

**LEANDRO TAVARES LUCATO**

Análise comparativa entre as imagens convencionais  
de ressonância magnética do encéfalo e a  
espectroscopia de prótons na doença de Wilson

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

Área de concentração: Radiologia

Orientadora: Profa. Dra. Claudia da Costa Leite

São Paulo

2003

## **FICHA CATALOGRÁFICA**

*“Experience is not what happens to a man; it is what a man does with what happens to him.”*

(Aldous Huxley)

## *Dedicatória*

---

À minha esposa **Jeanette**, pelo amor e suporte incondicionais,  
indispensáveis, para a realização deste trabalho e  
para a minha vida.

Aos meus pais, **Armando e Alice**, sempre um porto seguro  
nas dificuldades, pelo apoio e carinho que  
marcaram minha personalidade de forma  
indelével.

À minha irmã **Juliana**, pela doçura que sempre trouxe a  
todos os nossos momentos juntos.

## *Agradecimientos*

---

À minha orientadora, **Profa. Dra. Claudia da Costa Leite**, a quem devo o início de minha carreira na neurorradiologia, agradeço pela amizade, incentivo e ensinamentos; também pelo suporte e estímulo constantes para a realização deste trabalho; além de ser exemplo como profissional e pessoa, desempenhando todas as suas tarefas com correção acima de tudo.

Aos meus tios **Fernando e Maria**, minha avó **Helena**, meus primos **Cláudio, Fátima e Cláudia**, agradeço pelos momentos felizes compartilhados e a compreensão pela ausência relativa causada pela realização deste trabalho.

Aos meus sogros, **Armando e Suzete**, e meus cunhados **Jefferson e Jeffrey**, pelo auxílio em todas as situações e também pela compreensão da ausência relativa causada em virtude da elaboração deste estudo.

Ao **Prof. Dr. Egberto Reis Barbosa**, pelo auxílio inestimável no estudo da doença de Wilson, meus sinceros agradecimentos pelo tempo passado comigo avaliando os pacientes e esclarecendo minhas dúvidas.

Ao **Dr. Alexandre A. C. Machado**, pelo auxílio no estudo dos pacientes desta casuística e pelas valiosas informações clínicas obtidas, além da rica troca de experiências.

Ao **Prof. Dr. Carlos Alberto Buchpiguel** e ao **Prof. Dr. José Guilherme Caldas Pereira**, pelas sugestões valiosíssimas que contribuíram para enriquecer este trabalho.

À **Dra. Maria Concepción Garcia Otaduy**, pela amizade, troca de informações e pelos ensinamentos, cuja ajuda foi inestimável na preparação dos dados desta casuística.

Ao **Dr. Luiz Antonio Pezzi Portela e Dr. Flávio Madureira Padula**, pelos ensinamentos que muito contribuíram para a minha formação neurorradiológica e em radiologia de cabeça & pescoço.

À **Alda Souza Silva Curvelo**, pela ajuda no recrutamento dos voluntários, marcação e realização dos exames deste protocolo.

Aos **técnicos, biomédicos, pessoal da enfermagem e administrativo do Setor de Ressonância Magnética do HCFMUSP**, pela ajuda neste trabalho e pela colaboração na rotina diária de atendimento aos pacientes.

Aos **colegas dos Centros de Diagnóstico por Imagem dos Hospitais Alemão Oswaldo Cruz, do Coração e Santa Catarina**, pelo auxílio e compreensão necessários durante a elaboração deste trabalho.

Aos **pacientes com doença de Wilson e seus familiares**, pela colaboração e compreensão inestimáveis na realização desta pesquisa.

Aos **voluntários**, pelo tempo e paciência despendidos durante sua colaboração neste estudo.

À **FAPESP**, pelo auxílio através de projeto multi-usuário 99/09593.

## *Sumário*

---

	página
Lista de abreviaturas .....	xii
Lista de símbolos .....	xiv
Lista de tabelas .....	xv
Lista de gráficos .....	xvi
Lista de figuras .....	xvii
Resumo .....	xix
<i>Summary</i> .....	xxi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	5
3. REVISÃO DA LITERATURA .....	7
3.1 Conceito de doença de Wilson .....	8
3.2 Histórico da doença de Wilson .....	8
3.3 Genética da doença de Wilson .....	11
3.4 Fisiopatologia da doença de Wilson .....	12
3.5 Neuropatologia na doença de Wilson .....	14
3.6 Quadro clínico na doença de Wilson .....	15
3.7 Diagnóstico da doença de Wilson .....	17
3.8 Tomografia computadorizada e ressonância magnética na doença de Wilson .....	18
3.9 Espectroscopia de prótons por ressonância magnética .....	23
4. CASUÍSTICA E MÉTODOS .....	38
4.1 Casuística .....	39
4.2 Método .....	41
5. RESULTADOS .....	57
5.1 Quadro clínico .....	58
5.2 Escore neurológico .....	59
5.3 Imagens convencionais de ressonância magnética .....	60
5.4 Escore das imagens convencionais de ressonância magnética .....	70
5.5 Espectroscopia de prótons por ressonância magnética nos pacientes X controles .....	71
5.6 Escore neurológico X espectroscopia de prótons por ressonância magnética dos pacientes .....	81
5.7 Escore das imagens convencionais de ressonância magnética X espectroscopia de prótons por ressonância magnética dos pacientes .....	84
6. DISCUSSÃO .....	89
7. CONCLUSÕES .....	105
8. ANEXOS .....	107
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	122

## *Listas*

---

## *Lista de abreviaturas*

ADP	adenosina difosfato
ATP	adenosina trifosfato
AMARES	<i>advanced method for accurate, robust and efficient spectral fitting</i>
BAL	<i>British Anti-Lewisite</i>
CHESS	<i>chemical shift selective</i>
Co	colina
Cr	creatina
DW	doença de Wilson
ERM	espectroscopia de prótons por ressonância magnética
ES	eco de spins
ESR	eco de spins rápido
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FLAIR	<i>fluid attenuated inversion recovery</i>
FTP	<i>file transfer protocol</i>
GE	<i>General Electric</i>
Glx	glutamina/glutamato
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HLSVD	<i>Hankel-Lanczos singular value decomposition</i>
IRM	imagens convencionais de ressonância magnética
Lac	lactato
Lip	lipídios
LM	largura média dos picos
MRUI	<i>magnetic resonance user interface</i>
mI	mio-inositol
NAA	N-acetil aspartato
NEX	número de excitações por ciclo

ppm	partes por milhão
PRESS	<i>point resolved spectroscopy</i>
PROBE	<i>proton brain examination</i>
QIL	queda de indução livre
RM	ressonância magnética
SAGE	<i>spectroscopy analysis General Electric</i>
STEAM	<i>stimulated echo acquisition mode</i>
Tau	taurina
TE	tempo de eco
TI	tempo de inversão
TM	tempo de mistura
TR	tempo de repetição
SNC	sistema nervoso central
VOI	volume de interesse

## *Lista de símbolos*

cm	centímetros
Fe	ferro
g	grama
Hz	Hertz
=	igual a
>	maior que
<	menor que
M	molar (mol/litro)
µg	micrograma
mM	milimolar (milimol/litro)
mm	milímetros
ms	milissegundos
mT	militesla
T	Tesla

## *Lista de tabelas*

		página
TABELA 1	Parâmetros técnicos de ressonância magnética das seqüências utilizadas .....	44
TABELA 2	Análise dos volumes de interesse nos núcleos da base dos pacientes com DW .....	72
TABELA 3	Análise dos volumes de interesse nos núcleos da base dos controles .....	72
TABELA 4	Análise dos volumes de interesse na substância branca frontal dos pacientes com DW .....	74
TABELA 5	Análise dos volumes de interesse na substância branca frontal dos controles .....	75
TABELA 6	Análise dos volumes de interesse na cortical parieto-occipital dos pacientes com DW .....	77
TABELA 7	Análise dos volumes de interesse na cortical parieto-occipital dos controles .....	77
TABELA 8	Análise da largura média dos picos das três localizações estudadas nos pacientes com DW .....	79
TABELA 9	Análise da largura média dos picos das três localizações estudadas nos controles .....	80
TABELA 10	Análise de variância para regressão entre escore neurológico e relação N-acetil aspartato/creatina nos núcleos da base .....	82
TABELA 11	Análise de variância para regressão entre escore neurológico e relação mio-inositol/creatina nos núcleos da base .....	84
TABELA 12	Análise de variância para regressão entre escore das IRM e relação N-acetil aspartato/creatina nos núcleos da base .....	86
TABELA 13	Análise de variância para regressão entre escore das IRM e relação mio-inositol/creatina nos núcleos da base .....	88

## *Lista de gráficos*

		página
GRÁFICO 1	Distribuição dos pacientes por sexo .....	40
GRÁFICO 2	Distribuição dos voluntários por sexo .....	41
GRÁFICO 3	Frequência relativa das manifestações neurológicas dos pacientes com DW .....	59
GRÁFICO 4	Frequência relativa dos escores neurológicos dos pacientes com DW .....	60
GRÁFICO 5	Frequência relativa das estruturas anatômicas acometidas (hipersinal em T2) nas IRM dos pacientes com DW .....	65
GRÁFICO 6	Frequência relativa das estruturas anatômicas acometidas (hipossinal em T2) nas IRM dos pacientes com DW .....	68
GRÁFICO 7	Frequência relativa dos escores das IRM dos pacientes com DW .....	70
GRÁFICO 8	Comparação das médias das relações entre os metabólitos dos pacientes com DW e dos controles nos núcleos da base.	73
GRÁFICO 9	Comparação das médias das relações entre os metabólitos dos pacientes com DW e dos controles na substância branca frontal .....	75
GRÁFICO 10	Comparação das médias das relações entre os metabólitos dos pacientes com DW e dos controles na cortical parieto-occipital .....	78
GRÁFICO 11	Comparação das médias das larguras médias dos picos das ERMs dos pacientes com DW e dos controles nas três localizações estudadas .....	80
GRÁFICO 12	Gráfico de dispersão entre escore neurológico e relação N-acetil aspartato/creatina nos núcleos da base (as retas vermelhas indicam um intervalo de predição de 95%) .....	81
GRÁFICO 13	Gráfico de dispersão entre escore neurológico e relação mio-inositol/creatina nos núcleos da base (as retas vermelhas indicam um intervalo de predição de 95%) .....	83
GRÁFICO 14	Gráfico de dispersão entre escore das IRM e relação N-acetil aspartato/creatina nos núcleos da base (as retas vermelhas indicam um intervalo de predição de 95%) .....	85
GRÁFICO 15	Gráfico de dispersão entre escore das IRM e relação mio-inositol/creatina nos núcleos da base (as retas vermelhas indicam um intervalo de predição de 95%) .....	87

## *Lista de figuras*

	página
FIGURA 1	Espectroscopia de prótons com volume de interesse único realizada pela técnica STEAM demonstrando os picos estudados ..... 35
FIGURA 2	Imagem no plano axial ponderada em T2, demonstrando a localização do volume de interesse na região dos núcleos da base ..... 49
FIGURA 3	Imagem no plano axial ponderada em T2, demonstrando a localização do volume de interesse na cortical parieto-occipital ..... 49
FIGURA 4	Imagem no plano axial ponderada em T2, demonstrando a localização do volume de interesse na substância branca frontal ..... 50
FIGURA 5	Imagens no plano axial ponderadas em T2 ESR (caso 8) demonstram: <b>A)</b> Áreas de hipersinal nos núcleos caudados, lentiformes e nos tálamos. <b>B)</b> Áreas de hipersinal na ponte. <b>C)</b> Áreas de hipersinal no mesencéfalo ..... 62
FIGURA 6	Imagem no plano axial ponderada em FLAIR (caso 12) demonstra áreas de hipersinal na substância branca frontal bilateralmente ..... 63
FIGURA 7	<b>A)</b> Imagem no plano coronal ponderada em T2 ES (caso 36) demonstra áreas de hipossinal nos núcleos lentiformes. <b>B)</b> Imagem semelhante obtida em voluntário ..... 66
FIGURA 8	<b>A)</b> Imagem no plano coronal ponderada em T2 ES (caso 12) demonstra áreas de hipossinal nos núcleos rubros e na substância negra bilateralmente. Notar ainda o hipersinal nos núcleos lentiformes. <b>B)</b> Imagem semelhante obtida em voluntário ..... 66
FIGURA 9	<b>A)</b> Imagem no plano coronal ponderada em T2 ES (caso 36) demonstra áreas de hipossinal nos núcleos caudados. <b>B)</b> Imagem semelhante obtida em voluntário ..... 67
FIGURA 10	<b>A)</b> Imagem no plano coronal ponderada em T2 ES (caso 31) demonstra áreas de hipossinal nos núcleos denteados cerebelares. <b>B)</b> Imagem semelhante obtida em voluntário ..... 67
FIGURA 11	Imagem no plano axial ponderada em T1 (caso 18) demonstra áreas de hipersinal nos globos pálidos ..... 69

FIGURA 12	<b>A)</b> ERM nos núcleos da base (caso 17) demonstra a redução do pico do N-acetil aspartato em relação ao da creatina (linha verde). Notar ainda o aumento do pico do mio-inositol (seta). <b>B)</b> ERM na mesma localização obtida em voluntário.....	73
FIGURA 13	<b>A)</b> ERM na substância branca frontal (caso 3) demonstra a redução do pico do N-acetil aspartato em relação ao da creatina (linha vermelha). <b>B)</b> ERM na mesma localização obtida em voluntário .....	76
FIGURA 14	<b>A)</b> ERM na cortical parieto-occipital (caso 17) demonstra a redução do pico do N-acetil aspartato em relação ao da creatina (linha azul). <b>B)</b> ERM na mesma localização obtida em voluntário .....	78

## *Resumo*

---

LUCATO, L.T. **Análise comparativa entre as imagens convencionais de ressonância magnética do encéfalo e a espectroscopia de prótons na doença de Wilson.** São Paulo, 2003. 139 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

A doença de Wilson (DW) é rara, de herança autossômica recessiva, com prevalência estimada de 1 em 30.000 nascidos vivos, causada por distúrbio no metabolismo do cobre, com sede no fígado e que causa acúmulo do metal primeiramente no hepatócito e secundariamente em outros tecidos (encéfalo, córnea, rins e outros). Os objetivos deste trabalho foram: comparar os achados da espectroscopia de prótons por ressonância magnética (ERM) dos pacientes com DW aos do grupo controle em três localizações (núcleos da base, substância branca frontal e córtex parieto-occipital); correlacionar o grau de acometimento neurológico (através de um escore) e a ERM nos núcleos da base (NB); e correlacionar as imagens convencionais de ressonância magnética (IRM), mensuradas também através de um escore, e a ERM nos NB. Avaliamos 34 pacientes com DW (idades: 13-43 anos) usando seqüências multiplanares ponderadas em T1, T2 (eco de spins e eco de spins rápido) e FLAIR; e a ERM nos três locais do cérebro, feita pela técnica STEAM (*stimulated echo acquisition mode*), com tempo de eco curto e volume de interesse único. O grupo controle (n= 37, idades: 12-43 anos) foi submetido basicamente ao mesmo protocolo. As ERMs foram pós-processadas e obtidas as relações: NAA/Cr, Co/Cr, mI/Cr e Glx/Cr; o escore neurológico foi feito atribuindo-se uma nota de 0 a 3 para 13 sinais e sintomas mais freqüentes na DW, variando entre 0 e 39; e o escore das IRM foi feito atribuindo-se 1 ponto para cada estrutura acometida com hipersinal em T2, hipossinal em T2 e/ou hipersinal em T1, variando entre 0 e 17. Comparamos as relações entre os metabólitos estudados nas ERMs dos pacientes e controles, e observamos que os pacientes apresentaram, de forma estatisticamente significativa: redução da relação NAA/Cr nos três locais, indicando perda neuronal (NAA é um marcador neuronal), embora possa haver um componente reversível da redução desta relação relacionado a um distúrbio funcional neuronal, sem perda celular, principalmente em pacientes em início de tratamento; aumento da relação mI/Cr nos NB, sugerindo gliose (mI é um marcador glial), que é observada nos NB na DW em estudos anátomo-patológicos. Observamos ainda aumento da largura média dos picos nos NB, provavelmente por deposição de ferro e cobre nestas estruturas, observada na DW. Tentamos estabelecer correlações entre as relações nos NB, em especial as relações NAA/Cr e mI/Cr, e o escore neurológico dos pacientes, não se obtendo correlação estatisticamente significativa. Tentamos também correlacionar estas relações e o escore das IRM, encontrando-se apenas correlação fraca, embora estatisticamente significativa, entre a relação mI/Cr e o escore, provavelmente explicado pelo fato de que tanto esta relação pode ser um marcador de gliose, quanto o escore analisa estruturas com hipersinal em T2 que ao menos em parte correspondem a áreas de gliose. Assim, notamos que a ERM demonstrou claramente alterações bioquímicas nos pacientes quando comparados ao grupo controle; e que houve correlação, embora fraca, entre as IRM e a ERM nos NB (relação mI/Cr), possivelmente porque ambas, ao menos em parte, se modificaram em resposta à gliose observada nos NB na DW.

