, lingual gyrus and border of intraparietal sulcus in the right hemisphere (figure 2c). We repeated the between-group comparison using reaction times as covariates in the ANOVA test, and the result was the same.

When we analysed the time-series connectivity in the same ROI, but not related to the paradigm modeling, we found between group differences. The right frontal region showed a positive correlation with the right parietal region in the HC group compared to the DS group (figure 3). However, we found no significant difference between groups in the 4 ROIs seeds in the functional connectivity analysis of the frontoparietal network using PPI. When analyzing only the DS group data, the LP seed region was positively correlated with the left angular gyrus (figure 3) during the active condition. The same analysis applied to the HC group produced no results.

4. Discussion

To our knowledge, this is the first study to report fMRI findings in drowning victims. We carefully selected volunteers with moderate degree of drowning and compared to a control group paired by demographics. We found differences in brain activation pattern when directly comparing between groups. The results were observed in drowning victims with no subjective complaint regarding their daily activities, under a comparable neuropsychological performance during the WM fMRI task and without any detectable abnormalities in structural brain images. Moreover, the regions with altered brain activation patterns were mostly located at the temporo-parietal and occipital regions, which are implicated in visual processing.

These findings underscore the importance moderate drowning episodes, capable of producing functional alteration in brain functions detected after more than a year. And, since we have used a transcultural fMRI paradigm from a large database of standardized stimulus, our results can also be compared to other population samples. This allows not only for possible replication, but also comparison with different hypoxic etiologies.

The regions showing different pattern of brain activation were found mostly in the parietal, temporal and occipital regions. These areas have been implicated in visual processing, and also visual memory, visual encoding and complex image recognition. Interestingly, cuneus is related to tasks involving distinction of complex images [33]. The right temporo-parieto-occipital junction was described as an association area (next to the visual area extraestriatal) and has important role in visual perception for color and shape of objects [34]. On the other hand lingual gyrus shows a response proportional to the number of new images to be stored in the memory per time unit [35].

Visual perception and visuomotor habilities were impaired in patients with severe deficits after drowning episodes [16]. IN the same direction, MRI findings were also found in parieto-occipital cortex in cases with hypoxia secondary to cardiac arrest [36,37,38]

1
2
3 Taking together, this indicated that the visual encoding component may be one of the
4 substrate for this group difference. We speculate that the drowning mechanism can produce a
5 long term a selective effect in the neural system subserving the visual working memory function.
6
7

8
9
10 On other hand, the brain differences in the between-group comparison are found mostly
11 out of frontoparietal region. The only region belonging to this network is the cortex located at the
12 borders of the left intraparietal sulcus, which is an important region in the modulation of attention
13 [39]. We interpreted this finding as a byproduct of the similarities in the behavior, since these
14 regions seems to have a key role in the task [30]. For instance, D'Esposito et al showed a linear
15 correlation between the frontal region and the number of items stored in the working memory
16 [40]. This may indicate that only certain components of the visual working memory task are
17 differently engaged in the DS group. A future investigation could include language components.
18 On the other hand, these studies should bear in mind that comparisons between different
19 speaking population samples will be more challenging.
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30

31 In agreement with the between-group fMRI differences described, we have also found
32 differences in the network pattern. Subjects from the DS group showed less correlation between
33 the frontoparietal network when compared to HC. However, this difference was not detected
34 when we looked at the same network (same ROIs) connectivity interactions with the paradigm.
35 This means that the correlation difference between groups was not specific to the WM task, but
36 rather could be due to modulation of large-scale networks. This possibility could be tested in
37 resting-state paradigms. Our *post-hoc* hypothesis is that this correlation differences could be
38 present when subjects are not engaged in a specific task.
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

51 Overall, analyzing the influence of hypoxia in the memory neural networks is a difficult
52 task, since the drowning phenomena remains a complex pathophysiological process. We
53 cannot define the exact substrate of each single subject injury by only interviewing participants.
54 Thus it is yet to be determining to which degree the absent differences in the
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

neuropsychological or fMRI tasks are only due to the intra-group differences. There is even another effect to be taken into consideration: natural neural rehabilitation, or plasticity. This is not clearly demonstrated in our subjects, since the recruitment of other areas to maintain performance was not verified. Nevertheless, even with the the lack of acitivity found in the DS group compared to HC group, we cannot conclude that plasticity is not involved in the differences found. A lesion could lead to system adaptation resulting in optimization of certain node of the network, and this could explain the difference in correlation between the frontoparietal network controls and drowned, mainly in right frontoparietal network.

5. Conclusion

In the present study, we showed that drowning subjects had similar performance in neuropsychological assessment without specific cognitive deficit. This result is different from previous literature data based on drowning population with varying degrees of hypoxia. However, we found differences in fMRI activation in a working memory task even without differences in behavioral performance. Since this function is frequently affected in more severe cases of drowning, our finding may represent a graded level of aggression. On the other hand, the pattern of connectivity of neural networks was different between groups. Together these results indicate that the memory task brain activation differences maybe mainly modulated by visuospatial processes, and whose pattern of connectivity does not change with the active status of the task. Finally, our results show that changes in brain network associated with memory function is present even without apparent structural or neuropsychological impairment.

6. Acknowledgements

This work was supported by grant 2005/56464-9, São Paulo Research Foundation (FAPESP), São Paulo (SP), Brazil and LIM-44, Department of Radiology, Faculty of Medicine, University of São Paulo (USP), São Paulo (SP), Brazil.

7. References

1. Idris AH, Berg RA, Bierens J, Bossaert L, Branche CM, Gabrielli A, Graves SA, et al., American Heart Association. Recommended guidelines for uniform reporting of data from drowning: the "Utstein style". *Circulation*. 2003;108(20):2565-74.
2. Szpilman D. Drowning Death in Brazil: Can we trust our database of death certificates concerning place and circumstance? Word Conference on Drowning Prevention, Danang – Vietnan 2011, Book of Abstracts, www.sobrasa.org/biblioteca/obitos_2009/Perfil%20epidemiol%C3%B3gico%20do%20afogamento%20no%20Brasil%20-%20Ano%202012.pdf
3. World Health Organization. Injury & Violence Prevention: Non-Communicable Disease and Mental Health. Factsheet on drowning – Geneva 2003. [www.who.int/violence_injury_prevention/Zuardi e Karniol, EAH, em inglês Visual](http://www.who.int/violence_injury_prevention/Zuardi_e_Karniol_EAH_em_ingles_Visual)
4. Busl KM and Greer DM. Hypoxic-ischemic brain injury: pathophysiology, neuropathology and mechanisms. *NeuroRehabilitation*. 2010;26(1):5-13
5. Claesson A, Svensson L, Silfverstolpe J and Herlitz J. Characteristics and outcome among patients suffering out-of-hospital cardiac arrest due to drowning. *Resuscitation*. 2008; 76(3): 381-387.