## *Summary*

---

LUCATO, L.T. **Comparative analysis between magnetic resonance imaging of the brain and proton spectroscopy in Wilson's disease.** São Paulo, 2003. 139 p. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Wilson's disease (WD) is rare, with autosomal recessive inheritance, and an estimated prevalence of about 1 in 30,000 of the population, caused by an abnormality in copper's metabolism, which is located in the liver and which leads to a deposit of this metal first in the hepatocyte and in extrahepatic tissues (brain, cornea, kidneys and others) afterwards. The objectives of this work were: compare the findings of proton magnetic resonance spectroscopy (MRS) in patients with WD to a control group in three locations (basal ganglia, frontal white matter and parieto-occipital cortex); make correlations between the degree of neurological impairment (measured by a score) and MRS in basal ganglia (BG); and make correlations between conventional magnetic resonance imaging (MRI), measured also by a score, and MRS in BG. We evaluated 34 patients with WD (ages: 13-43 years) using multiplanar T1, T2 (spin echo and fast spin echo) and FLAIR-weighted sequences; and MRS in the above mentioned three areas of the brain, using STEAM (stimulated echo acquisition mode) technique, with a short echo time and in single voxel mode. The control group (n= 37, ages: 12-43 years) was submitted to basically the same protocol. The spectra were post-processed and the following ratios were obtained: NAA/Cr, Co/Cr, ml/Cr e Glx/Cr; the neurological score was made by attributing to the 13 signs and symptoms more frequently observed in WD a 0-3 grade, with a 0 to 39 variation; and the MRI score was calculated by ascribing 1 point to each structure presenting high signal in T2-weighted images, low signal in T2-weighted images and/or high signal in T1-weighted images, varying from 0 to 17. We compared the metabolites' ratios studied in patients and controls' MRS, and we observed that patients presented, in a statistically significant way: decrease of the NAA/Cr ratio in the three areas, indicating neuronal loss (NAA is a neuronal marker), although a reversible component of this ratio's decrease might coexist, related to a functional neuronal disturbance, without cellular death, mainly during the beginning of the treatment; increase of the ml/Cr ratio in BG, suggesting gliosis (ml is a glial marker) that is observed in pathological studies with respect to the BG in WD. We also observed an increase in the mean width of the peaks in BG, probably secondary to copper and iron deposition that occurs in these structures, observed in WD. We tried to establish correlations between the BG ratios, specially NAA/Cr and ml/Cr, and the patients' neurological scores, and we found no statistically significant correlation. An attempt was made also in obtaining correlations between these ratios and MRI scores, and we found only a weak, although statistically significant, correlation between ml/Cr ratio and MRI score, probably residing in the fact that this ratio can be considered a gliosis marker, and the MRI score analyses structures with high signal in T2-weighted images that at least partially correspond to areas presenting gliosis. So, we noticed that MRS clearly demonstrated biochemical alterations in WD patients when compared to controls; and that a significant correlation, although weak, was found concerning MRI and MRS in BG (ml/Cr ratio), possibly because both, at least partially, changed in response to gliosis that is observed in the BG in WD.

## *1 - Introdução*

---

O estudo das doenças metabólicas do sistema nervoso central (SNC) tem sido de vital importância, uma vez que estas constituem causa significativa de morbidade e mortalidade, e sua fisiopatologia por vezes complexa e multifacetada torna o diagnóstico mais difícil e o tratamento menos satisfatório.

A doença de Wilson (DW), também conhecida como degeneração hepatolenticular, é uma doença rara, de caráter autossômico recessivo, em que um distúrbio primário do metabolismo do cobre com sede no fígado leva a acúmulo deste metal, inicialmente no hepatócito e posteriormente em diversos órgãos e tecidos, em especial no cérebro, córnea e rins [WALSHE, 1986b].

Embora rara, a DW se reveste de importância inaudita, uma vez que dentre as inúmeras doenças metabólicas geneticamente determinadas, é uma das poucas na qual uma intervenção terapêutica eficaz é possível e, por conseguinte, assegura-se aos pacientes uma expectativa de vida praticamente normal, sendo críticos o diagnóstico e o tratamento o mais precocemente possível.

A apresentação clínica geralmente ocorre entre os 10 e os 40 anos, e um problema capital no reconhecimento precoce do paciente com DW é o fato de que as manifestações clínicas são polimórficas. O paciente pode apresentar-se com o que se assemelha a hepatite viral, hepatite crônica ativa, cirrose, ou insuficiência hepática leve/moderada [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984; BREWER; YUZBASIYAN-GURKAN, 1992]. Outra apresentação inclui tremor, disartria, incoordenação leve, e

---

---

uma série de outros sinais e sintomas neurológicos [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984; BREWER; YUZBASIYAN-GURKAN, 1992]. Além disso, podem existir ainda distúrbios comportamentais variados, como déficit de atenção, depressão, labilidade emocional [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984; BREWER; YUZBASIYAN-GURKAN, 1992]. E mesmo uma combinação em variados graus de todas estas alterações é possível.

Uma vez que exista a suspeita clínica, o diagnóstico laboratorial é em geral simples, com a identificação de níveis baixos de ceruloplasmina (uma proteína relacionada ao transporte do cobre) e cobre séricos, e excreção urinária de cobre aumentada. A presença do anel de Kayser-Fleischer, causado pela deposição de cobre na superfície interna do limbo corneano, também é importante na caracterização da DW.

No entanto, em virtude do fato da DW apresentar sinais e sintomas variados, o clínico pode eventualmente não colocar esta rara doença no rol de possibilidades diagnósticas, e os métodos de diagnóstico por imagem podem ser fundamentais para nortear a investigação.

As imagens convencionais de ressonância magnética (IRM) demonstram alterações nos núcleos da base, tronco encefálico, cerebelo e substância branca subcortical [AISEN *et al.*, 1985; PRAYER *et al.*, 1990; MAGALHÃES *et al.*, 1994], algumas das quais são peculiares e em conjunto podem auxiliar no diagnóstico da DW.

Nos últimos anos, o desenvolvimento de algoritmos automatizados para a obtenção de espectroscopia de prótons por ressonância magnética (ERM) fez com que esta ferramenta deixasse o campo da pesquisa básica, feita apenas em poucos

---

centros, e se firmasse no campo da pesquisa clínica como uma ferramenta de análise metabólica *in vivo*, não invasiva, do SNC que, em conjunto com as IRM, pode resultar em diagnósticos mais precoces e sensíveis dos insultos cerebrais nas situações clínicas diárias [CASTILLO *et al.*, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998].

Ainda há algumas indagações a respeito da DW, e estudos em vários centros têm sido realizados, com enfoques clínicos, genéticos, bioquímicos e radiológicos [SARKAR, 2000; TAGAWA *et al.*, 2001; TSIVKOVSKII *et al.*, 2001; AKHAN *et al.*, 2002; BREWER *et al.*, 2003]. Assim, com o estudo da DW utilizando a ERM associada às IRM em 36 pacientes brasileiros, esperamos poder contribuir, de alguma forma, aos estudos da história natural desta doença através da análise estrutural (IRM) e bioquímica (ERM) do SNC dos portadores de DW.

---

## ***2 - Objetivos***

---

1- Comparar os achados da espectroscopia de prótons dos pacientes com DW aos do grupo controle em três localizações (núcleos da base, substância branca frontal e córtex parieto-occipital);

2- Verificar a existência de correlação entre o grau de acometimento neurológico e as relações entre os metabólitos N-acetil aspartato/creatina e mio-inositol/creatina, obtidas nas espectroscopias de prótons realizadas nos núcleos da base dos pacientes com DW;

3- Verificar a existência de correlação entre o grau de acometimento nas imagens convencionais de ressonância magnética e as relações entre os metabólitos N-acetil aspartato/creatina e mio-inositol/creatina, obtidas nas espectroscopias de prótons realizadas nos núcleos da base dos pacientes com DW.

---

### *3 - Revisão da literatura*

---

### 3.1 - Conceito de doença de Wilson

A doença de Wilson (DW), também conhecida como degeneração hepatolenticular, é condição rara, de caráter autossômico recessivo; onde um distúrbio primário do metabolismo do cobre ocorre no fígado, levando a acúmulo deste metal, inicialmente no próprio tecido hepático e posteriormente em diversos órgãos e tecidos, em especial no cérebro, córnea e rins [WALSHE, 1986b]. A taxa de prevalência estimada é de 1 em 30.000 nascidos vivos; e para o heterozigoto, varia entre 1:100 e 1:200 [REILLY *et al.*, 1993].

### 3.2 - Histórico da doença de Wilson

O estudo da DW foi iniciado por WILSON (1912), com a publicação de parte de sua dissertação de conclusão da residência médica. De forma acertada, ele especulou que a doença hepática era o evento primário, levando aos distúrbios neurológicos, de características extrapiramidais.

Em seu ponto de vista, uma “toxina mórbida” produzida pelo fígado cirrótico levaria às lesões no SNC [WILSON, 1912]. Embora correto, este conceito não poderia antecipar as descobertas do papel do fígado no metabolismo do cobre e a

---

---

vulnerabilidade de certas áreas do cérebro aos efeitos tóxicos da deposição excessiva de cobre. Foi apenas 33 anos após a descrição da DW que foi detectado excesso de cobre nos núcleos da base de um paciente cuja *causa mortis* foi DW, feita a hipótese de que o acúmulo de cobre no fígado, também descrito neste paciente, era secundário a uma incapacidade do fígado em excretar cobre; e que esta era a disfunção responsável pela DW [GLAZEBROOK, 1945].

As primeiras descrições do anel pigmentado corneano, de coloração marrom-esverdeada, conhecido pelo epônimo de anel de Kayser-Fleischer, foi feita a partir da observação de pacientes com doença neurológica [KAYSER, 1902; FLEISCHER, 1903]. Somente cerca de 20 anos após estas primeiras análises imputou-se ao depósito patológico de cobre o aparecimento do anel corneano [JESS, 1922].

Em meados dos anos 50 foi isolada a ceruloplasmina, e descoberto o seu papel como a principal proteína sérica que se liga ao cobre [HOLMBERG; LAURELL, 1951]. Demonstrou-se logo após a existência de níveis muito baixos de ceruloplasmina em pacientes com DW [SCHEINBERG; GITLIN, 1952], e desde então a ceruloplasmina tem sido um dos principais elementos laboratoriais no diagnóstico desta doença [BREWER *et al.*, 1999]. No entanto, a existência de até 20% de heterozigotos com concentrações baixas de ceruloplasmina [STERNLIEB; SCHEINBERG, 1968], e a presença de níveis normais de ceruloplasmina numa minoria de pacientes homozigotos para a DW tornam pouco provável um papel direto da ceruloplasmina na patogênese do acúmulo de cobre na DW.

A partir da detecção da toxicidade do acúmulo de cobre nos tecidos levando à DW, o racional para a terapia quelante de cobre estava estabelecido. O primeiro agente quelante usado na DW foi o dimercaptopropanol, também conhecido como

---

BAL (*British Anti-Lewisite*) [CUMINGS, 1951; DENNY BROWN; PORTER, 1951], de uso intramuscular, e que se tornou a primeira terapia eficaz para uma doença antes tida como intratável.

Alguns anos depois, WALSHÉ introduziu a primeira droga para uso por via oral no tratamento da DW, a D-penicilamina, demonstrando sua ação estimulando a excreção urinária de cobre e melhorando a sintomatologia dos pacientes [WALSHE, 1956].

Desde então, outras drogas foram e são utilizadas no tratamento de pacientes com DW: o trienteno (trietileno tetramina) [WALSHE, 1973]; os sais de zinco [HOOGENRAAD *et al.*, 1987; BREWER *et al.*, 1994] e o tetratiomolibdato (tiomolibdato) [WALSHE, 1986a].

O transplante hepático surgiu como opção para o subgrupo de pacientes que se apresentam com insuficiência hepática fulminante, levando à cura da DW, e mais uma vez demonstrando o papel central do fígado na fisiopatologia da DW e no metabolismo do cobre .

O progresso no estudo da DW culminou com a identificação do gene envolvido com a doença [PETRUKHIN *et al.*, 1993; TANZI *et al.*, 1993].

---

---

### 3.3 - Genética da doença de Wilson

WILSON (1912) já chamava atenção para o caráter familiar da DW. Porém mais recentemente foi detectado o gene para a DW no braço longo do cromossomo 13 [FRYDMAN *et al.*, 1985].

Um grande avanço na compreensão dos mecanismos genéticos da DW foi obtido a partir da descoberta do gene da doença de Menkes, outra rara doença genética do metabolismo do cobre, e da identificação de seu produto, uma ATPase que transporta cátions, chamada de ATP7A, que transporta cobre em vários tecidos [CHELLY *et al.*, 1993; MERCER *et al.*, 1993; VULPE *et al.*, 1993]. Extrapolando esta descoberta para a DW, buscou-se uma mutação em um gene de um transportador de cobre específico do fígado, que poderia ser o responsável pela falha na incorporação do cobre à ceruloplasmina, pela secreção biliar defeituosa de cobre e pelo acúmulo de cobre no fígado [SCHILSKY; TAVILL, 1999].

Assim descobriu-se a ATP7B e seu gene, responsáveis pela DW [PETRUKHIN *et al.*, 1993; TANZI *et al.*, 1993]. A ATP7B é uma ATPase com grande expressão hepática. A pesquisa de mutações levou à identificação de um grande número de mutações e polimorfismos do gene (mais de 60) [SHAH *et al.*, 1997]. A grande maioria consiste em mutações pontuais que resultam em trocas de aminoácidos.

---

### 3.4 - Fisiopatologia da doença de Wilson

O cobre é um cofator essencial para muitas enzimas e proteínas, sendo importante para a mobilização dos estoques tissulares de ferro. O cobre ingerido é extraído da circulação portal pelos hepatócitos, e então, já intracelular, interage com substâncias de baixo peso molecular, como a metalotioneína, que servem como vias de armazenamento ou transferência; sendo utilizado de acordo com as necessidades da célula, incorporado à ceruloplasmina ou excretado pela bile [SCHILSKY; TAVILL, 1999].

A passagem do cobre desde os hepatócitos até a bile é crítica para a manutenção da homeostase deste metal, já que o cobre excretado por via biliar praticamente não sofre recirculação entero-hepática [LEWIS, 1973]. O transporte do cobre até a bile envolve uma via que é dependente da atividade da ATP7B [HUNG *et al.*, 1997]. Assim, na DW a função da ATP7B está alterada, com redução de sua atividade, levando a redução da excreção biliar do cobre e a acúmulo deste metal.

A ceruloplasmina é uma glicoproteína sérica de síntese predominantemente hepática. Contém seis átomos de cobre por molécula, incorporados no complexo de Golgi do hepatócito. O cobre, para atingir esta organela, precisa cruzar suas membranas, num processo dependente da ATP7B. Em pacientes com DW o cobre não consegue chegar ao interior do complexo de Golgi do hepatócito, sendo incorporado de maneira bastante reduzida à ceruloplasmina. Isto termina por levar a níveis séricos reduzidos de ceruloplasmina provavelmente porque a ceruloplasmina sem cobre é pouco estável [SCHILSKY; TAVILL, 1999]. A principal função conhecida da ceruloplasmina é relacionada ao metabolismo do ferro (Fe), catalisando

---

---

a oxidação de  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$ , reação vital na mobilização dos estoques de ferro. Pacientes com deficiência congênita de ceruloplasmina, ou aceruloplasminemia, apresentam distúrbios do metabolismo do ferro, com deposição do metal nos núcleos da base principalmente [LOGAN *et al.*, 1994; HARRIS *et al.*, 1995; KAWANAMI *et al.*, 1996], e não há sinais de alteração no metabolismo do cobre nestes pacientes.

Quando o cobre acumulado no hepatócito em pacientes com DW excede a capacidade de estoque adequado, há ocorrência de insultos à célula, através da geração de radicais livres, com lesão de membranas e do DNA [SCHILSKY; TAVILL, 1999]. Necrose e apoptose do hepatócito podem ser desencadeadas por lesão associada ao excesso de cobre na célula [FERENCI *et al.*, 1996].

Em virtude de ser atingida a capacidade máxima de armazenamento de cobre no fígado, e por lesão hepatocelular levando à liberação do cobre intracelular na circulação, observa-se aumento dos níveis séricos de cobre não ligado à ceruloplasmina. E é este cobre o responsável pelo acúmulo extra-hepático do metal, sendo o SNC o local mais importante de depósito.

No SNC, o depósito de cobre pode levar a alterações mitocondriais em células da glia [ALT *et al.*, 1990] e a inibição dos sistemas enzimáticos mitocondriais, particularmente os relacionados ao metabolismo da glicose [WALSHE, 1986b].

---

### 3.5 - Neuropatologia da doença de Wilson

A DW primeiramente apresenta um alargamento difuso dos espaços liquóricos, tanto dos sulcos e cisternas, quanto dos ventrículos [GREENFIELD *et al.*, 1992].

As alterações histopatológicas focais da DW no SNC se concentram no núcleo lentiforme, que se apresenta atrofico, com coloração amarelada ou marrom-avermelhada, e redução de sua consistência habitual. O putâmen pode apresentar fissuras, depressões e cavitações correspondendo a áreas de necrose. Outros locais acometidos incluem o núcleo caudado, o córtex cerebral, a substância branca subcortical, o tálamo, o núcleo subtalâmico, a substância negra e o cerebelo [CANÇADO *et al.*, 2001].

Em estágios iniciais da doença, a existência de edema local é postulada, ao menos em parte reversível; em fases mais tardias há alterações irreversíveis com gliose e perda neuronal [GREENFIELD *et al.*, 1992].

Microscopicamente, a DW se caracteriza por modificações neurogliais, com aumento do número de astrócitos no núcleo lentiforme. Pequenas cavidades são observadas, com aparência genérica de uma degeneração espongiiforme. A perda neuronal é acompanhada de gliose. Os astrócitos tipicamente identificados em áreas de degeneração lenticular são células de Alzheimer tipos I e II, além das células de Opalski, bastante sugestivas da DW e que podem corresponder a astrócitos em degeneração [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984].

Um mecanismo que pode ser observado de forma concomitante às lesões causadas pelo excesso de cobre é o de isquemia secundária a alterações vasculares

---

---

que variam desde edema do endotélio de capilares e artérias até espessamento do tecido perivascular [THUOMAS *et al.*, 1993].

Outro achado importante, com implicações nos estudos por IRM e ERM, é um aumento da concentração não só de cobre nos tecidos afetados, mas também um aumento da concentração de ferro, principalmente nos núcleos da base [CUMINGS, 1948; CUMINGS, 1968].

### 3.6 - Quadro clínico da doença de Wilson

Quanto às manifestações iniciais da DW, a seguinte distribuição é observada, [BARBOSA *et al.*, 1985]: neurológicas (54,4%); hepáticas (31,1%); psiquiátricas (14,4%); osteoarticulares (7,8%); oftalmológicas (2,2%); hematológicas ou cardíacas (1,1%); e 5,3% dos casos eram assintomáticos. As manifestações clínicas surgem na segunda ou terceira décadas de vida, em geral.

O quadro clínico pode ser iniciado com manifestações de quaisquer das categorias acima descritas, em geral após os 10 anos de idade. Raramente, se sintomáticas abaixo dos 10 anos, as manifestações são hepáticas e menos freqüentemente osteoarticulares ou cardíacas [BARBOSA, 2000].

O comprometimento hepático está presente de forma universal na DW, já que o fígado é a sede da alteração genética e onde o cobre se acumula primeiramente. A lesão hepática pode se expressar através de hepatite aguda, hepatite fulminante, hepatite crônica ativa e cirrose hepática. Não estão claras as razões que interferem com o tipo de apresentação da hepatopatia, se aguda ou crônica. A forma com

---

---

hepatite fulminante em geral se associa com anemia hemolítica mediada pelo cobre ligado à superfície da hemácia [MCCULLOUGH *et al.*, 1983].

Na maioria das vezes a lesão hepática se desenvolve silenciosamente, mesmo em fases adiantadas do acometimento do SNC. Virtualmente todos os pacientes com manifestações neurológicas apresentam cirrose hepática estabelecida [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984]. Alguns pacientes são oligossintomáticos até o desenvolvimento de insuficiência hepática.

As anormalidades neurológicas são predominantemente motoras e representadas por distúrbios do movimento decorrentes de lesões das vias que envolvem os núcleos da base e o cerebelo, tais como: distonia, tremor postural ou de repouso, rigidez, bradicinesia, coréia, atetose, ataxia e instabilidade postural [BARBOSA, 2000]. A fala e a marcha são comumente afetadas.

Distúrbios psíquicos são comuns na DW, variando desde flutuações ocasionais do humor até episódios psicóticos. Por vezes é difícil discernir entre quadros reacionais secundários a uma doença neurológica incapacitante e as alterações psiquiátricas causadas pela ação direta do cobre sobre o SNC [MEDALIA *et al.*, 1992].

Há descrições de diferentes síndromes neurológicas, compondo possíveis variantes da DW, classicamente as formas de Westphal-Strümpell (pseudoesclerose) e a forma de Wilson. A primeira se caracteriza por predomínio de tremor e disartria; a segunda por rigidez e por posturas anormais. Além destas duas formas polares, há sobreposição entre elas e mesmo a existência de variantes [CANELAS, 1987]. Mais recentemente, há descrições de subgrupos derivados a partir de achados clínicos e de alterações na ressonância magnética [ODER *et al.*, 1993].

---

---

A alteração oftalmológica mais comum e importante na DW é o anel de Kayser-Fleischer, de coloração marrom-esverdeada, formado por deposição de cobre no limbo corneano. É sinal de grande valor diagnóstico, embora possa estar ausente em casos de forma exclusivamente hepática, hematológica ou osteoarticular; e por outro lado pode estar presente em quadros de colestase crônica. No entanto, em pacientes com DW e quadro neurológico o anel de Kayser-Fleischer está presente na quase totalidade dos casos [BARBOSA, 2000].

Outras manifestações são as osteoarticulares, com osteoporose e fraturas espontâneas relacionadas à lesão tubular renal causada pela DW, com perda de cálcio e fósforo. Pode ser observada ainda miocardiopatia relacionada ao efeito do cobre, um achado infrequente. Do ponto de vista hematológico, existe hiperesplenismo relacionado à hipertensão portal e anemia hemolítica decorrente de altos níveis de cobre sérico livre [BARBOSA *et al.*, 1985].

### 3.7 - Diagnóstico da doença de Wilson

Os critérios diagnósticos mais comumente adotados são os propostos por BREWER *et al.* (1999), que são semelhantes aos descritos por SCHEINBERG e STERNLIEB (1984). O diagnóstico da DW baseia-se no quadro clínico. Além disso, os seguintes testes podem ter valor:

- ceruloplasmina sérica: apresenta-se baixa em 75% dos pacientes com a forma predominantemente hepática e em 90% dos pacientes com quadros neurológicos, psiquiátricos e pré-sintomáticos. Porém 10% dos heterozigotos

---

---

cl clinicamente normais também apresentam baixos níveis de ceruloplasmina [BREWER *et al.*, 1999].

- cobre urinário de 24 horas: valores acima de 100 µg são sempre obtidos na DW sintomática. Mas em hepatopatias de longa evolução com componente obstrutivo, o cobre urinário pode estar elevado na ausência da DW [BREWER *et al.*, 1999].

- exame de lâmpada de fenda para pesquisa do anel de Kayser-Fleischer: conforme as considerações feitas no item anterior, é um excelente meio de diagnóstico em pacientes com quadro neurológico, mas não nos quadros hepáticos.

- biópsia hepática com estudo quantitativo de cobre: permanece como o padrão-ouro para o diagnóstico da DW. Pacientes devem ter acima de 200 µg/g de fígado (peso seco).

Outros testes têm utilização bastante restrita, como o cobre sérico, o teste da penicilamina para aumentar a excreção urinária de cobre, testes com cobre radioativo, e análise de DNA [BREWER *et al.*, 1999].

### 3.8 - Tomografia computadorizada e ressonância magnética na doença de Wilson

A tomografia computadorizada demonstra, em pacientes com DW, principalmente sinais de atrofia cerebral (cerca de 73% dos casos), e áreas hipoatenuantes focais nos núcleos da base (cerca de 45% dos casos). A atrofia parece sinalizar a perda neuronal, de forma global; as áreas hipoatenuantes nos núcleos da

---

---

base podem representar áreas de edema, gliose ou cavitação [WILLIAMS; WALSHE, 1981].

A ressonância magnética desde o início representou uma forma de estudo com maior detalhamento das estruturas acometidas na DW, consolidando-se como a mais importante ferramenta de diagnóstico por imagem na DW. Um achado superponível ao observado na tomografia computadorizada é a atrofia córtico-subcortical, além de áreas focais de atrofia, observadas por exemplo no tronco encefálico e na cabeça do núcleo caudado [AISEN *et al.*, 1985]. Outro achado correlacionado é o de alargamento dos espaços perivasculares (Virchow-Robin) nos pacientes [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996].

As lesões focais na DW são observadas nas IRM com três características possíveis de sinal: hipersinal em T2 com sinal variável em T1; hipossinal em T2 e hipersinal em T1 [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996]. Geralmente não há realce significativo após o uso do meio de contraste paramagnético [THUOMAS *et al.*, 1993], embora haja relato em contrário [SENER, 1994].

O aspecto mais comumente observado na DW, o hipersinal em T2 [KING *et al.*, 1996], parece estar relacionado a um componente variável de edema e/ou desmielinização, associado a áreas de gliose, com perda neuronal e eventualmente também com focos de cavitação [KING *et al.*, 1996; SAATCI *et al.*, 1997] descritos em estudos anátomo-patológicos [GREENFIELD *et al.*, 1992].

As lesões com hipersinal em T2 são observadas de maneira bilateral e simétrica acometendo os núcleos da base, o diencéfalo [LAWLER *et al.*, 1983] e o tronco encefálico; embora existam relatos esparsos de lesões unilaterais [PRAYER *et al.*, 1990]. Nos núcleos da base são comumente acometidos o putâmen, o globo

---

---

pálido, o caudado; além de haver descrições de acometimento semelhante do claustro [SENER, 1993]. No diencéfalo existe acometimento principalmente das porções ventrolaterais do tálamo [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1995] e mais raramente do núcleo subtalâmico [KING *et al.*, 1996].

Já o acometimento do tronco encefálico demonstra áreas de hipersinal em T2 que podem afetar no mesencéfalo o núcleo rubro, a substância negra e o tegmento [KING *et al.*, 1996], além de mais raramente o pedúnculo cerebral [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996] e a substância cinzenta periaquedutal [YUH; FLICKINGER, 1988]. A ponte pode apresentar acometimento tanto do tegmento quanto da porção ventral [IMIYA *et al.*, 1992; KING *et al.*, 1996; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996], e este último padrão por vezes tem sido associado à mielinólise pontina central que poderia estar relacionada indiretamente à hepatopatia [IMIYA *et al.*, 1992], embora haja relatos conflitantes [SAATCI *et al.*, 1997].

Além disso, há descrições de lesões com hipersinal em T2 acometendo os pedúnculos cerebelares superiores e médios, associadas a acometimento dos tratos dentato-rubro-talâmicos e ponto-cerebelares respectivamente [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1995]. A cápsula interna pode estar acometida, indicando lesão do trato córtico-espinhal, assim como a lesão dos pedúnculos cerebrais [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1995].

Por fim, existem lesões com hipersinal em T2 acometendo os hemisférios cerebelares, os núcleos denteados [MATSUURA *et al.*, 1998] e a substância branca dos hemisférios cerebrais, esta última num padrão classicamente assimétrico e esparso, principalmente subcortical [SAATCI *et al.*, 1997; HEDERA *et al.*, 2002].

---

---

Com os avanços nas técnicas para obtenção de IRM, e a introdução da seqüência FLAIR (*fluid attenuated inversion recovery*), sigla em inglês para inversão-recuperação com anulação do sinal da água, a detecção de áreas de cavitação ficou facilitada, uma vez que estas apresentam sinal semelhante ao do líquido, podendo ser separadas de áreas de edema e/ou gliose que permanecem com hipersinal.

Além destas lesões, há descrições de lesões com hipossinal em T2 acometendo basicamente os mesmos locais já descritos para as lesões com hipersinal em T2, em especial os núcleos da base (caudado, putâmen e globo pálido); o tálamo; a substância negra; o núcleo rubro e o núcleo denteado cerebelar. Estas lesões são de relato menos freqüente na literatura, possivelmente relacionadas com depósitos de cobre e ferro que são observados na DW, em especial nas regiões citadas [THUOMAS *et al.*, 1993; MAGALHÃES *et al.*, 1994; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996]. Há várias razões para estas lesões terem sido relativamente negligenciadas ao longo do tempo: o uso de aparelhos de RM de baixo campo magnético (menor que 0,5T), que são menos sensíveis aos artefatos de suscetibilidade magnética do ferro e do cobre, tornando o hipossinal em T2 menos evidente [THUOMAS *et al.*, 1993]; protocolos de exame com seqüências pouco sensíveis aos mesmos artefatos, em especial com o uso da técnica de eco de spins rápidos; a coexistência de lesões com hiper e hipossinal em T2, dependendo do estágio da doença [SAATCI *et al.*, 1997]; e o fato de que com o passar dos anos existe uma deposição esperada de ferro em algumas estruturas, levando a hipossinal em T2, em especial no globo pálido, núcleo rubro e na substância negra [AOKI *et al.*, 1989; DRAYER, 1989; MILTON *et al.*, 1991], sendo portanto difícil caracterizar

---

---

este hipossinal como sendo patológico e não fruto do processo normal de envelhecimento (embora o achado de hipossinal em T2 no núcleo caudado e no putâmen seja via de regra patológico); todos estes fatores contribuindo para a descrição ocasional desta categoria de lesão.

O sinal da “face do panda gigante” nada mais é do que a coexistência de lesões com hiper e hipossinal em T2 no mesencéfalo, observada em seqüências axiais, que em conjunto formam este sinal [HITOSHI *et al.*, 1991; KURUVILLA; JOSEPH, 2000; LIEBESKIND *et al.*, 2003].

E, finalmente, existem lesões com hipersinal em T1 acometendo quase que exclusivamente os globos pálidos, um achado que é creditado à hepatopatia apresentada por estes pacientes, com shunt porto-sistêmico, e que se postula determinar acúmulo de manganês neste local [INOUE *et al.*, 1991; KULISEVSKY *et al.*, 1992; MOCHIZUKI *et al.*, 1997].

Os estudos evolutivos com IRM de pacientes com DW mostram que com a instituição da terapêutica apropriada, ao longo do tempo, existe uma melhora clínica que se coaduna com redução das lesões, em especial daquelas com hipersinal em T2; embora em graus variáveis existam lesões que permanecem de maneira irreversível. Embora seja relativamente especulativo, este fenômeno deve ser explicado por um componente inicial variável de edema e/ou desmielinização, associado às demais alterações e que se reverte com o tratamento; enquanto que as áreas de gliose, perda neuronal e cavitação permanecem nos controles evolutivos [ROH *et al.*, 1994; TAKAHASHI *et al.*, 1996; COSTA, 2002]. Há descrições de acentuação do hipossinal em T2 com o tratamento da DW, que pode estar associada a redução das lesões com hipersinal em T2 (reversíveis parcialmente ao menos); podendo haver

---

---

ainda aumento do depósito de ferro em troca do cobre, sendo que o primeiro determina maior suscetibilidade magnética, uma vez que o cobre é mobilizado pelo aumento da sua excreção induzido pelo tratamento [ENGELBRECHT *et al.*, 1995].