6. Grmec S, Strnad M, Podgorsek D. Comparison of the characteristics and outcome among patients suffering from out-of-hospital primary cardiac arrest and drowning victims in cardiac arrest. *Int J Emerg Med.* 2009 Apr;2(1):7-12.

7. Gregorakos L, Markou N, Psalida V, Kanakaki M, Alexopoulou A, Sotiriou E, Damianos A, Myrianthefts P. Near-Drowning: Clinical Course of Lung Injury in Adults. *Lung*, 2009;187(2): 93-7.

8. Bell TS, Ellenberg L, McComb JG. Neuropsychological outcome after severe pediatric near-drowning. *Neurosurgery* 1985;17:604–608.

9. Hughes SK, Nilsson DE, Boyer RS, Bolte RG, Hoffman RO, Lewine JD, Bigler ED. Neurodevelopmental outcome for extended cold water drowning: a longitudinal case study. *J Int Neuropsychol Soc*, 2002;8(4):588-95.

10. Samuelson H, Nekludov M and Levander M. Neuropsychological outcome following near-drowning in ice water: two adult case studies. *J Int Neuropsychol Soc.* 2008; 14(4): 660-666.

11. Pierro MM, Bollea L, Di Rosa G, Gisondi A, Cassarino P, Giannarelli P, Gentile M, Morocutti A, Ossella MT, Talone L, Stortini M. Anoxic brain injury following near-drowning in children. Rehabilitation outcome: three case reports. *Brain Inj.* 2005;19(13):1147-55.

12. Christophe C, Fonteyne C, Ziereisen F, Christiaens F, Deltenre P, De Maertelaer V and Dan B., Value of MR imaging of the brain in children with hypoxic coma. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2002; 23(4): 716-23.

13. Dubowitz DJ, Bluml S, Arcinue E and Dietrich RB, MR of hypoxic encephalopathy in children after near drowning: correlation with quantitative proton MR spectroscopy and clinical outcome. *AJNR Am J Neuroradiol*, 1998;19(9): 1617-27.

14. Holshouser BA, Ashwal S, Luh GY, Shu S, Kahlon S, Auld KL, Tomasi LG, Perkin RM, Hinshaw DB Jr., Proton MR spectroscopy after acute central nervous system injury: outcome prediction in neonates, infants, and children. *Radiology*, 1997;202(2): 487-96.
15. Kreis R, Arcinue E, Ernst T, Shonk TK, Flores R, Ross BD. Hypoxic encephalopathy after near-drowning studied by quantitative ¹H-magnetic resonance spectroscopy. *J Clin Invest*. 1996; 97(5): 1142-1154.
16. Suominen PK, Vallila NH, Hartikainen LM, Sairanen HI and Korpela RE. Outcome of drowned hypothermic children with cardiac arrest treated with cardiopulmonary bypass. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010; 54(10):1276-1281.
17. Amicuzi F, Cappelli F, Stortini M, Cherubini S and Pierro MM. Follow-up of neuropsychological function recovery in a 9-year-old girl with anoxic encephalopathy: A window on the brain re-organization processes. *Brain Injury*. 2005; 19(5): 371-388.
18. Ceulemans B, van Rhijin J, Kenis S, Krols R. Opisthotonus and intrathecal treatment with baclofen (ITB) in children. *Eur J Pediatr*, 2008;167:641-645
19. Szpilman D. Near-drowning and drowning classification: a proposal to stratify mortality based on the analysis of 1,831 cases. *Chest*. 1997; 112(3): 660-665.
20. CAMBRAIA, S. V. **Teste de atenção concentrada**. Manual. São Paulo: Vetor, 2003.
21. Delis DC., Kaplan E, and Kramer, JH. (2001a). *Delis-Kaplan Executive Function System (D-KEFS)*. San Antonio, TX: The Psychological Corporation.
22. Malloy-Diniz LF, Da Cruz MF, Torres V, Cosenza R. O Teste de Aprendizagem Auditivo-Verbal de Rey: normas para uma população brasileira. *Rev Bras Neurol*. 2000;36(3):79-83.
23. Oliveira, Margareth da Silva & Rigoni, Maisa dos Santos. Figuras complexas de Rey: teste de cópia e de reprodução de memória de figuras geométricas complexas. São Paulo: Casa do Psicólogo, 2010.

24. Wechsler D. WAIS-III: Manual para administração e avaliação. 1a. ed. São Paulo: Casa do Psicólogo; 2004. p. 161-192. (NASCIMENTO, 2004 Nascimento E. Adaptação, validação e normatização do WAIS-III para uma amostra brasileira).
25. Spreen O, Strauss E. A compendium of neuropsychological tests. New York: Oxford University Press, 1998:326-340
26. Lezak MD. Neuropsychological assessment (3rd ed.). New York: Oxford University Press, 1995:438-445
27. M. Jenkinson and P. Bannister and M. Brady and S. Smith. Improved optimisation for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *NeuroImage* 17:2(825-841) 2002.
28. Pajula J, Kauppi JP, Tohka J Inter-subject correlation in fMRI: method validation against stimulus-model based analysis. *PLoS One*. 2012;7(8):e41196
29. Smith. Fast Robust Automated Brain Extraction. *Human Brain Mapping* 17:3(143-155) 2002
30. M.W. Woolrich, B.D. Ripley, J.M. Brady and S.M. Smith. Temporal Autocorrelation in Univariate Linear Modelling of FMRI Data. *NeuroImage* 14:6(1370-1386) 2001.
31. Worsley KJ. Statistical analysis of activation images. Ch 14, in *Functional MRI: An Introduction to Methods*, eds. P. Jezzard, P.M. Matthews and S.M. Smith. OUP, 2001.
32. Rottschy C, Langner R, Dogan I, Reetz K, Laird AR, Schulz JB, Fox PT, Eickhoff SB. Modelling neural correlates of working memory: a coordinate-based meta-analysis. *Neuroimage*. 2012;60(1):830-46.
33. Blondin F and Lepage M, An fMRI study on memory discriminability for complex visual scenes. *Hum Brain Mapp*. 2008;29(10):1159-69.
34. Hotson JR, Anand S. The selectivity and timing of motion processing in human temporo-parieto-occipital and occipital cortex: a transcranial magnetic stimulation study. *Neuropsychologia*. 1999;37(2):169-79.

- 1
2
3 35. Rombouts SA, Scheltens P, Machielson WC, Barkhof F, Hoogenraad FG, Veltman DJ,
4 Valk J, Witter MP. Parametric fMRI analysis of visual encoding in the human medial
5 temporal lobe. *Hippocampus*. 1999;9(6):637-43.
6
7
8
9
10 36. Beltz EE and Mullins ME. Radiological Reasoning: Hyperintensity of the Basal Ganglia
11 and Cortex on FLAIR and Diffusion-Weighted Imagins. *American Journal of*
12 *Roentgenology* 2010;195:3, S1-S8.
13
14
15
16 37. Choi SP, Youn CS, Park KN, Wee JH, Park JH, Oh SH et al. Therapeutic hypothermia in
17 adult cardiac arrest because of drowning. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2012; 56(1): 116-
18 123.
19
20
21
22
23 38. Nucci-da-Silva, MP and Amaro Jr, E. A systematic review of Magnetic Resonance
24 Imaging and Spectroscopy in brain injury after drowning. *Brain Inj*. 2009;23(9):707-14.
25
26
27 39. Majerus S, Bastin C, Poncelet M, Van der Linden M, Salmon E, Collette F, Maquet P.
28 Short-term memory and the left intraparietal sulcus: focus of attention? Further evidence
29 from a face short-term memory paradigm. *Neuroimage*. 2007;35(1):353-67.
30
31
32
33 40. Rypma B, D'Esposito M. The roles of prefrontal brain regions in components of working
34 memory: effects of memory load and individual differences. *Proc Natl Acad Sci U S A*.
35 1999 May 25;96(11):6558–63.
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Figure Captions

Figure 1 - The visual working memory (WM) block design (type AB: activation condition and baseline condition) and total experiment time 5 min 48 s.

Figure 2– WM fMRI results. The color scale shows Z-scores value a) DS GLM group map (N=15; $p<0.05$); b) HC GLM group map (N=18; $p<0.05$). In both a) and b) anterior cingulate cortex, bilateral dorsolateral prefrontal cortex, occipital and parietal cortices were detected; c) Between group results contrast HC > DS (ANOVA mixed effect, cluster level $p<0.05$, corrected), the main cluster are found at the left middle temporal gyrus, temporo-parieto-occipital junction, and right cuneus, lingual gyrus and border of intraparietal sulcus. RH – right hemisphere and LH – left hemisphere

Figure 3 - Connectivity through correlation analyses between ROIs of frontoparietal network. In blue color, the healthy controls group (HC) and in red color, the drowning subjects group (DS)

Figure 4 – PPI results - the white dot indicates where the PPI seed region is left parietal-LP (66,42,59). The color scale shows Z-scores. Positive PPIs are indicated by yellow color. In drowning subjects, a ROI of LP had positively interacts with left angular gyrus.

The visual working memory (WM) block design (type AB: activation condition and baseline condition) and total experiment time 5 min 48 s.
445x130mm (300 x 300 DPI)

WM fMRI results. The color scale shows Z-scores value a) DS GLM group map (N=15; $p<0.05$); b) HC GLM group map (N=18; $p<0.05$). In both a) and b) anterior cingulate cortex, bilateral dorsolateral prefrontal cortex, occipital and parietal cortices were detected; c) Between group results contrast HC > DS (ANOVA mixed effect, cluster level $p<0.05$, corrected), the main cluster are found at the left middle temporal gyrus, temporo-parieto-occipital junction, and right cuneus, lingual gyri and border of intraparietal sulcus. RH - right hemisphere and LH - left hemisphere
194x96mm (300 x 300 DPI)

Connectivity through correlation analyses between ROIs of frontoparietal network. In blue color, the healthy controls group (HC) and in red color, the drowning subjects group (DS)
252x147mm (96 x 96 DPI)

155x63mm (96 x 96 DPI)

Peer Review Only

Table 1. Neuropsychological Assessment

	Healthy Control group (N=18)		Drowning group (N=15)		
	mean	sd	mean	sd	p-values
Concentrated Attention (CA)					
CA_hits	91,6	± 21,7	93,9	± 24,3	0,780
CA_error	1,4	± 1,9	1,3	± 1,3	0,830
CA_omissions	19,4	± 10,4	18,2	± 10,6	0,749
CA_percentile	32,9	± 25,2	45,6	± 29,0	0,188
Stroop Colour Interference Test					
Colour (s)	875,0	± 178,8	903,5	± 149,4	0,635
Word (s)	1019,2	± 207,1	1128,7	± 218,7	0,158
Interference (s)	1460,1	± 293,0	1586,0	± 348,0	0,275
Trail Making					
Trail Making I (s)	1375,1	± 539,8	1314,6	± 181,3	0,662
Trail Making II (s)	2679,6	± 1347,5	2183,6	± 750,6	0,227
Trail Making III (s)	2812,2	± 1573,3	2719,1	± 976,4	0,847
Trail Making IV (s)	7044,3	± 3635,7	6981,9	± 3438,2	0,962
Trail Making V (s)	1632,7	± 579,2	1802,6	± 536,0	0,402
Verbal Fluency (no. of words)					
Animals	18,2	± 5,4	16,8	± 3,3	0,405
Fruits	15,1	± 3,5	14,4	± 3,3	0,334
F	14,7	± 3,7	11,2	± 3,7	0,012
A	13,7	± 4,1	10,7	± 3,2	0,034
S	11,7	± 3,9	9,8	± 3,6	0,172
total FAS correct	40,1	± 8,6	31,7	± 8,9	0,012
Auditory Verbal learning Test (no. of words)					
trial I	5,5	± 1,5	5,1	± 1,9	0,476
trial II	7,9	± 2,2	9,1	± 1,6	0,103
trial III	9,8	± 2,0	10,4	± 2,1	0,385
trial IV	11,0	± 2,2	11,4	± 1,9	0,623
trial V	11,6	± 2,4	11,5	± 1,7	0,943
Interference	5,7	± 1,3	4,9	± 1,7	0,151
Following interference	8,9	± 3,1	9,6	± 2,6	0,503
Delayed	9,2	± 3,2	9,1	± 3,1	0,934
Recognition	13,2	± 2,4	13,6	± 1,4	0,574
WAIS-III					
Brief Visuospatial Memory Test- Revised					
BVMT_I	5,3	± 2,3	4,5	± 3,1	0,398
BVMT_II	6,9	± 2,5	7,4	± 2,8	0,624
BVMT_III	9,1	± 1,8	9,4	± 3,1	0,694
BVMT_Total Recall	21,3	± 6,1	21,3	± 7,9	0,996
BVMT_Learning(higher of tria	3,9	± 1,5	4,7	± 3,5	0,428
BVMT_Delay Rec	9,5	± 1,8	9,5	± 2,9	0,966
BVMT_Recognition	5,6	± 0,5	6,0	± 0,0	0,005
Complex Figure Test					
Copy	32,4	± 3,3	31,5	± 5,3	0,589
Delayed	18,9	± 5,7	18,4	± 5,5	0,811
WAIS-III					
Digit span forward	8,9	± 2,3	7,8	± 1,4	0,102
Digit span backward	5,4	± 1,5	4,5	± 1,3	0,092
Digit span total	14,3	± 3,4	12,3	± 2,1	0,051
Vocabulary	37,0	± 9,6	33,3	± 8,5	0,257
Matrix	15,4	± 5,0	15,2	± 4,6	0,912
Estimated IQ	22,2	± 4,5	23,1	± 3,9	0,540
Total IQ	99,8	± 11,3	102,0	± 9,8	0,554