Há controvérsia na literatura quanto a uma correlação entre os achados nas IRM e a severidade do quadro clínico; havendo estudos que confirmam esta hipótese [AISEN *et al.*, 1985; THUOMAS *et al.*, 1993; MAGALHÃES *et al.*, 1994] e outros que a refutam [PRAYER *et al.*, 1990; NAZER *et al.*, 1993]. Raramente, no entanto, pacientes com DW e manifestações neurológicas apresentam IRM normais [STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987].

### 3.9- Espectroscopia de prótons por ressonância magnética

A espectroscopia *in vivo* surgiu concomitantemente com o início da aplicação médica do fenômeno da ressonância magnética e da obtenção de IRM, ou seja, em meados da década de 70. A grande diferença reside no fato da espectroscopia, ao invés de imagens, apresentar-se como um gráfico, em que os picos correspondem às substâncias (metabólitos) passíveis de análise, com suas diferentes intensidades. No entanto, em virtude de demandar grande complexidade na sua obtenção, com necessidade de variados ajustes do campo magnético e dos gradientes envolvidos, sua utilização ficou durante muitos anos restrita a alguns poucos centros de pesquisa [CHANCE *et al.*, 1981; ROSS *et al.*, 1981].

Não deve ser esquecido o fato de que a espectroscopia pode ser realizada também para estudar outros átomos, como fósforo, carbono, sódio e flúor. Clinicamente, no entanto, a espectroscopia mais utilizada é a do hidrogênio, ou de

---

---

prótons, já que este é abundante no organismo, com alta sensibilidade magnética à frequência de ressonância quando comparados com outros núcleos [CASTILLO *et al.*, 1996]. Além disso a espectroscopia de prótons utiliza a própria bobina já usada para a obtenção das IRM, o que não ocorre com outros núcleos. Assim, como nosso estudo baseou-se na espectroscopia de prótons, a partir deste ponto os termos espectroscopia de prótons e espectroscopia serão utilizados como sinônimos.

Em 1995, o FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou o uso nos Estados Unidos de um algoritmo automatizado e rápido para a obtenção da ERM com volume de interesse (VOI) único, chamado PROBE (*proton brain examination*, ou em português, exame dos prótons do cérebro). Este foi o marco inicial a partir do qual, foi possível o seu uso na prática clínica, e a utilização da ERM cresceu exponencialmente, sendo incorporada aos protocolos de rotina de exames de diagnóstico por imagem utilizando a ressonância magnética [DANIELSEN; ROSS, 1999; ROSS; BLUML, 2001].

Desde então, a ERM tem se mostrado útil na monitorização de alterações metabólicas do SNC associadas a várias doenças. Além disso, juntamente com as IRM permite a correlação entre anormalidades anatômicas e bioquímicas que ocorrem nos tecidos [CASTILLO *et al.*, 1998; KWOCK, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

Sabidamente, o mecanismo associado à obtenção das IRM consiste em fornecer um pulso de radiofrequência numa frequência específica que vai determinar absorção de energia pelos átomos de hidrogênio, a partir do fenômeno da ressonância. Esta frequência é a própria frequência de movimentação (precessão) dos prótons do hidrogênio, e pode ser calculada a partir da equação de Larmor (a qual

---

---

fornece a frequência de precessão baseada na intensidade do campo magnético do aparelho e da constante giromagnética, que é específica para cada elemento químico). O que acontece é que, nas macromoléculas, ao contrário do que ocorre com a água, a frequência de precessão dos prótons do hidrogênio sofre a ação de interações complexas relacionadas ao seu meio químico, dentre as quais o acoplamento de spins, determinando mudanças pequenas na frequência de ressonância destes prótons em relação ao calculado pela equação de Larmor. Este fenômeno é chamado de desvio químico (*chemical shift*).

O desvio químico é a base da ERM, uma vez que cada metabólito passa a apresentar uma “assinatura química”, caracterizada pela diferença entre sua frequência real de precessão e aquela obtida na teoria pela equação de Larmor [CASTILLO *et al.*, 1996]. Na ERM, a presença de um metabólito é caracterizada por um pico, e a medida da diferença entre a posição do pico no espectro e o pico correspondente a uma referência arbitrária consiste na medida do desvio químico. Em geral, esta diferença é dividida pela frequência da referência, e o valor é expresso comumente em partes por milhão (ppm), uma vez que a ordem de grandeza da variação da frequência é bastante pequena. Esta variação, além de pequena, é diretamente proporcional à intensidade do campo magnético, o que faz com que aparelhos de alto campo (pelo menos 1,5T) sejam mais utilizados para estudos com ERM, a fim de explicitar mais claramente estas pequenas diferenças.

No entanto, a ERM não detecta qualquer substância no interior da amostra estudada; a concentração da substância deve ser maior que 0,5 a 1,0 mM para que seja passível de visualização na espectroscopia, e não deve haver um acoplamento de spins muito intenso. Por estes motivos a maioria dos neurotransmissores e

---

---

aminoácidos essenciais não são detectados através desta técnica [KWOCK, 1996]. A concentração dos prótons da água é da ordem de 110 M, ou seja, cerca de 10.000 a 100.000 vezes maior que a dos metabólitos que precisamos analisar. Isto faz com que a supressão do sinal dos prótons da água surja como condição *sine qua non* para o estudo de ERM, uma vez que, sem esta supressão, o pico dos prótons da água dominaria o espectro de tal maneira que em escala relativa os demais picos praticamente não passariam de ruído pouco acima da linha de base do gráfico [GADIAN *et al.*, 1987; CASTILLO *et al.*, 1996]. A maneira encontrada para obter a supressão destes prótons é o uso de pulsos seletivos de radiofrequência antes da realização da seqüência de espectroscopia propriamente dita, chamados CHESSE (*chemical shift selective*), com largura estreita, centralizado sobre a frequência de ressonância dos prótons da água, saturando-os (uma vez que os prótons vão absorver a energia destes pulsos) e anulando o seu sinal [KWOCK, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

Além da supressão do sinal da água, antes da realização da ERM são realizados da maneira automatizada ajustes visando tornar o campo magnético o mais homogêneo possível no interior do VOI (no inglês, estes ajustes são denominados *shimming*), além de aumento do ganho de radiofrequência tanto de transmissão quanto de recepção. A heterogeneidade do campo no interior do VOI é altamente indesejável, levando a diferentes desvios químicos para um mesmo metabólito no interior do VOI, cujo efeito final é um alargamento dos picos. Os picos, se alargados, reduzem a relação sinal/ruído, determinando superposição entre picos diferentes e dificuldades maiores para a quantificação dos metabólitos a serem analisados. A relação sinal/ruído é influenciada por vários fatores, alguns que podem

---

---

ser modificados (tamanho do VOI, número total de aquisições, tempo de repetição e o tempo de eco) e outros inerentes ao paciente (concentração dos metabólitos e seus tempos de relaxação T1 e T2, e presença de materiais que causem heterogeneidade no campo magnético no interior ou próximo ao VOI, tais como material ferromagnético, osso, ar, sangue ou gordura).

O posicionamento do VOI também é vital para obtenção de ERM satisfatória [RICCI *et al.*, 2000], devendo-se evitar estruturas contendo gordura (como a órbita), osso e ar, a fim de evitar heterogeneidade do campo. O VOI deve conter o máximo possível de tecido anormal, porém alguma contaminação do parênquima encefálico normal adjacente é quase sempre inevitável. Pequenos VOIs contêm menor quantidade de tecido e menor relação sinal/ruído; se necessária sua utilização, devemos aumentar o número de aquisições por seqüência a fim de compensar a perda de sinal, o que no entanto aumenta o tempo total da realização da seqüência [CASTILLO *et al.*, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

Em resumo, a ERM termina por demonstrar um gráfico que, no eixo horizontal apresenta a posição específica de cada metabólito em ppm e no eixo vertical, a partir da amplitude ou da integral da área do pico de cada metabólito, permite uma medida relativa da concentração do mesmo, pois é proporcional ao número relativo de átomos que contribui para aquele pico [CASTILLO *et al.*, 1996; KWOCK, 1996].

---

## Modalidades de espectroscopia de prótons por ressonância magnética

Dentro da ERM, existem duas grandes divisões: quanto ao tipo de VOI utilizado e quanto à técnica de aquisição propriamente dita.

A utilização de um VOI determina a obtenção de sinal apenas do volume pré-selecionado de amostragem, excluindo-se o sinal oriundo de regiões fora deste volume. De acordo com o tipo de VOI podemos dividir a espectroscopia em VOI único (em inglês, *single voxel*) e com aquisição simultânea de múltiplos volumes de interesse (em inglês, *multivoxel*). Enquanto o VOI único estuda uma só amostra, que é colocada na região de interesse, a aquisição simultânea de múltiplos VOIs realiza várias amostragens simultaneamente, numa mesma região previamente selecionada. Na espectroscopia com aquisição simultânea de múltiplos volumes de interesse as considerações sobre o posicionamento do VOI e sobre contaminação por tecidos adjacentes acima descritas são menos críticas, porém ainda válidas.

As duas principais técnicas de aquisição de ERM são o modo de aquisição baseado em ecos estimulados e a espectroscopia com resolução pontual, ambas mais conhecidas pelas siglas em inglês STEAM (*stimulated echo acquisition mode*) e PRESS (*point resolved spectroscopy*) respectivamente. Há vantagens e desvantagens em ambas [CASTILLO *et al.*, 1998; KWOCK, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999; ROSS; BLUML, 2001].

A técnica STEAM apresenta algumas vantagens sobre a PRESS: permite o estudo de metabólitos com tempo de relaxação T2 curtos, pois é utilizada com tempos de eco (TE) curtos ao redor de 20-30 ms [KWOCK, 1998]; embora esta vantagem tenha sido suplantada nos últimos anos, quando desenvolveu-se a

---

possibilidade de realizar espectros com TE curto utilizando-se a técnica PRESS [DANIELSEN; ROSS, 1999; ROSS; BLUML, 2001]. Outra vantagem da técnica STEAM é que existe um intervalo durante a seqüência, chamado de tempo de mistura (TM), vital para a obtenção dos ecos estimulados, durante o qual podem ser realizados pulsos adicionais de saturação dos prótons da água, além daqueles aplicados antes do início da seqüência, permitindo uma melhor saturação do sinal da água sem necessidade de prolongar o tempo total de aquisição. Entretanto, a técnica STEAM é mais sensível à movimentação do paciente.

Já a técnica PRESS, baseada numa variação da seqüência clássica de eco de spins da RM convencional, apresenta maior relação sinal/ruído e é menos sensível à movimentação do paciente. Os estudo com VOI único podem utilizar qualquer uma das técnicas; mas a aquisição simultânea de múltiplos VOIs só pode utilizar a técnica PRESS em aparelhos de uso comercial.

### Processamento dos dados das espectroscopias por ressonância magnética

Em aparelhos de uso comercial, o emprego de algoritmos automatizados como o PROBE permite não só a aquisição como o processamento dos dados obtidos das ERMs. São realizadas várias operações, resultando no gráfico da espectroscopia com as diferentes intensidades dos picos. Para a prática clínica, este espectro obtido é mais do que suficiente, porém nos trabalhos de pesquisa recomenda-se realizar pós-processamento dos dados.

O pós-processamento dos dados pode ser realizado através de abordagens bastante sofisticadas, em que é possível controlar cada um dos passos até a obtenção

---

---

do espectro final. Os dados brutos gerados pela seqüência de ERM nada mais são do que oscilações do sinal em função do tempo (domínio do tempo), e fornecem ainda informações espaciais de onde o sinal foi obtido [ZANDT *et al.*, 2001]. A utilização da transformada de Fourier sobre os dados brutos vai gerar ruído e sinal em função da freqüência (domínio da freqüência), ao invés do tempo. O pós-processamento pode ser realizado no domínio do tempo, no da freqüência, ou ser uma combinação de ambos.

As etapas de pós-processamento incluem preenchimento com zeros (*zero filling*), apodização, correção do desvio químico utilizando-se uma referência, correção de fase e também da linha de base. O preenchimento com zeros corresponde a um artifício matemático em que é feita uma inclusão de pontos com amplitude zero no domínio do tempo, com o objetivo de melhorar a visualização do espectro, aumentando sua resolução. Na apodização ou convolução os dados brutos no domínio do tempo são multiplicados por alguma função (exponenciais, por exemplo) com a finalidade de aumentar a relação sinal/ruído. A correção do desvio químico utilizando-se uma referência, que em geral é o pico da água, retira do espectro os efeitos das correntes espúrias (*eddy currents*), que podem ser geradas com a mudança dos gradientes. As correções de fase e da linha de base em geral são feitas após a transformada de Fourier ser aplicada, já no domínio da freqüência. Após o processamento é permitida uma melhor identificação dos metabólitos com baixa concentração, separação de picos sobrepostos e análise semiquantitativa mais precisa dos metabólitos; sendo que o valor da amplitude ou da integral da área do pico de cada metabólito reflete sua concentração, quando a ERM é obtida em condições adequadas. Há programas dedicados que realizam todo este pós-processamento e

---

---

quantificação, o que torna a tarefa um pouco mais simples [ZANDT *et al.*, 2001]; dentre eles podemos citar o MRUI (*magnetic resonance user interface*), um projeto da União Européia, que faz a análise das medidas das amplitudes ou das integrais das áreas dos picos principalmente no domínio do tempo, utilizando a queda de indução livre (QIL); e o SAGE (*spectroscopy analysis General Electric*), que faz esta análise no domínio da frequência. Para espectros obtidos com TE curto, o processamento no domínio do tempo parece mais reproduzível [SLOTBOOM *et al.*, 1998; ZANDT *et al.*, 2001].

Para finalizar, é importante destacar que a quantificação obtida é na verdade semiquantitativa; tentativas de se obter a quantificação absoluta de um metabólito dependem do controle de diversos fatores, como da inomogeneidade do pulso de radiofrequência excitatório, do acoplamento de diversas regiões da amostra na bobina receptora, do volume no qual o sinal é originado e dos tempos de relaxação T1 e T2. Além disso, é necessário ainda calcular um padrão com uma concentração conhecida para cada paciente, que é colocado junto com o paciente no interior do aparelho de RM. Todas estas variáveis dificultam a obtenção de concentrações absolutas, e, por isso, é aceita na literatura a avaliação semiquantitativa através de relações entre os metabólitos [FRAHM *et al.*, 1989; CHRISTIANSEN *et al.*, 1993; CASTILLO *et al.*, 1996; RUDKIN; ARNOLD, 2002].

## Metabólitos na espectroscopia de prótons por ressonância magnética

Os picos mais proeminentes na ERM de tecido encefálico normal são, em aquisições com TE curto, o do N-acetil aspartato (NAA), o da creatina (Cr), o da -

---

---

colina (Co) e o do mio-inositol (mI). Estes metabólitos e o lactato (Lac) elevado podem ser quantificados mais precisamente do que outros metabólitos [WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999]. Outros metabólitos que podem ser observados, embora de maneira menos clara, são os lipídios (Lip) e a glutamina/glutamato (Glx).