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

This article was downloaded by: [Nucci-da-Silva, Mariana Penteado]

On: 19 August 2009

Access details: Access Details: [subscription number 913459192]

Publisher Informa Healthcare

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK

Brain Injury

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title-content=t713394000>

A systematic review of magnetic resonance imaging and spectroscopy in brain injury after drowning

Mariana Penteado Nucci-da-Silva ^a; Edson Amaro Jr ^a

^a Department of Radiology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil

Online Publication Date: 01 August 2009

To cite this Article Nucci-da-Silva, Mariana Penteado and Amaro Jr, Edson(2009)'A systematic review of magnetic resonance imaging and spectroscopy in brain injury after drowning',Brain Injury,23:9,707 — 714

To link to this Article: DOI: 10.1080/02699050903123351

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/02699050903123351>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

A systematic review of magnetic resonance imaging and spectroscopy in brain injury after drowning

MARIANA PENTEADO NUCCI-DA-SILVA & EDSON AMARO JR.

Departament of Radiology, Hospital das Clínicas, University of São Paulo, Brazil

(Received 5 September 2008; revised 13 March 2009; accepted 26 May 2009)

Abstract

Primary objective: To report Magnetic Resonance Imaging (MRI) and/or Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) findings in subjects with hypoxic encephalopathy caused by drowning in recent literature and to compare them with non-specific hypoxic encephalopathy.

Method: Systematic review of the Medline Database for bibliographic citations from 1996 to 2008.

Results: The studies included in this review described a total of 68 victims of drowning. From those, 58 performed MRS with a decrease of N-Acetyl-Aspartate/Creatine ratio in 75.86% ($n = 44$), and presence of lactate in 65.52% ($n = 38$) of the cases. MRI data was available in 46 cases. The main finding was brain edema in 78.26% ($n = 36$) and abnormalities of MRI signal in basal ganglia in 75% ($n = 27$) of the cases. Worse clinical outcomes were reported in conjunction with degree of MRI and MRS alterations. The findings were more consistent in the latter. Comparing these results with literature from non-specific hypoxic brain injury, the drowning process is apparently more variable.

Conclusions: We found a trend to a more variable pattern of brain injury as seen by MRI/MRS in victims of drowning, which may reflect the nature of the aggression. Possibly there are different mechanisms involved in aquatic submersion, such as temperature, not present in pure hypoxic injury.

Keywords: Drowning, near drowning, brain injury, MRI, MRS, anoxic brain damage, hypoxic encephalopathy, brain plasticity

Introduction

Drowning and near drowning have been defined in the past as different types of events. Previous definition for 'drowning' and 'near drowning' were respectively: an immersion incident that leads to death within 24 hours of the incident, and an immersion incident in which there is survival for at least 24 hours after the event. Here, we adopt the new definition of drowning (including near-drowning) as the process of experiencing respiratory impairment from submersion/immersion in liquid [1], regardless of the outcome.

Drowning and near-drowning are a significant cause of morbidity and mortality in the United States [2]. More than 2000 children die each year

by drowning in the U.S. Drowning is the second leading cause of death by unintentional injury in the pediatric population aged from 0 to 19 years (CDC, 1999). In Brazil, up to 1.3 million people are victims of drowning each year, eight thousands have a fatal outcome, from which 65% are children. Drowning is the second cause of death in the population ranging from 5 to 14 years old in our country [3].

Brain injury from hypoxic/anoxic episode in children and young adults is a frequently encountered scenario in clinical practice. Such injuries can have a huge lifelong impact on the patients [4]. The mortality rate of these patients within the first year is high and most survivors suffer from serious physical, cognitive and behavioral consequences.

Some patients do not regain full consciousness within the first weeks or months after the injury and remain in a Vegetative State (VS) or in a Minimally Conscious or low awareness State (MCS) for months or even years [5–7]. The family burden and economic costs are undoubtedly among the highest prices in health care, and are still present in the history of modern society, in spite of medical developments.

Among the different etiologies of brain anoxia, drowning has the most severe prognosis [8]. Drowning is a common cause of hypoxic encephalopathy in toddlers and older children and is a useful model for all types of hypoxic encephalopathy [9]. The mechanisms underlying development of brain damage from hypoxic encephalopathy are not well determined, but the physiological context is extremely complex. The drowning process adds even more complexity to it. During a drowning episode, neurological damage may be caused by a variety of factors, including cerebral hypoxia (following arrest of alveolar oxygen exchange), carbon dioxide narcosis, laryngospasm, pulmonary reflexes, or vagally mediated cardiac arrest [10].

Brain imaging with Magnetic Resonance (MR) has rapidly reached clinical maturity. The greater sensitivity of MR imaging to pathologic alteration of cerebral tissues assures its replacement of Computed Tomography (CT) as the first-line diagnostic imaging study for most patients with neurological manifestations [11].

More recently, findings at MR imaging (MRI) and proton MR spectroscopy (MRS) have been evaluated for use in predicting outcome in patients surviving drowning events. In neurologically impaired infants, MRS was found to be slightly more useful than MRI in helping differentiate the degree of severity into outcome groups [12].

MRS can provide information noninvasively in children and adults about specific metabolite ratios in normal and pathologic conditions. Changes in metabolite ratios and the presence of lactate at proton MR spectroscopy also provide prognostic information after brain injury [13]. Lowered N-acetylaspartate/creatine (NAA/Cr) and N-acetylaspartate/choline (NAA/Ch) ratios together with lactate have been associated with severe outcomes after brain injury in children with hypoxia-ischemia after drowning accidents [14].

However, magnetic resonance studies on the brain injury after a drowning accident are very rare, compared with the number of studies on anoxic brain injury [12, 15, 16]. In this study, we report magnetic resonance findings from literature in infants and children who were involved in drowning accidents and compare them with

non-specific hypoxia. The related main clinical outcomes are also reported.