O pico do NAA é detectado através da ressonância de seu grupo N-acetil metil. Apresenta contribuições de outros grupos N-acetil menos importantes. Está presente no neurônio e é sintetizado na mitocôndria. Sabe-se que o NAA é um marcador da densidade e da viabilidade neuronal, e sua concentração diminui de maneira inespecífica secundariamente aos mais variados tipos de insultos encefálicos, sendo assim um indicador não específico de lesão neuronal. Também parece funcionar na manutenção do equilíbrio osmótico da célula, e sua exata função ainda é desconhecida. A substância branca também apresenta NAA, que deve estar presente nos axônios. Em condições normais é o maior pico do espectro e se encontra em 2,02 ppm [DE GRAAF, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

O pico da creatina (Cr) contém contribuições da creatina, da fosfocreatina, e em menor quantidade do ácido  $\gamma$ -aminobutírico, da lisina e da glutatona. A creatina serve como marcador dos sistemas de produção de energia nas células do SNC, pois funciona como reservatório de fosfatos de alta energia e como um tampão para os reservatórios de ADP-ATP (adenosina difosfato e trifosfato respectivamente). O pico principal da creatina está localizado em 3,03 ppm; havendo um pico adicional da creatina em 3,93 ppm [CASTILLO *et al.*, 1998; DE GRAAF, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

---

O pico da colina (Co) apresenta contribuições da glicerofosfocolina, fosfocolina e fosfatidilcolina. A colina está envolvida na síntese e degradação de fosfolipídios das membranas celulares, refletindo o *turnover* das membranas celulares, portanto está aumentada em processos em que existe hiper celularidade, por exemplo, em tumores, tanto primários como secundários do SNC. Além disso, a colina é um dos produtos da degradação da mielina e, portanto, está aumentada quando há lesão da substância branca, além de também ter funções no equilíbrio osmótico da célula, estando reduzida em quadros de encefalopatia hepática [KREIS *et al.*, 1990; KREIS *et al.*, 1992; ROSS *et al.*, 1994]. Este pico está localizado em 3,22 ppm [CASTILLO *et al.*, 1998; DE GRAAF, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

O mio-inositol é um metabólito que parece ter função relacionada ao controle da osmolaridade, ou regulação do volume celular, estando reduzido em pacientes com distúrbios de osmolaridade [HAUSSINGER *et al.*, 1994] e na encefalopatia hepática, onde parece desempenhar papel de importante indicador deste estado clínico [KREIS *et al.*, 1990; KREIS *et al.*, 1992; ROSS *et al.*, 1994; ROVIRA *et al.*, 2001]; além de ser um marcador da glia, estando aumentado nos processos que cursam com gliose e em tumores gliais bem diferenciados [CASTILLO *et al.*, 2000]. O mio-inositol é também um produto da degradação da mielina. O pico do mio-inositol está localizado em 3,56 ppm [ZIMMERMAN; WANG, 1997; CASTILLO *et al.*, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

O lactato (Lac), que em situações normais está ausente ou em pequenas quantidades, está aumentado quando há falha na respiração oxidativa com aumento do metabolismo anaeróbio da glicose e também no catabolismo de carboidratos. Este

---

pico tem uma configuração característica, constituída na verdade por dois picos distintos sobrepostos parcialmente devido a interações entre prótons adjacentes (acoplamento de spins) e está localizado em 1,33 ppm [CASTILLO *et al.*, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

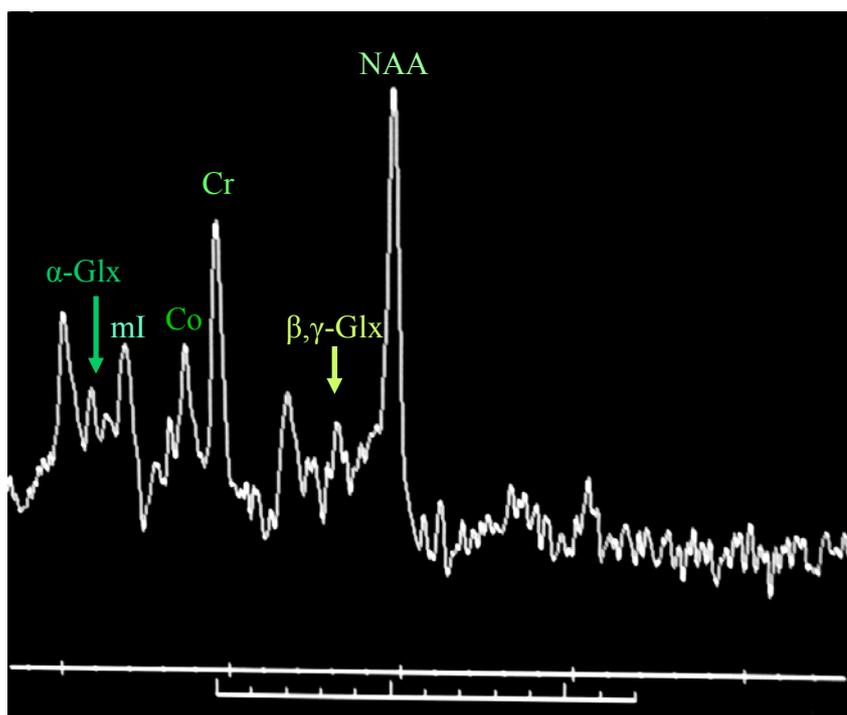
Os lipídios são encontrados em lesões que contêm necrose, por exemplo em tumores de alto grau. Não são identificados em quantidades significativas em condições normais, uma vez que os componentes lipídicos habituais do SNC são “invisíveis” à ERM. A necrose, com quebra destas grandes moléculas, produz lipídios menores, passíveis de detecção pela espectroscopia. Há aumento de lipídios também em doenças de depósito lipídico. Os picos de lipídios estão localizados em 0,80; 1,20 (que pode se sobrepor ao pico de lactato); 1,50 e 6,00 ppm, compostos pela ressonância dos prótons de grupamentos metil, metileno, alélico e vinil, insaturados [ZIMMERMAN; WANG, 1997; CASTILLO; KWOCK, 1998; CASTILLO *et al.*, 1998; WANG; ZIMMERMAN, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999].

O glutamato é um neurotransmissor excitatório que tem um papel no metabolismo mitocondrial, e que quando em excesso apresenta uma ação de destaque como toxina, além de participar do ciclo de oxidação-redução intramitocondrial principalmente. A glutamina tem um papel na destoxificação e regulação da atividade neurotransmissora. Os picos do glutamato/glutamina (Glx) são identificados sobrepostos, devido a acoplamento de spins bastante importante, entre 2,05 e 2,50 ppm, na verdade correspondendo às frequências de ressonância  $\beta$  e  $\gamma$  da glutamina/glutamato, sendo chamados de  $\beta,\gamma$ -Glx. Há ainda um segundo local do espectro correspondendo a Glx, na verdade uma série de picos superpostos (pelos

---

mesmos motivos do  $\beta,\gamma$ -Glx), entre 3,65 e 3,80 ppm, que correspondem a  $\alpha$ -Glx. Os picos do Glx estão classicamente aumentados nos casos de encefalopatia hepática estabelecida [KREIS *et al.*, 1990; KREIS *et al.*, 1992; CASTILLO *et al.*, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999; ROVIRA *et al.*, 2001], porém este achado não parece ser tão exuberante em casos subclínicos de encefalopatia hepática [ROSS *et al.*, 1994]. Uma espectroscopia de prótons com VOI único pela técnica STEAM demonstrando os picos do NAA, Glx, Cr, Co e mI é apresentada a seguir [Figura 1].

**FIGURA 1 -** ESPECTROSCOPIA DE PRÓTONS COM VOLUME DE INTERESSE ÚNICO REALIZADA PELA TÉCNICA STEAM DEMONSTRANDO OS PICOS ESTUDADOS



Os metabólitos têm variação de sua concentração de acordo com a localização no encéfalo e com a idade do paciente. Há níveis metabólicos diferentes na comparação entre substância branca e cinzenta, bem como entre a criança, o

---

adulto jovem e o idoso [FRAHM *et al.*, 1989; VAN DER KNAAP *et al.*, 1990; POUWELS; FRAHM, 1998; DANIELSEN; ROSS, 1999; CHOI *et al.*, 2000]. Entretanto, não há variação significativa relativamente à lateralidade em localizações simétricas do mesmo pacientes [TEDESCHI *et al.*, 1995; CHOI *et al.*, 2000].

Como descrito anteriormente, os metabólitos não são estudados em valores absolutos, sendo sua avaliação feita através de relações, tendo em geral, como denominador a creatina, por ser o mais estável dos metabólitos, sendo o que menos se altera com os variados processos patológicos, com as diferentes localizações no encéfalo e com a idade [GRODD *et al.*, 1991].

Especificamente na DW, devido a uma lesão concomitante do fígado e do SNC, o acometimento do encéfalo pode ser devido tanto ao efeito do acúmulo de cobre no tecido encefálico, como pela presença simultânea de hepatopatia crônica, que pode levar ao surgimento de encefalopatia porto-sistêmica, além da possibilidade de sobreposição entre ambos, na dependência do *status* das lesões neurológicas e hepáticas [VAN DEN HEUVEL *et al.*, 1997]. Assim a ERM pode apresentar alterações sugestivas de hepatopatia, com *shunt* porto-sistêmico e encefalopatia; as quais se caracterizam por redução das relações ml/Cr e Co/Cr, além de aumento da relação Glx/Cr [KREIS *et al.*, 1990; KREIS *et al.*, 1992; ROSS *et al.*, 1994; THOMAS *et al.*, 1998; KRAFT *et al.*, 1999; ROVIRA *et al.*, 2001]. Pode, ainda, apresentar sinais de dano tecidual causado pelo acúmulo de cobre levando a perda neuronal, evidenciado por redução da relação NAA/Cr [VAN DEN HEUVEL *et al.*, 1997; ALANEN *et al.*, 1999].

VAN DEN HEUVEL *et al.* (1997) estudaram 25 pacientes com hepatopatia crônica estável e doença de Wilson, não encontrando aumento significativo da

---

---

relação Glx/Cr, especulando que este aumento se dá em casos mais agudos de hepatopatia, com apresentação clínica evidente; há achado semelhante nos casos descritos por KRAFT *et al.* (1999). Ainda sobre este último estudo, não se encontrou diferença significativa entre pacientes e voluntários nas relações metabólicas estudadas (NAA/Cr, Co/Cr, ml/Cr e Glx/Cr) no putâmen, na cortical e na substância branca parietal, embora a amostra seja pequena (13 ERMs na região parietal e 9 no putâmen).

Outro relato demonstra redução da Cr e da Co, com NAA normal em um paciente com DW [LAM *et al.*, 1998], enquanto ainda outro estudo faz menção a alterações nos níveis de NAA e de Co de forma assimétrica nos núcleos da base [JAYASUNDAR *et al.*, 2002], um achado que não é corroborado pela publicação de ALANEN *et al.* (1999).

Em resumo, não há consenso, na escassa literatura disponível, a respeito das possíveis alterações da DW que podem ser analisadas através da ERM.

---

## *4 - Casuística e Métodos*

---

## 4.1- Casuística

Este foi um estudo prospectivo baseado na análise das imagens convencionais (IRM) e das espectroscopias de prótons (ERMs) realizadas concomitantemente em 36 pacientes, no período compreendido entre maio de 2000 e dezembro de 2002.

Foram considerados critérios de inclusão no estudo: pacientes com diagnóstico de DW, encaminhados pelo Ambulatório de Distúrbios do Movimento da Clínica Neurológica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), e que aceitaram participar do estudo.

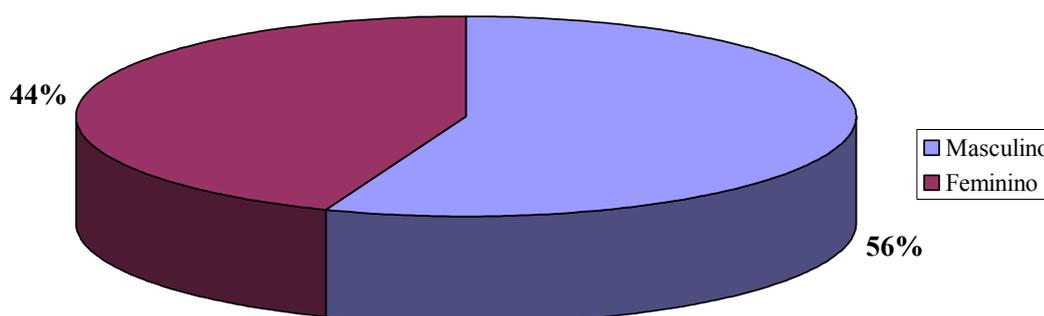
Foram considerados como critérios de exclusão: idade acima de 45 anos, impossibilidade de obtenção de IRM com qualidade para diagnóstico e/ou a impossibilidade de pós-processamento das espectroscopias obtidas. Dois dos pacientes da casuística foram excluídos de acordo com estes critérios, portanto 34 pacientes fazem parte deste trabalho.

Os pacientes apresentavam idades variando entre 13 e 43 anos (média de idade:  $25,38 \pm 8,25$  anos). Quanto à distribuição dos pacientes por sexo, 19 pacientes eram do sexo masculino (55,88%) e 15 eram do sexo feminino (44,12%), com relação M:F de 1,27:1 [Gráfico 1]. O tempo de tratamento médio destes pacientes foi de  $5,15 \pm 7,75$  anos, variando entre duas semanas e 27 anos. O conjunto dos

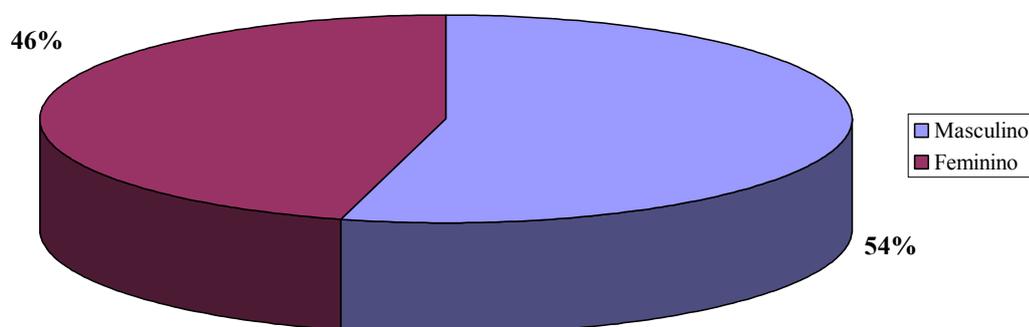
---

pacientes, com seus registros no HCFMUSP e datas de realização dos exames, pode ser observado no ANEXO A.

**GRÁFICO 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES POR SEXO**



Especificamente para este estudo foi constituído um grupo controle de 37 voluntários nos quais as IRM eram normais, sem queixas clínicas atuais e sem histórico de patologia prévia. Os voluntários apresentavam idades variando entre 12 e 43 anos (média de idade:  $23,51 \pm 7,91$  anos). Quanto à distribuição dos pacientes por sexo, 20 pacientes eram do sexo masculino (54,06%) e 17 eram do sexo feminino (45,94%), com relação M:F de 1,18:1 [Gráfico 2]. O conjunto dos voluntários, com as datas de realização dos exames, pode ser observado no ANEXO B.

**GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS POR SEXO**

Tal como no grupo dos pacientes, todos os voluntários realizaram exame após esclarecimento e assinatura do termo de consentimento informado. O protocolo de estudo recebeu aprovação da Comissão de Ética do HCFMUSP [ANEXO C].

## 4.2- Métodos

### Avaliação clínica

O diagnóstico de DW foi feito de acordo com critérios clínicos e laboratoriais. Os critérios adotados são os propostos por BREWER *et al.* (1999), que são semelhantes aos descritos por SCHEINBERG e STERNLIEB (1984); os critérios laboratoriais incluem níveis baixos de ceruloplasmina e cobre sérico, e excreção urinária de cobre aumentada, além da presença do anel de Kayser-Fleischer.

---

Além disso, todos os pacientes foram submetidos a avaliação neurológica contemporânea à realização dos exames de IRM e ERM, pelos mesmos examinadores (E.R.B. e A.A.C.M.).