Method

Literature search

A systematic literature search was conducted to identify the relevant studies. Searches were carried out in the databases MEDLINE and PUBMED from March 1996 to May 2008 using the following search terms: ('Magnetic Resonance' or 'MR' or 'MRI' or 'neuroimaging') and ('drowning' or 'near drowning' or 'hypoxic encephalopathy' or 'brain injury' or 'anoxic brain damage'). The reference lists of studies meeting the selection criteria and pertinent review articles were also searched manually for relevant articles. The inclusion criteria were as follows: (1) Studies published in English in peer-reviewed journals, between March 1996 and July 2008; (2) Magnetic resonance imaging or Magnetic resonance spectroscopy methodology; (3) Subjects with brain injury after drowning; (4) MRI data reported including at least axial T1- and fast-spin-echo T2-weighted sequences sampling all brain tissue in patients and/or peer. The authors reviewed all published materials manually.

Results

Systematic review

Using the search criteria above, we found 33 articles. Of these, 4 did not report MR brain analysis, 6 reported infection process following the drowning event, 4 reported drowning after traumatic accidents, 4 did not report in English language (although were refereed as such in the electronic search), and 2 studies used animal models. Despite mentioning it in the abstract, 15 did not report drowning in the sample, and 7 did not report their results in magnetic resonance imaging (MRI) in drowning subjects. Eight studies met our criteria for inclusion: (1) Pierro et al., 2005 [26]; (2) Hughes et al., 2002 [17]; (3) Chistophe et al., 2002 [19]; (4) Dubowitz et al., 1998; (5) Holshouser et al., 1997; (6) Kreis et al., 1996; (7) Auld et al., 1995 [20]; and (8) Samuelson et al., 2008 [18].

The articles described 8 relevant reports, consisting of 68 drowning patients, and 76 healthy subjects. Within this search, authors have also included 128 patients with brain damage related to other brain injuries. MRI results were reported alone or in conjunction with other techniques, mainly MRS, but also electroencephalography (EEG), magnetoencephalography (MEG) and computed tomography (CT). We have also found various approaches

for assessing neuropsychological effects [17]. All articles contained detailed clinical information at the hospital entry, and a neurological state evaluation was always present. MRI/MRS data were described either individually or as a group, sometimes associated with neurological classification, and no comprehensive picture/source data sets were provided as accompanying material on the web.

MR imaging findings

In the 8 studies included in this review, we evaluated 68 drowning cases. However, only 58 performed MRS with N-acetylaspartate (NAA) and lactate (LAC) relative measurements. In these studies, a decrease of NAA/Cr ratio was observed in 75.86% ($n=44$) and presence of LAC in 65.52% ($n=38$) of the cases.

MRI data was available in 46 cases. The main finding was the presence of brain edema in 78.26% ($n=36$). Of those, 13.89% ($n=5$) were focal and 86.11% ($n=31$) were diffuse edema. The second most prevalent finding was abnormalities of MR signal in basal ganglia. We observed this alteration in 75% ($n=27$) of the cases reported, of which 37% had information regarding specific nuclei. The lentiform ($n=6$), globi pallidi ($n=3$), caudate ($n=3$), putamen ($n=2$), subthalamic ($n=2$) and thalamic ($n=1$) were described. The studies have also reported alterations in the cerebral cortex (parietal and occipital area), but no specific information regarding the nature of MR signal—presumably representing cortical edema. The studies have also mentioned diffuse cerebral atrophy in 36% ($n=17$) and infarcts 14.56% ($n=4$), of which one was described in thalamic regions, the other 3 cases had no mention of anatomical location.

These results are summarized in Table I. We had great difficulty providing a more formal classification, since the techniques and methodology adopted varied, even if we set a quite stringent inclusion criteria.

Clinical aspects

In our review, the majority of the drowned subjects were children from 6 months to 11 years old, of the masculine gender, and almost all had cardio respiratory arrest after drowning ($n=43$). A great proportion arrived at the emergency room with Glasgow Coma Scale of 3 ($n=23$). As regards the neuropsychological outcome, we could only obtain data in seven cases from four publications. The clinical deficits were predominantly reported in the motor (dystonia), attentional and visuospatial domains.

Disucsion

Among the different etiologies of brain anoxia, drowning has the most severe prognosis and other factors that were worse in children with drowning were mortality, cognitive outcome, feeding outcome and duration of unconsciousness [8]. In our review, we observed that presence of diffuse brain edema and abnormalities in basal ganglia were the most frequent findings in drowning cases. Some studies have correlated NAA/Cr decrease and presence of lactate in MRS with poor neurological outcome (persistent vegetative state, severe neurological disability and death).

The presence of cerebral edema is not specific to drowning events: it is also associated with cardiac arrest, anesthesia accidents, asphyxia, and hypovolemia among other causes [9]. MR signal abnormalities in basal ganglia were also present. Previous reviews have also described MR signal alterations of basal ganglia, primary motor regions and mesencephalic structures [19]. The authors emphasized that the morphofunctional features of these structures may represent the common point determining susceptibility to hypoxia-ischemia conditions, as the all share high metabolic activity. In this sense it is important to notice that MR signal abnormalities of basal ganglia was strongly associated with older children drowning (>1 year old) and poor neurological outcome [20].

A recent study reported a pattern of injury according to the subject's age at the hypoxic-ischemic event [21]. In that report, preterm and term neonates showed basal ganglia and peri-Rolandic changes, whereas in the postnatal period diffuse gray matter alterations were found with relative sparing of the peri-Rolandic cortex; older children and adults showed more prominent alterations in basal ganglia, cerebral cortices, hippocampi and cerebellum. The authors stated that during the initial phases of cerebral development there is higher sensitivity to hypoxic-ischemic insults in the regions of increased metabolism, which are mostly in the peri-Rolandic cortex and basal ganglia. In adults, all gray matter have a similar pattern of metabolic rate, and especially basal ganglia, hippocampal and cerebellar neurons. There is no specific hypothesis about the pattern shown in early age children. These results cannot be understood in the light of the 'high energy dependence' theory, since the cortical mantle maintains the energetic distribution pattern of peri-Rolandic region similar in children before and after 1 year old.

MRI can be used to establish an early prognosis regarding neurological outcome and it is helpful even in the first days after the event. Some authors argue that in the first 3 days MR findings are clearly more

Table I. Summary of the literature reported herein.