A avaliação do quadro neurológico foi realizada de forma sistematizada e quantitativa, aplicando-se uma escala de 13 itens abrangendo as manifestações mais comuns observadas na DW em nosso meio [BARBOSA, 1990; BARBOSA *et al.*, 1992]. Esta escala já foi utilizada anteriormente [BARBOSA *et al.*, 1993], em alguns estudos de forma minimamente modificada [MAGALHÃES *et al.*, 1994; BARBOSA, 2000], e se baseia na análise dos seguintes parâmetros: 1) oligocinesia; 2) rigidez (hipertonia plástica); 3) instabilidade postural; 4) tremor; 5) distonia; 6) coréia; 7) atetose; 8) distúrbios cerebelares; 9) disartria; 10) disfagia; 11) alteração da marcha; 12) distúrbios psiquiátricos (cognitivos e comportamentais) e 13) outras alterações. A intensidade de cada uma das manifestações foi graduada de 0 a 3 (ausente, leve, moderada e grave). Assim, obteve-se um escore neurológico com faixa de variação de 0 a 39.

Baseado neste escore, a severidade do quadro neurológico foi graduada da seguinte forma: assintomático (0); acometimento leve (1-5), moderado (6-10) ou grave (acima de 10).

### Equipamento de ressonância magnética

Os exames foram realizados em aparelho de RM com 1,5 Tesla, da marca GE – modelo Signa *Horizon LX 8.2* (*General Electric*, Sistemas Médicos, Milwaukee,

---

Wisconsin, EUA), com gradiente de 23 mT de intensidade, em bobina de quadratura para o estudo do crânio.

### Imagens de ressonância magnética

O protocolo de aquisição das imagens de ressonância magnética do crânio, em todos os pacientes, foi constituído pelas seguintes seqüências: eco de spins (ES) nos planos sagital e axial pesadas em T1, eco de spins rápido (ESR) no plano axial pesada em T2, ponderada em FLAIR no plano axial e ES pesada em T2 no plano coronal. Não foram realizadas seqüências após o uso do meio de contraste paramagnético em nenhum dos pacientes [Tabela 1]. Entre os pacientes, dois foram submetidos à sedação para realização do exame.

---

**TABELA 1 – PARÂMETROS TÉCNICOS DE RM DAS SEQÜÊNCIAS UTILIZADAS**

Séries	TR (ms)	TE (ms)	TI (ms)	Espess./ interv. (mm)	Matriz	NEX
Sagital T1 ES	350-500	14	-	5,0/2,0-2,5	256 X 192	1,5
Axial T1 ES	466-500	14	-	5,0/1,5-2,5	256 X 192	2,0
Axial T2 ESR	4166-4500	99-101	-	5,0/1,5-2,5	320 X 224	2,0
Axial FLAIR	8402- 11002	133-161	2100-2200	5,0/1,5-2,5	256 X 160	1,0
Coronal T2 ES	2200-2400	80	-	5,0/1,5-2,5	256 X 160	1,0

Nota: ES= eco de spins; Espess./interv.= espessura do corte/ intervalo entre os cortes; ESR= eco de spins rápido; FLAIR= *fluid attenuated inversion recovery*; mm= milímetros; ms= milissegundos; NEX= número de excitações por ciclo; TE= tempo de eco; TI= tempo de inversão; TR= tempo de repetição.

As seqüências foram obtidas com campo de visão de 18 x 24 cm ou de 24 x 24 cm. Na seqüência ESR, o comprimento do trem de ecos variou entre 12 e 22.

O tempo médio total do exame destes pacientes, incluindo a ERM, foi de cerca de 60 minutos.

Os voluntários foram submetidos a um protocolo mais resumido, composto pelas seqüências: ES no plano sagital pesada em T1, FLAIR no plano axial e ES pesada em T2 no plano coronal; com os mesmos parâmetros observados na Tabela 1. O objetivo foi o de descartar a presença de lesões no parênquima encefálico, e não foi utilizado o contraste paramagnético em nenhum deles. Nenhum dos voluntários foi submetido à sedação.

## Análise das imagens convencionais de ressonância magnética

Primeiramente, as IRM dos pacientes foram avaliadas quanto à presença ou não de proeminência dos espaços liquóricos em detrimento do parênquima encefálico, inferindo atrofia. Além da atrofia global, atrofia focais mais pronunciadas também foram notadas acometendo principalmente a cabeça do núcleo caudado, o tronco encefálico e o cerebelo.

A análise das IRM dos pacientes foi feita considerando-se como comprometido o parênquima encefálico que apresentasse qualquer uma das seguintes alterações de sinal, relacionadas à DW: 1) hipersinal nas seqüências pesadas em T2; 2) hipossinal nas seqüências pesadas em T2, melhor avaliado nas imagens ES no plano coronal; 3) hipersinal em T1 [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996].

Quanto à presença do hipersinal em T2, foram avaliadas as seguintes estruturas: os núcleos da base (putâmen, globo pálido e núcleo caudado); o diencefalo (tálamo e região subtalâmica); o mesencéfalo (tegmento, substância cinzenta periaquedutal, substância negra e núcleo rubro); a ponte (porção ventral e dorsal); o cerebelo (pedúnculo cerebral superior e médio inclusive) e a substância branca cerebral [KING *et al.*, 1996].

Já no que concerne à detecção de lesões com hipossinal em T2, apreciadas principalmente na seqüência ES coronal T2, estas foram pesquisadas nas seguintes estruturas: globo pálido, putâmen, caudado, núcleo rubro, substância negra e núcleo dentado cerebelar. O hipossinal em T2 foi valorizado quando de sua presença em estruturas que normalmente não apresentariam esta característica (caudado e putâmen); e quando estivesse presente de maneira mais acentuada do que o esperado

---

---

para a faixa etária (globo pálido, núcleo rubro, substância negra e núcleo denteado cerebelar), em comparação com a mesma seqüência obtida no grupo controle.

As lesões com hipersinal em T1 foram observadas no globo pálido dos pacientes com DW, local quase que exclusivo da existência deste tipo de lesão na literatura [VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996].

A fim de quantificar as alterações nas IRM dos pacientes com DW, desenvolveu-se um escore, obtido para cada um dos pacientes, modificado a partir daquele proposto por KING *et al.* (1996), variando entre 0 e 17. Neste escore, 1 ponto foi dado para a existência de hipersinal em T2 nas seguintes estruturas: putâmen, globo pálido, núcleo caudado, tálamo, mesencéfalo (tegmento, substância negra ou núcleo rubro), ponte (porção ventral e dorsal), cerebelo (pedúnculo cerebral superior e médio inclusive) e a substância branca cerebral. Mais 1 ponto foi dado para o hipossinal em T2 nas seguintes estruturas: globo pálido, putâmen, caudado, núcleo rubro, substância negra e núcleo denteado cerebelar. Além disso, a presença de hipersinal em T1 no globo pálido também correspondeu a 1 ponto. Em virtude do fato das lesões classicamente em sua maioria serem bilaterais e simétricas [LAWLER *et al.*, 1983], não se levou em conta a lateralidade das lesões.

A atrofia foi avaliada de maneira qualitativa, através do grau de proeminência dos espaços liquóricos em detrimento do parênquima encefálico, e classificada como ausente (0), leve (1) ou severa (2 pontos).

Os pacientes foram classificados como acometimento leve (0 a 5), moderado (6 a 10) e grave (acima de 10); de acordo com o escore.

---

## Espectroscopia de prótons por ressonância magnética

A ERM foi realizada, de forma idêntica nos pacientes e voluntários, pela técnica de VOI único, que consiste em uma amostragem tridimensional de uma região pré-selecionada graficamente em uma imagem convencional de RM, dita localizadora.

A seqüência utilizada como localizadora neste estudo foi obtida no plano axial, ESR, ponderada em T2, com os seguintes parâmetros: TR = 3000 ms; TE = 88,8 ms; espessura de corte / intervalo entre os cortes = 10,0/0,0 mm; matriz = 256 X 192; número de excitações por ciclo (NEX) = 1,0.

A técnica utilizada para obtenção da ERM foi o modo de aquisição baseado em ecos estimulados (STEAM), que possibilita o uso de TEs curtos e por conseguinte permite também o estudo de metabólitos de T2 curto, como o mio-inositol (mI), glutamato/glutamina (Glx) e os lipídios (Lip).

A ERM utilizando a técnica STEAM no presente estudo foi obtida com os seguintes parâmetros: TR = 2000 ms; TE = 30 ms; tempo de mistura (TM) = 13,7 ms; espessura do VOI = 20,0 mm; matriz = 256 x 128; NEX = 8; largura da banda de frequência = 2500 Hz. O número de aquisições foi de 128 (utilizado na cortical e na substância branca) ou 160 (utilizado na região dos núcleos da base).

A aquisição desta seqüência é precedida por uma série de tarefas que consistem numa pré-aquisição automatizada, a saber: ajuste do receptor e transmissor, otimização do ângulo de inclinação para a supressão da água e ajuste da homogeneidade do campo magnético para o VOI pré-selecionado de 8 cm<sup>3</sup>. A

largura do pico da água após o ajuste da homogeneidade do campo foi sempre menor que 6 Hz.

O tempo de aquisição da ERM foi de 4 minutos e 56 segundos (na cortical e na substância branca); e 6 minutos (na região dos núcleos da base).

### Localização dos volumes de interesse

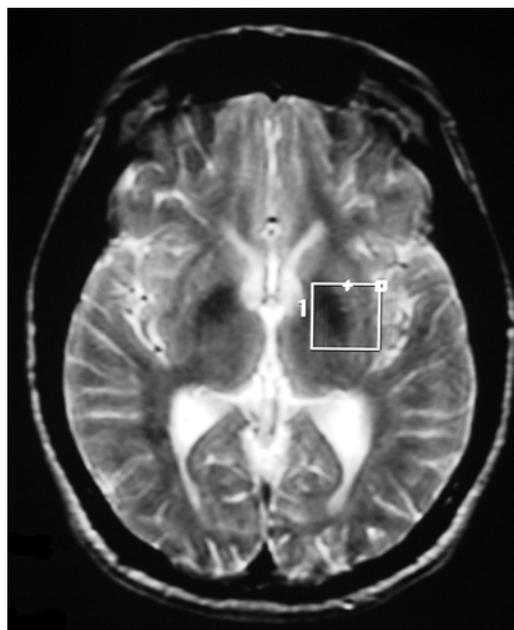
O VOI foi selecionado, na região dos núcleos da base, incluindo predominantemente o lentiforme, em especial o putâmen [Figura 2].

O VOI localizado na cortical parieto-occipital [Figura 3] incluiu a substância cinzenta paramediana dos lobos occipitais e parietais; o VOI na substância branca frontal englobou basicamente a substância branca periventricular junto do corno anterior do ventrículo lateral [Figura 4]. O volume de interesse foi colocado sempre, na cortical e na substância branca, em áreas que não apresentavam alterações detectáveis nas IRM.

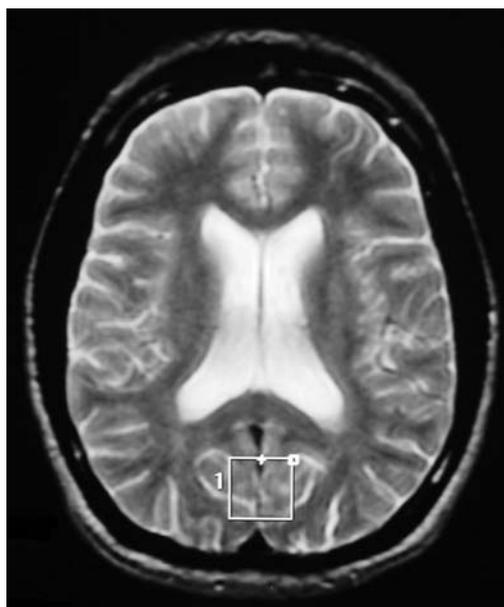
O tamanho do VOI foi padronizado em 2 x 2 x 2 cm (volume de 8 cm<sup>3</sup>) para todos os pacientes e todos os controles, nas três localizações estudadas.

---

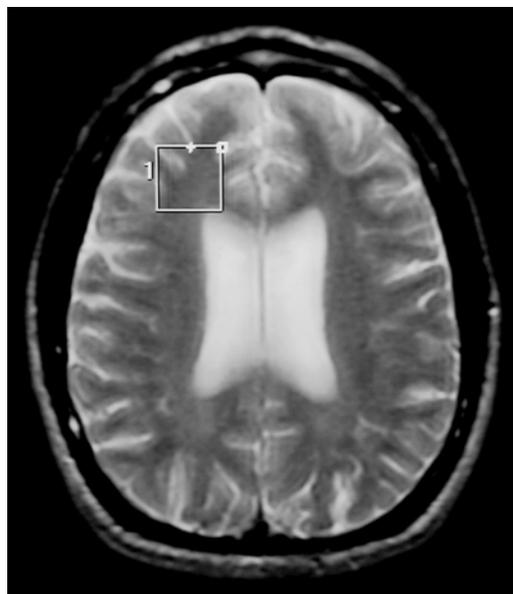
**FIGURA 2 -** IMAGEM NO PLANO AXIAL PONDERADA EM T2, DEMONSTRANDO A LOCALIZAÇÃO DO VOLUME DE INTERESSE NA REGIÃO DOS NÚCLEOS DA BASE



**FIGURA 3 -** IMAGEM NO PLANO AXIAL PONDERADA EM T2, DEMONSTRANDO A LOCALIZAÇÃO DO VOLUME DE INTERESSE NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL



**FIGURA 4 -** IMAGEM NO PLANO AXIAL PONDERADA EM T2, DEMONSTRANDO A LOCALIZAÇÃO DO VOLUME DE INTERESSE NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL



A escolha do VOI foi aleatória na região dos núcleos da base (porém predominantemente à esquerda) e na substância branca frontal (predominantemente à direita).

#### Armazenamento dos dados brutos das ERMs

Para a análise das ERMs foi utilizado o programa MRUI, e para tanto foi necessário o armazenamento dos dados brutos obtidos das espectroscopias, transferidos a partir do aparelho de RM para um servidor e, posteriormente, para um computador pessoal, utilizando-se o protocolo FTP (*file transfer protocol*). No computador pessoal, contendo o programa MRUI, foi realizado o pós-processamento dos dados.

---

Foi realizado o pós-processamento de três espectroscopias por paciente (núcleos da base, cortical parieto-occipital e substância branca frontal). Os voluntários também tiveram três espectroscopias pós-processadas cada um, nas mesmas localizações.

### Processamento dos dados brutos das ERMs

Para o pós-processamento das espectroscopias foi, como acima descrito, utilizado o programa MRUI, versão Java, fornecida pelo projeto da União Européia *Advanced signal processing for medical magnetic resonance imaging and spectroscopy*, TMR, FMRX-CT97-0160. Este programa permite a quantificação de dados de espectroscopia por RM *in vivo* através da análise no domínio do tempo utilizando o método AMARES (*advanced method for accurate, robust and efficient spectral fitting*) [VANHAMME *et al.*, 1997].

A quantificação dos metabólitos através do AMARES é feita no domínio do tempo, ou seja, a análise é feita a partir da queda de indução livre (QIL). No entanto, antes de ser realizada a quantificação dos metabólitos é necessário fornecer ao programa uma estimativa dos principais componentes que integram o sinal da QIL, uma vez que a QIL é formada a partir da somatória do sinal dos diversos metabólitos do espectro. A identificação destes componentes é feita no domínio da frequência, isto é, após ser realizada a transformada de Fourier, pois é em função das diferentes frequências que se podem diferenciar os picos correspondentes aos diversos metabólitos.

---

Um dos componentes mais importantes que compõem a QIL, ou seja, um dos picos mais altos que podem ser identificados no espectro, é o correspondente ao sinal da água. Este sinal é utilizado como referência para os demais, sendo o seu valor de 4,7 ppm; além disto também é utilizado para corrigir a fase do espectro. Uma vez realizadas estas correções, procedemos à supressão do sinal da água, porque, sendo o pico dominante do espectro, muito maior que o restante, sua presença dificulta a análise dos demais metabólitos, que são os de interesse para o estudo por ERM. A supressão é obtida através do algoritmo HLSVD (*Hankel-Lanczos singular value decomposition*), que representa um método rápido e não interativo da análise do espectro no domínio do tempo, estimando somente um pequeno número (de 5 a 10) dos componentes da QIL; dentre estes componentes identifica-se qual deles corresponde à água, através da frequência, e o mesmo é subtraído da QIL, de tal maneira que o resultado é uma QIL e um espectro livres por completo do sinal da água [MIERISOVÁ *et al.*, 1998].