First author, year	Study design	Sample size	Age	Methods	MRI/MRS findings and clinical outcome
Samuelson, 2008	Longitudinal case	2 drowning cases	33/56 years	MRI and Neuropsychological testing	<i>MRI</i> : no alterations in MRI. <i>Clinical outcome</i> : memory, visuo-spatial processing, executive function and language deficits.
Pierro, 2005	Prospective cohort [†]	3 drowning cases	Case 1: 22-month-old Case 2: 4-month-old Case 3: 15-month-old	MRI and Neuropsychological testing	<i>MRI</i> : Case 1 – (Day 7), revealed signal abnormalities in globi pallidi and in parietal regions of the cortical grey matter and subcortical white matter. Case 2 – (Day 5), revealed bilateral signal abnormalities in caudate nucleus and putamen and at grey matter–white matter junction; lateral ventricles had an ab extrinsecum compression and periencephalic liquor spaces were practically absent. Case 3 – (Day 3), revealed signal abnormalities in globi pallidi and in bilateral parieto-occipital cortical grey matter. The follow-up MRI scan showed no abnormalities in case 1, diffuse brain atrophy and bilateral signal abnormalities in caudate and lentiform nuclei in cases 2 and 3. <i>Clinical outcome</i> : good outcome – ataxia, dysexecutive syndrome (attention), ocular apraxia – motor, attention and visual deficits (case 1) and poor outcome – status dystonicus and epilepsy – motor, language, attention, cognitive, social and visual deficits (case 2 and 3). <i>MRI</i> : performed after 12 years from the drowning event revealed only mild degree of atrophy. <i>Clinical outcome</i> : poor outcome – PVS – Motor, memory, language, attention, cognitive and visual deficits.
Hughes, 2002	Longitudinal case	1 drowning case	2 to 14 years	MRI, MEG, and Neuropsychological testing	<i>MRI</i> : (day 7) showed supratentorial moderate cortical tumefaction and hyperintensity (compared with the cerebellar cortex). Watershed areas score, 4/4. Basal ganglia involvement can be seen with fuzzy margins and T2 hyperintensity (lentiform nuclei, caudate nuclei, and subthalamic nuclei hyperintensity. Basal ganglia score 4/4. After 14 days the event, the cortex is no longer swollen but is still diffusely hyperintense. Watershed areas score 4/4. More prominent basal ganglia hyperintensity can be seen, in one case. <i>Clinical outcome</i> : poor outcome – PVS (one case).
Christophe, 2002	Retrospective cohort [†]	40 hypoxia cases/4 drowning cases	6 weeks to 18 years old	MRI and clinical data	<i>MRI</i> : good outcome (6 patients) – in 5 patients the basal ganglia margins were abnormal and indistinct, in 4 patients had loss of the normal posteromedial margin of the lentiform nuclei. <i>Persistent vegetative state</i> (4 patients) – all patients had edema initially focal, became generalized with time; signal intensity abnormalities of the basal ganglia with hyperintense areas on T2-weighted images; cortical abnormalities; brain stem infarcts and development of cerebral atrophy.
Dubowitz, 1998	Retrospective cohort [†]	22 drowning cases	6 Months to 11 years old; mean age, 3.5 years	MRI, MRS and clinical data	<i>MRI</i> : good outcome (6 patients) – in 5 patients the basal ganglia margins were abnormal and indistinct, in 4 patients had loss of the normal posteromedial margin of the lentiform nuclei. <i>Persistent vegetative state</i> (4 patients) – all patients had edema initially focal, became generalized with time; signal intensity abnormalities of the basal ganglia with hyperintense areas on T2-weighted images; cortical abnormalities; brain stem infarcts and development of cerebral atrophy.

Death (12 patients) – focal edema in the occipital cortex in 5 patients and generalized in five; in all patients had indistinct margins of the basal ganglia were seen on T1 and hyperintensity was present on T2. Basal ganglia swelling was also present in six patients and cortical abnormalities were seen in four, one had evidence of laminar necrosis and two patients also had brain stem infarcts.

MRS: a decrease o NAA/Cr ratio was observed in all patients with persistent vegetative state and death; and presence of LAC in 3 patients with persistent vegetative state and all death.

Clinical outcome: good outcome in 6 patients and 12 patients death.

MRI: obtained 4 days after injury in a 5-week-old infant depicted diffuse cerebral edema, subfalcial herniation, and right frontal subdural and subarachnoid hemorrhage.

MRS: a decrease o NAA/Cr ratio and presence of LAC was observed in all patients with persistent vegetative state and death.

Clinical outcome: good or moderate outcome in 2 patients and PVS or death in 13 patients.

MRI showed brain swelling (edema) and at a later stage, cortical atrophy; Slight ventricular dilatation (good outcome) and gross (poor outcome); loss of gray-white contrast and focal thalamic changes.

MRS: a decrease o NAA/Cr ratio was observed in all patients with persistent vegetative state and death; and presence of LAC in patients death.

Clinical outcome: good outcome in 4 patients, moderate in 1 patient, severe/PVS in 3 patients and 8 deaths.

MRI: all cases had alterations in MRI (MRI score more than 4). In one case, on day 4 demonstrated diffuse edema.

MRS: a decrease o NAA/Cr ratio was observed in 1 patients with severe state and 1 PVS; and presence of LAC in 2 patients with PVS.

Clinical outcome: motor (trouble walking) and language (dysarthric) deficits in 1 case with severe outcome.

Holshouser, 1997	Retrospective cohort/ [†]	82 acute brain injury cases/ 15 drowning cases	5 infants (aged 1–18 months) and 10 children (aged 19–191 months)	MRI, MRS and clinical data	
Kreis, 1996	Retrospective cohort/ [†]	16 drowning cases	Few days to 14 years old	MRI, MRS and clinical data	
Auld 1995	Retrospective cohort/ [†]	30 infants and children with acute brain injury/5 drowning cases	16 to 44 months	MRI, MRS, Neuropsychological testing and clinical data	

MRS: proton Magnetic Resonance Spectroscopy; MRI: Magnetic Resonance Imaging; MEG: Magneto-Encephalography; PVS: persistent vegetative status; NAA: N-Acetyl-Aspartate; Ch: choline; Cr: creatine; LAC: lactate.

predictive of outcome, and this technique should be used in early days after the event. However, there are patients with established MRI abnormalities, which may experience a good neurological condition after the event. We believe that this apparent contradiction in results may be due to the lack of standardization in the neurological assessment. Factors such as brain maturity, duration and severity of insult, and timing of imaging studies all influence findings reported in MRI drowning literature [21]. Whereas some authors reported detailed data about the evaluation process adopted, others have only mentioned that the patient had 'normal neurological examination' [17, 18]. From the analysis shown here, it is likely that perhaps certain neurological deficits may be highly variant, even if they are always present. The reports of normal outcome despite MR alterations may not hold after scrutinizing in detail patients' performance on specific psychological tests.