Uma vez suprimido o sinal da água no espectro, procede-se à identificação dos picos que vão ser quantificados. Esta identificação é feita automaticamente, partindo de uma base de dados comum a todos os espectros a serem analisados, que estabelece a posição de cada pico no espectro e a largura do mesmo; o número de picos selecionados foi de 21, incluindo os picos correspondentes aos Lip, NAA, Glx, Cr, Co, taurina (Tau) e mI. Os dados correspondentes à seleção são registrados e constituem os dados iniciais a partir dos quais o AMARES começará a fazer o ajuste. Além disto, é fornecido ao programa um “conhecimento prévio” (*prior knowledge*), baseado no nosso conhecimento da teoria de RM que nos permite fazer uma série de afirmações a respeito dos picos a serem analisados, o que pode nos auxiliar na

---

aproximação dos resultados da análise à realidade. Neste trabalho utilizou-se o seguinte “conhecimento prévio”:

- Para os picos quantificados N-acetil aspartato, creatina, colina e mio-inositol, estabeleceu-se a mesma largura do pico da creatina, uma vez que por ser o mais estável dos metabólitos, também representa o pico mais conservado em sua amplitude e largura mesmo em situações patológicas, fornecendo assim uma referência para os demais picos serem quantificados.
- A quantificação dos picos da glutamina/glutamato, sempre de difícil obtenção, foi feita a partir de um ajuste de uma série de picos, sendo que a largura dos mesmos podia oscilar entre 5 e 10 Hz, para a faixa de ressonância observada para  $\beta,\gamma$ -Glx (quatro picos entre 2,05 e 2,50 ppm), e para  $\alpha$ -Glx (três picos entre 3,60 e 3,85 ppm); ao menos para a faixa  $\beta,\gamma$ -Glx esta quantificação já foi feita anteriormente utilizando o próprio AMARES [ROVIRA *et al.*, 2001]. Os dois componentes foram somados para a obtenção do Glx total, cuja relação foi feita com a Cr.

O resultado do AMARES é representado em valores de frequência (ppm), largura, amplitude e desvio-padrão da amplitude para cada pico. A partir destes valores são calculados os picos individualmente e apresentados num gráfico, na forma de espectro, ou seja, no domínio da frequência. Também é apresentada graficamente a soma destes picos, o chamado espectro estimado; o espectro original e o sinal residual do espectro original [ANEXO D].

---

---

Assim, realizamos uma análise quantitativa a partir dos valores de amplitude dos metabólitos no domínio do tempo (que correspondem aos valores da integral da área do pico no domínio da frequência), e calculamos as relações dos mesmos com a creatina, por se tratar de um metabólito considerado constante no volume cerebral, mesmo sob condições patológicas e invariável com a idade [GRODD *et al.*, 1991; DANIELSEN; ROSS, 1999], sendo este aspecto já avaliado em pacientes com DW [KRAFT *et al.*, 1999]. Deste modo, obtivemos as seguintes relações: NAA/Cr, Co/Cr, mI/Cr, e Glx/Cr. Além disso, também após a análise através do AMARES obteve-se a largura média dos picos (LM) em cada um dos espectros.

Análise comparativa entre as imagens convencionais de ressonância magnética, o grau de acometimento neurológico e a espectroscopia de prótons por ressonância magnética

Os achados das ERMs dos pacientes da nossa série, obtidas na região dos núcleos da base, substância branca frontal e cortical parieto-occipital pela técnica STEAM foram comparados aos obtidos para o grupo controle nas mesmas localizações.

Foi feita também a correlação entre os escores neurológicos de cada paciente com DW e as relações dos metabólitos (NAA/Cr e mI/Cr) provenientes da ERM nos núcleos da base.

Além disso, correlacionaram-se ainda os escores das IRM obtidas para cada exame nos pacientes com DW e as relações dos metabólitos (NAA/Cr e mI/Cr) provenientes da ERM nos núcleos da base.

---

---

## Análise Estatística

Inicialmente, todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis quantitativas (relações entre os metabólitos) esta análise foi feita através da observação de valores mínimos e máximos, do cálculo de medianas, médias e desvios-padrão; para as demais variáveis (escore neurológico e escore das IRM) foram calculadas as medianas [BUSSAB; MORETTIN, 1987].

Para compararmos as médias entre os dois grupos, quando do estudo entre as ERMs dos pacientes e do grupo controle, utilizamos o teste-t para médias, mas para podermos utilizá-lo verificamos se os dados seguiam uma distribuição normal e se as variabilidades eram ou não iguais, e a partir disto utilizamos o teste-t para variabilidades iguais ou para variabilidades diferentes [WINER, 1971; MILLIKEN; JOHNSON, 1992]. Quando os dados não seguiam a distribuição normal, utilizamos o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis [CONOVER, 1980].

Para verificarmos se existia diferença significativa entre os dois grupos, primeiramente comparamos se as variabilidades deles eram ou não iguais através do teste de Levene [MILLIKEN; JOHNSON, 1992].

Após isto verificamos se os dados seguiam a distribuição normal através do teste de Anderson-Darling e consideramos os dados não normais quando o nível descritivo for menor que 0,01 [MILLIKEN; JOHNSON, 1992].

As correlações entre os escores neurológicos, os escores das IRM e as relações NAA/Cr e mI/Cr nos núcleos da base foram calculadas utilizando-se o coeficiente de correlação linear de Pearson [NETER *et al.*, 1989; NETER *et al.*, 1990].

---

Os níveis de significância estatística foram ajustados em 5% ( $p < 0,05$ ), exceto no teste de Anderson-Darling, conforme acima descrito.

---

## ***5 - Resultados***

---

## 5.1 - Quadro neurológico

Nos 34 pacientes com DW, a manifestação neurológica mais prevalente foi a disartria, em 26 casos (76,47%), sendo leve em 9 casos (26,47%), moderada também em 9 casos, e grave em 8 casos (23,53%).

A segunda manifestação mais comum foi a oligocinesia, presente em 17 pacientes (50,0%), sendo leve em 8 casos (23,53%) e moderada em 9 pacientes (26,47%).

Em 17 pacientes também foi observada distonia (50,0%), sendo leve em 8 casos (23,53%), moderada em 6 casos (17,65%), e grave em 3 (8,82%).

A alteração mais freqüente a seguir foi representada pelos quadros psiquiátricos, em 16 pacientes (47,06%); sendo leve em 11 casos (32,35%), moderada em 4 casos (11,76%) e grave em 1 (2,94%).

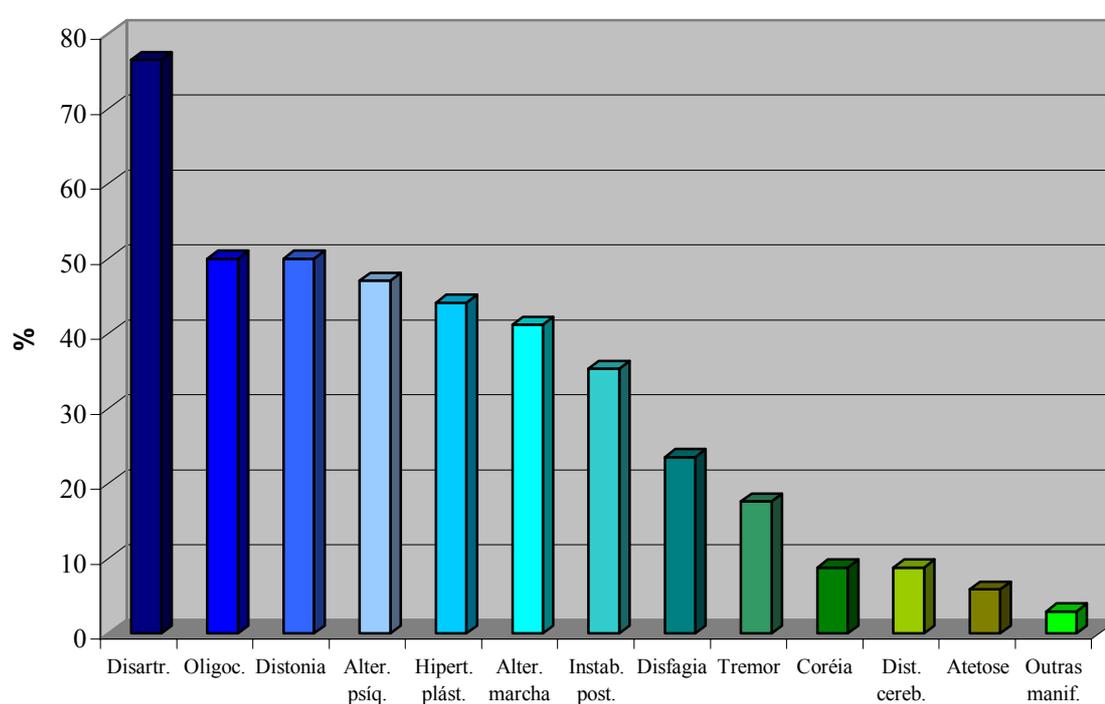
Hipertonia plástica consistiu na próxima manifestação mais comum, acometendo 15 pacientes (44,12%); leve em 10 casos (29,41%) e moderada em 5 (14,71%).

As alterações na marcha foram observadas em 14 pacientes (41,18%); sendo leves em 4 (11,76%), moderadas em 8 (23,53%) e graves em 2 pacientes (5,88%).

As outras manifestações dos pacientes desta casuística são, por ordem de freqüência: a instabilidade postural, vista em 12 pacientes (35,29%); disfagia (n = 8;

representando 23,53%); tremores (n = 6; ou seja, 17,65%); coréia (n = 3; 8,82%); distúrbios cerebelares (n = 3; 8,82%); atetose (n = 2; 5,88%) e outras manifestações (n = 1; 2,94%) [Gráfico 3] [ANEXO E].

**GRÁFICO 3 - FREQUÊNCIA RELATIVA DAS MANIFESTAÇÕES NEUROLÓGICAS DOS PACIENTES COM DW**



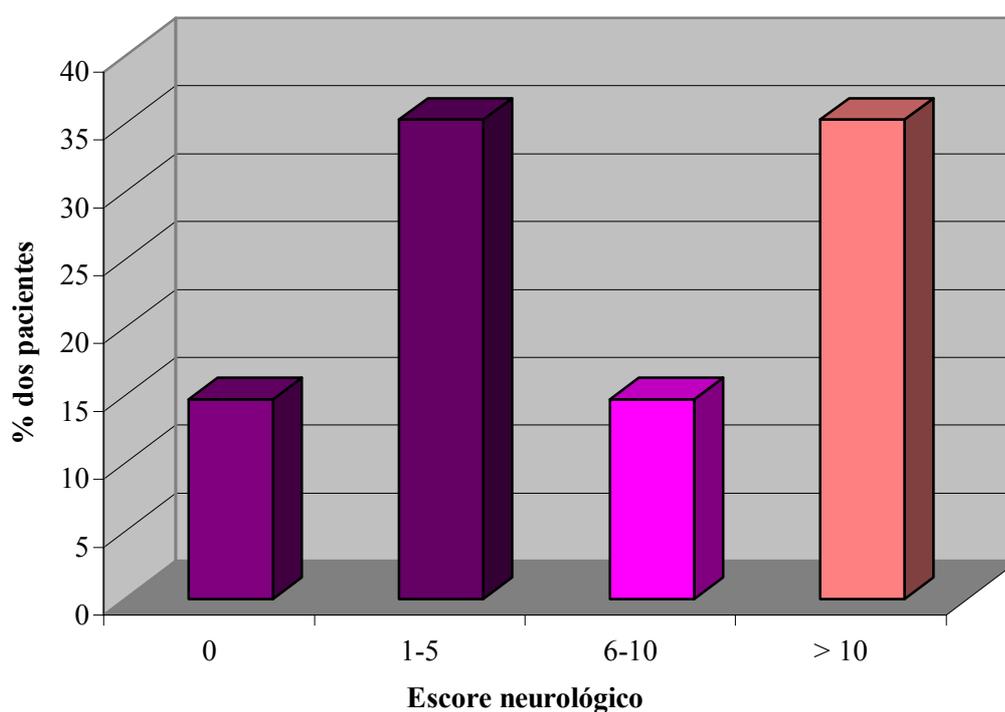
Nota: Alter.= alterações; cereb.= cerebelares; Disartr.= disartria; Dist.= distúrbios; Hipert.= hipertonia; Instab.= instabilidade; manif.= manifestações; Oligoc.= oligocinesia; plást.= plástica; post.= postural; psíqu.= psiquiátricas.

## 5.2 - Escore neurológico

A análise dos escores neurológicos dos 34 pacientes com DW demonstrou variação entre 0 e 17, com mediana de 5 [ANEXO E]. Cinco pacientes eram assintomáticos (escore de 0, correspondendo a 14,71%); 12 apresentavam

acometimento leve (escore entre 1 e 5, ou seja, 35,29%). Outros 5 tinham grau moderado de acometimento (escore entre 6 e 10, ou seja, 14,71%); e o quadro era grave em 12 pacientes (escore acima de 10, correspondendo a 35,29%) [Gráfico 4].

**GRÁFICO 4 -** FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESCORES NEUROLÓGICOS DOS PACIENTES COM DW



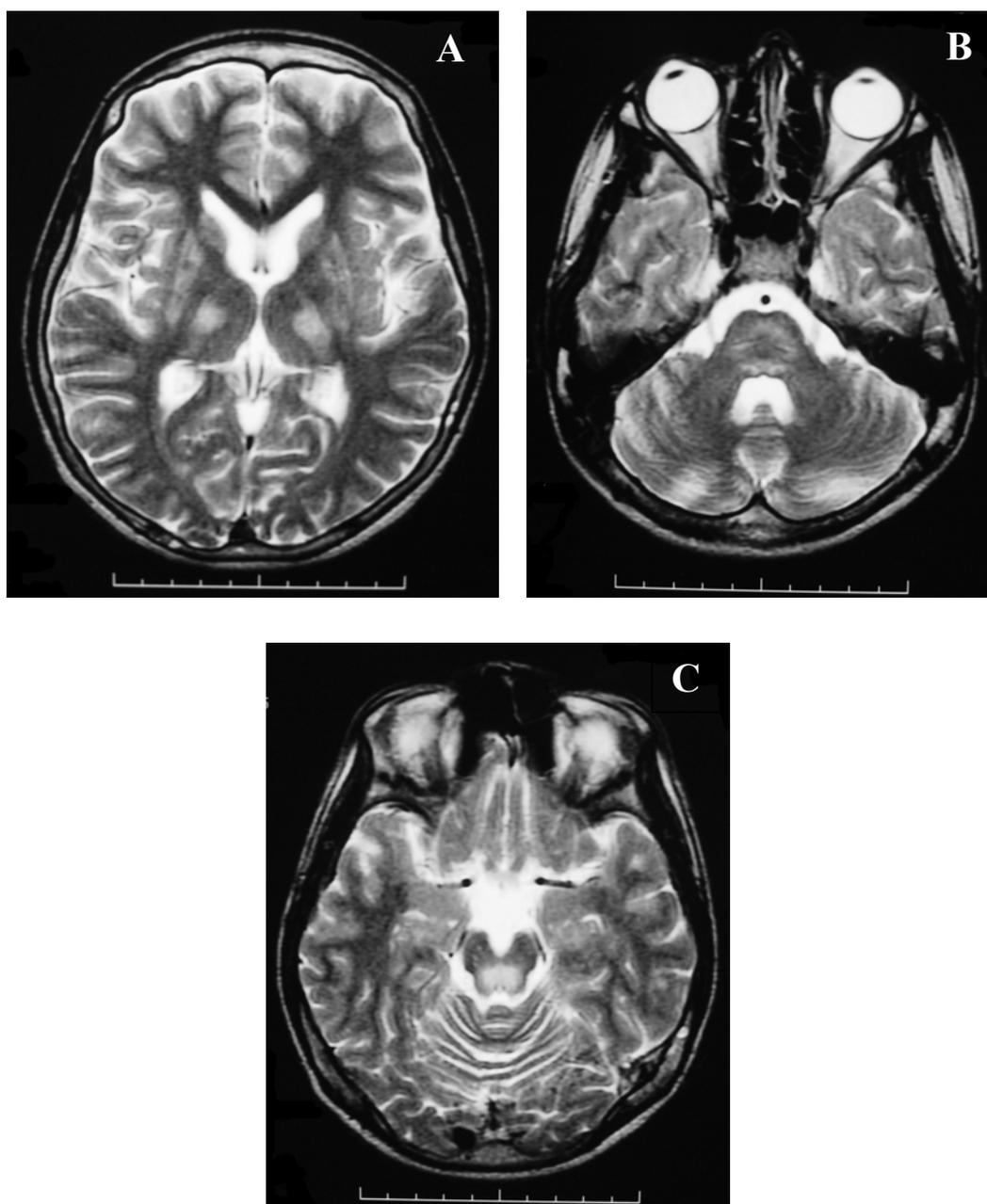
### 5.3 - Imagens convencionais de ressonância magnética

Foram analisados 34 exames de IRM de pacientes com DW. A análise destes exames demonstrou que a região mais comprometida nos nossos pacientes, em se tratando de lesões com hipersinal em T2, que podem indicar áreas de edema e/ou desmielinização, e principalmente áreas de gliose, foi o putâmen, observando-se o

seu envolvimento em 25 dos 34 exames (73,53%) analisados, de forma bilateral e simétrica em todos os casos [Figura 5A]. Logo a seguir, a ponte foi a segunda região mais acometida, em 16 dos 34 exames (47,06%) [Figura 5B]; o mesencéfalo também apresentou lesão em 16 dos 34 exames (47,06%) [Figura 5C].