The MRS studies evaluated here have also shown variable results in the literature reported. For instance, MRS is apparently more sensitive in older children (>18 months) and adults, since early brain spectra is highly dominated by peaks related to cell replication, and not necessarily neuronal integrity [13, 21]. Previous observations showed that the different metabolite ratios change with development. NAA/Cr ratios are reduced in young children when compared to adults [22]. As for the etiology, MRS seems to be more specific to hypoxic events and trauma than infectious process. Another application is to generally differentiate between hypoxic and non-hypoxic injury when a well-known and established insult is present. Apparently, in hypoxic events NAA/Cr reduction and lactate are present, but not in non-hypoxic events [20]. This pattern of MRS alteration can also be found in children with genetic alterations, and thus is not valid when there is no external brain insult clearly determined.

There is a time component modulating the imaging and spectroscopic findings after injury [14, 19]. The lactate spectroscopy peak, in animal models, reveals two elevations, the first increases almost immediately following a hypoxic-ischemic insult, probably as a result of hypoxemia and ensuing anaerobic glycolysis, only to fall back nearly to baseline over the next few hours as a result of restored perfusion and a second increase after 24–48 h as a result of a process known as 'secondary energy failure,' that portends a poor neurological outcome. NAA is usually normal in acute evaluation of hypoxic injury and does not significantly decline until approximately 48 h after the acute injury [21]. On the other hand, Kreis et al. showed that the most striking effect of drowning on the brain MRS is the progressive loss of NAA [14]. This confirms the

selective vulnerability of neurons, and provides evidence that after an initial loss within the first 24 hours, the NAA content continues to decrease for days after the original hypoxic insult. Furthermore lactate is singularly absent from the brain spectrum of most patients, even some in whom the outcome was poor. Thus, in this sense, NAA seems to be a more sensitive marker for drowning than lactate, since it has also been described by other authors as a more constant finding than lactate [13, 19].

The importance of lactate as an outcome predictor varied somewhat with the cause of brain injury. Lactate presence in children after hypoxic ischemic brain injury is demonstrated in two children who experienced cardiorespiratory arrest secondary to drowning accidents. One child (30 months old) examined 3 days after injury was reported to have a good outcome at follow-up performed 12 months after injury. Metabolite ratios were within normal limits, and no lactate was detected. The other child (44 months old) was examined on day 15: the spectrum showed a lactate doublet and all three metabolite ratios were abnormal by 2 standard deviations from normal. The latter patient remains in a vegetative state [13].

Although duration and severity of hypoxic injury are parameters that can alter the metabolic change, age seems not to be an important prognostic determinant. When patients with good/moderate outcomes of different ages were compared, the age factor (older group more than 18 months; and younger less than 18 months) did not produce a significant difference in NAA values; whereas the bad versus good outcome did show a significant decrease of NAA in both older and young groups [20].

Neuropsychological deficits were rarely reported in MRI studies. This poses a need for caution when interpreting our results. It is possible that mild drowning experiences do not provide image alterations, or even neuropsychological deficits. Nevertheless, the correct appreciation of this parameter has not been achieved, at least from the data homogeneity point of view.

MRI showed evidence of structural changes in basal ganglia in all cases with neuropsychological deficits, mainly in the lentiform, caudate and globi pallidi nuclei. In other reported hypoxic brain injury cases (not specifically related to drowning) the predominant clinical deficits were related to the motor system, and were reported with significant latency from the injury episode. These lesions were described as more frequently confined to globus pallidus and in general abnormalities in the basal ganglia and indeed other areas of the brain. Samuelson et al. [18] reported the neuropsychological outcome in two adult patients after accidental drowning, whose both cases had severe problems

with memory, visuospatial performance, executive function and verbal fluency, but the MRI of the brain after 2 months the accident showed no signs of anoxic damage [18]. Although the pattern of hypoxic brain damage is dictated by the pattern of neuronal activity in the nervous system, in those cases described, we did not find any specific mention to hippocampus, for instance [23]. At the same time, the putamen was not described as frequently as expected. We may have a different mechanism from drowning, perhaps related to water temperature or composition. We did not find a single MR cohort report of tropical accidents resulting in drowning mechanisms. This is indeed quite unexpected, since the majority of drowning is found in cities with large beaches [24, 25].

In the longitudinal study by Hughes et al., MRI did not provide marked evidence of structural changes, whereas neuropsychological examinations repeatedly identified areas of significant functional deficits [17]. In summary, MRI is not always sensitive enough to reveal the minor neurological damage and possibly, the anoxic damage could be seen on MRI performed sooner after the accident or using a MR-scanner with stronger magnetic field (3 Tesla).

Final considerations

Regarding the prognostic value of MR findings, MRS seems to be of important clinical relevance. Age should be a major determinant of the outcome from drowning, since children do have a better recovery than the adults, presumably because of the neuroplasticity of the brain. Interesting enough, when closely examining young children (<1 year old), this factor did not represent a determinant of better in the neurological recovery [19]. Another factor is related to the injury itself. Suomionen et al. reported that survival and quality of neurological outcome after drowning in adults and children is critically dependent on the duration of submersion. This seems to be the best (isolated) prognostic factor. Again, in this sense, children do not have a better outcome than adults.

Our study has other limitations: not all studies used the same image techniques, making it difficult to compare results; data was described differently individually or in group, and using different standards and clinical assessments; few studies included specifically cases with drowning, they usually approached other anoxic cerebral lesions as well—and we may argue that the mechanisms of neural tissue aggression should be different. There is just one study with one patient providing longitudinal neuropsychological data. From this perspective, it is

important to emphasize the need for more studies correlating neuroimaging, drowning and neuropsychology. The incorporation of new imaging techniques can provide the means to better understand the patient symptoms and disease mechanisms. For instance, we were not able to find reports on functional MRI of patients that had experienced drowning events. However, the reports included a number of cognitive deficits and different outcomes allowing one to argue if neuroplasticity is indeed one of the mechanisms responsible for this variation. fMRI studies could shed a light in this question.

Conclusion

This study represents an initiative of condensing the literature information about MRS/MRI findings in drowning victims. We did not find a common pattern of injury in MRI or MRS—and apparently the drowning process seems more variable than non-specific hypoxia, but there the data available in the revised literature are not sufficient to support this claim. In spite of the variety of results, there is clear correlation with age, time of drowning and techniques for image acquisition and analysis. More detailed research is necessary to better understand the specific nature of the drowning brain injury. It is possible that different mechanisms underlying the process of aquatic submersion—not present in non-specific hypoxic injury—are responsible for a greater variability of the MRI/MRS alterations. We hope studies with larger number of cases can help to investigate the accuracy of these observations.

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

References

1. van Beeck EF, Branche CM, Szpilman D, Modell JH, Bierens JJLM. A new definition of drowning: Towards documentation and prevention of a global public health problem. *Bulletin of the World Health Organization* 2005;83(11):853–856.
2. O'Flaherty JE, Pirie PL. Prevention of pediatric drowning and near-drowning: A survey of members of the American Academy of Pediatrics. *Pediatrics*, 1997;99(2):169–174.
3. Orłowski JP, Szpilman D. Drowning. Rescue, resuscitation, and reanimation. *Pediatric Clinics of North Am* 2001;48(3): 627–646.
4. Levin HS. Neurobehavioral outcome of closed head injury: Implications for clinical trials. *Journal of Neurotrauma* 1995;12(4):601–610.
5. Andrews K. International Working Party on the Management of the Vegetative State: Summary report. *Brain Injury* 1996;10(11):797–806.

6. Giacino J, Zasler N, Katz DI, Kelly JP, Rosenberg JH, Filley CM. Development of practice guidelines for assessment and management of the vegetative and minimally conscious states. *Journal of Head Trauma Rehabilitation* 1997;12:79–89.
7. Giacino JT, Ashwal S, Childs N, Cranford R, Jennett B, Katz DI, Kelly JP, Rosenberg JH, Whyte J, Zafonte RD, et al. The minimally conscious state: Definition and diagnostic criteria. *Neurology* 2002;58(3):349–353.
8. Kriel RL, Krach LE, Luxenberg MG, Jones-Saete C, Sanchez J. Outcome of severe anoxic/ischemic brain injury in children. *Pediatric Neurology* 1994;10(3):207–212.
9. Dubowitz DJ, Bluml S, Arcinue E, Dietrich RB. MR of hypoxic encephalopathy in children after near drowning: Correlation with quantitative proton MR spectroscopy and clinical outcome. *AJNR American Journal of Neuroradiology* 1998;19(9):1617–1627.
10. Levin DL. Drowning and near-drowning. *Pediatric Clinics of North America* 1993;40(2):321–336.
11. Brant-Zawadzki M. MR imaging of the brain. *Radiology* 1988;166(1 Pt 1):1–10.
12. Kimura H, Fujii Y, Itoh S, Matsuda T, Iwasaki T, Maeda M, Konishi Y, Ishii Y. Metabolic alterations in the neonate and infant brain during development: Evaluation with proton MR spectroscopy. *Radiology* 1995;194(2): 483–489.
13. Holshouser BA, Ashwal S, Luh GY, Shu S, Kahlon S, Auld KL, Tomasi LG, Perkin RM, Hinshaw Jr DB. Proton MR spectroscopy after acute central nervous system injury: Outcome prediction in neonates, infants, and children. *Radiology* 1997;202(2): 487–496.
14. Kreis R, Arcinue E, Ernst T, Shonk TK, Flores R, Ross BD. Hypoxic encephalopathy after near-drowning studied by quantitative ¹H-magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Clinical Investigation* 1996;97(5):1142–1154.
15. Arbelaez A, Castillo M, Mukherji SK. Diffusion-weighted MR imaging of global cerebral anoxia. *AJNR American Journal of Neuroradiology* 1999;20(6):999–1007.
16. Takahashi S, Higano S, Ishii K, Matsumoto K, Sakamoto K, Iwasaki Y, Suzuki M. Hypoxic brain damage: Cortical laminar necrosis and delayed changes in white matter at sequential MR imaging. *Radiology* 1993;189(2):449–456.
17. Hughes SK, Nilsson DE, Boyer RS, Bolte RG, Hoffman RO, Lewine JD, Bigler ED. Neurodevelopmental outcome for extended cold water drowning: A longitudinal case study. *Journal of the International Neuropsychological Society* 2002;8(4):588–595.
18. Samuelson H, Nekludov M, Levander M. Neuropsychological outcome following near-drowning in ice water: Two adult case studies. *Journal of the International Neuropsychological Society* 2008;14(4):660–606.
19. Christophe C, Fonteyne C, Ziereisen F, Christiaens F, Deltenre P, De Maertalaer V, Dan B. Value of MR imaging of the brain in children with hypoxic coma. *AJNR American Journal of Neuroradiology* 2002;23(4):716–723.
20. Auld KL, Ashwal S, Holshouser BA, Tomasi LG, Perkin RM, Ross BD, Hinshaw Jr DB. Proton magnetic resonance spectroscopy in children with acute central nervous system injury. *Pediatric Neurology* 1995;12(4):323–334.
21. Huang BY, Castillo M. Hypoxic-ischemic brain injury: Imaging findings from birth to adulthood. *Radiographics* 2008;28(2):417–439; quiz 617.
22. Wootton-Gorges SL, Buonocore MH, Kuppermann N, Marcin JP, Barnes PD, Nely EK, DiCarlo J, McCarthy T, Glaser NS. Cerebral proton magnetic resonance spectroscopy in children with diabetic ketoacidosis. *AJNR American Journal of Neuroradiology* 2007;28(5):895–899.
23. Vendrame M, Azizi SA. Pyramidal and extrapyramidal dysfunction as a sequela of hypoxic injury: Case report. *BMC Neurology* 2007;7:18.
24. Szpilman D. Near-drowning and drowning classification: A proposal to stratify mortality based on the analysis of 1,831 cases. *Chest* 1997;112(3):660–665.
25. Szpilman D, Soares M. In-water resuscitation—is it worthwhile? *Resuscitation* 2004;63(1):25–31.
26. Pierro MM, Bollea L, Di Rosa G, Gisondi A, Cassarino P, GIAnnarelli P, Gentile M, Morocutti A, Ossella MT, Talone L, Stortini M. Anoxic brain injury following near-drowning in children. Rehabilitation outcome: Three case reports. *Brain Injury* 2005;19(13):1147–1155.
27. Dubowitz DJ, Bluml S, Arcinue E, Dietrich RB. MR of hypoxic encephalopathy in children after near drowning: Correlation with quantitative proton MR spectroscopy and clinical outcome. *AJNR American Journal of Neuroradiology* 1998;19(9):1617–1627.
28. Holshouser BA, Ashwal S, Luh GY, Shu S, Kahlon S, Auld KL, Tomasi LG, Perkin RM, Hinshaw DB. Proton MR spectroscopy after acute central nervous system injury: Outcome prediction in neonates, infants, and children. *Radiology* 1997;202(2):487–496.
29. Kreis R, Arcinue E, Ernst T, Shonk TK, Flores R, Ross BD. Hypoxic encephalopathy after near-drowning studied by quantitative ¹H-magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Clinical Investigation* 1996;97(5):1142–1154.