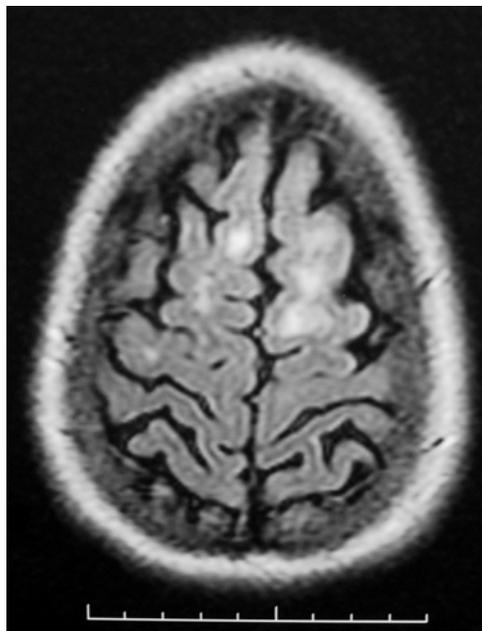
---

**FIGURA 5 -** IMAGENS NO PLANO AXIAL PONDERADAS EM T2 ESR (CASO 8) DEMONSTRAM: **A)** ÁREAS DE HIPERSINAL NOS NÚCLEOS CAUDADOS, LENTIFORMES E NOS TÁLAMOS. **B)** ÁREAS DE HIPERSINAL NA PONTE. **C)** ÁREAS DE HIPERSINAL NO MESENCÉFALO



Dentre as demais estruturas anatômicas avaliadas pelas IRM, as mais frequentemente acometidas pela DW nos exames integrantes de nosso estudo foram: o globo pálido e a porção ventro-lateral do tálamo, ambas com 15 pacientes acometidos (44,12%), de forma bilateral e simétrica; o núcleo caudado com 13 pacientes (38,24%), também de modo bilateral e simétrico [Figura 5A]. Em 10 casos (29,41%), caracterizamos focos de hipersinal em T2 esparsos de maneira assimétrica pela substância branca subcortical cerebral, predominando nos lobos frontais (n = 9, correspondendo a 26,47%) [Figura 6].

**FIGURA 6 -** IMAGEM NO PLANO AXIAL PONDERADA EM FLAIR (CASO 12) DEMONSTRA ÁREAS DE HIPERSINAL NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL BILATERALMENTE



---

Em 10 dos pacientes (29,41%) observou-se lesão acometendo o cerebelo e os pedúnculos cerebelares, distribuídas da seguinte forma: 6 pacientes (17,65%) com lesão bilateral e simétrica do pedúnculo cerebelar superior e também 6 (17,65%) com lesão do médio; 1 paciente tinha lesão bilateral e simétrica da substância branca dos hemisférios cerebelares (2,94%) [Gráfico 5].

O acometimento pontino foi assim subdividido: em todos os 16 casos (47,06%) houve alteração na porção ventral da ponte, e em 15 destes casos (44,12%) houve concomitantemente lesão do tegmento pontino.

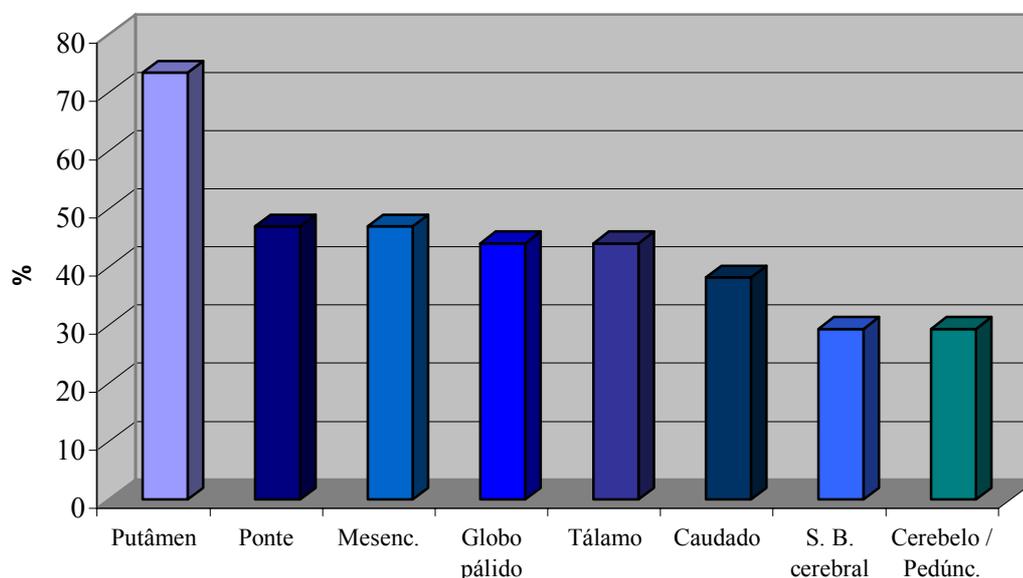
As lesões do mesencéfalo foram distribuídas entre: 15 pacientes com alteração do tegmento e da substância cinzenta periaquedutal (44,12%), 8 com lesão na substância negra (23,53%) e 3 no núcleo rubro (8,82%).

Outra estrutura acometida por hipersinal em T2 é a região subtalâmica (n = 4, correspondendo a 11,76%); em todos estes casos havia acometimento associado do tálamo.

Com exceção dos focos de hipersinal em T2 esparsos de maneira assimétrica pela substância branca subcortical cerebral, todas as demais lesões acima descritas tiveram distribuição bilateral e simétrica.

---

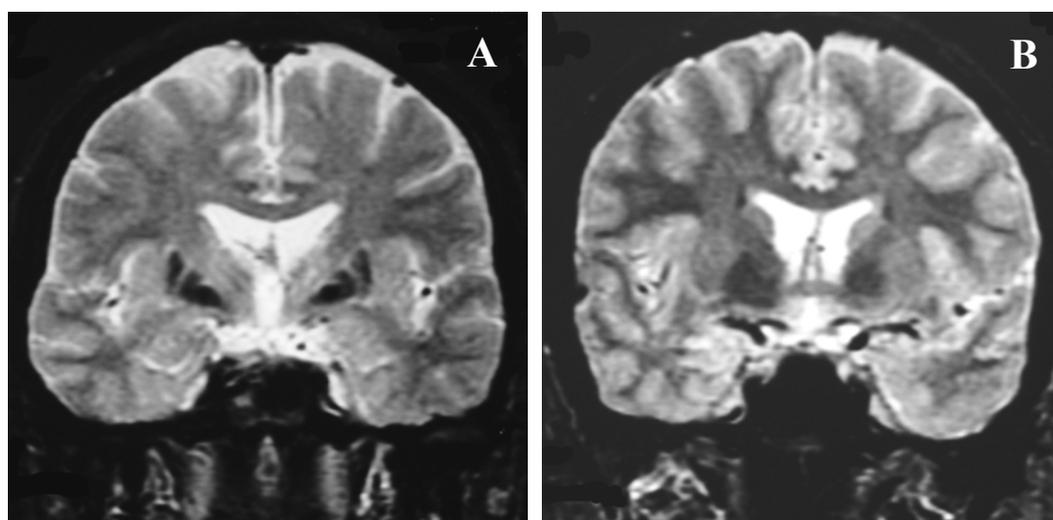
**GRÁFICO 5 -** FREQUÊNCIA RELATIVA DAS ESTRUTURAS ANATÔMICAS ACOMETIDAS (HIPERSINAL EM T2) NAS IRM DOS PACIENTES COM DW



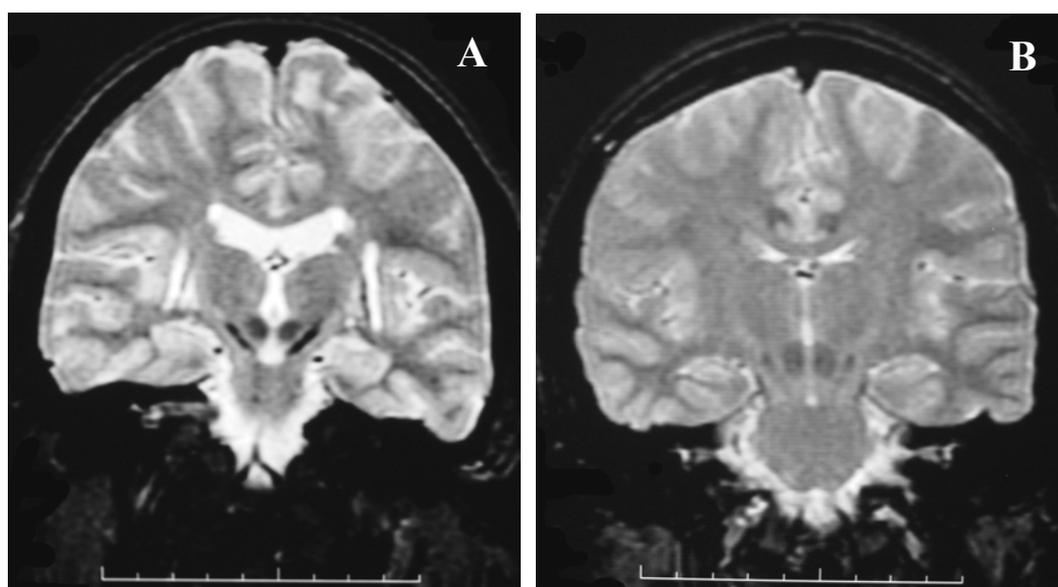
Nota: Mesenc.= mesencéfalo; Pedúnc.= pedúnculos cerebelares superiores e médios; S.B.= substância branca

Quanto à presença de lesões com hipossinal em T2, melhor apreciadas na seqüência coronal T2 ES, em comparação com a mesma seqüência obtida no grupo controle, foi detectado um hipossinal patológico acometendo de maneira bilateral e simétrica as seguintes estruturas, ordenadas de forma decrescente quanto à frequência: o globo pálido (n = 26; ou seja, 76,47%) [Figura 7]; a substância negra (n = 25; indicativo de 73,53%) [Figura 8], o núcleo caudado (n = 23; 67,65%) [Figura 9], o putâmen (n = 15; 44,12%) [Figura 7], o núcleo rubro (n = 6; 17,65%) [Figura 8] e o núcleo denteado cerebelar (n = 5; 14,71%) [Figura 10] [Gráfico 6].

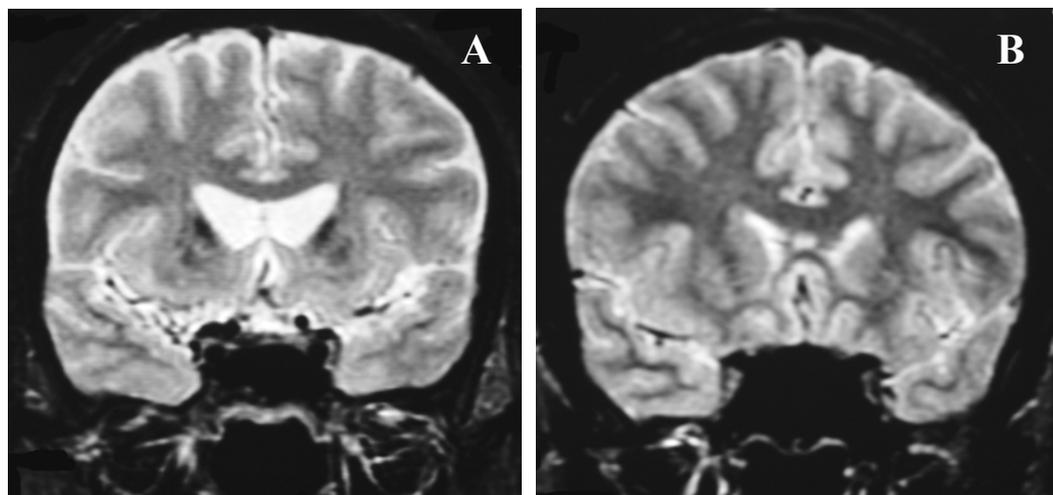
**FIGURA 7 -** A) IMAGEM NO PLANO CORONAL PONDERADA EM T2 ES (CASO 36) DEMONSTRA ÁREAS DE HIPOSSINAL NOS NÚCLEOS LENTIFORMES. B) IMAGEM SEMELHANTE OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



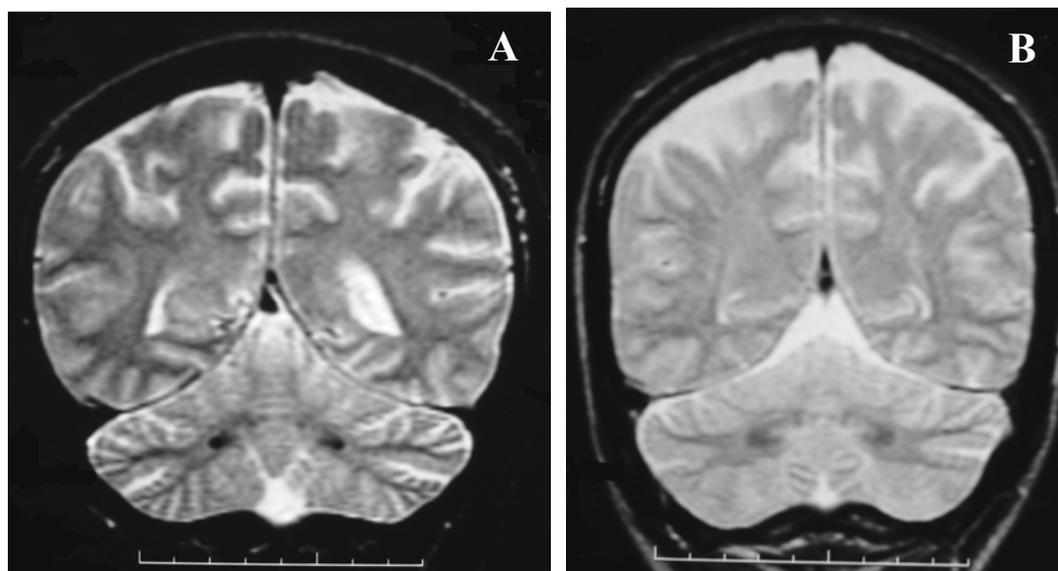
**FIGURA 8 -** A) IMAGEM NO PLANO CORONAL PONDERADA EM T2 ES (CASO 12) DEMONSTRA ÁREAS DE HIPOSSINAL NOS NÚCLEOS RUBROS E NA SUBSTÂNCIA NEGRA BILATERALMENTE. NOTAR AINDA O HIPERSINAL NOS NÚCLEOS LENTIFORMES. B) IMAGEM SEMELHANTE OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



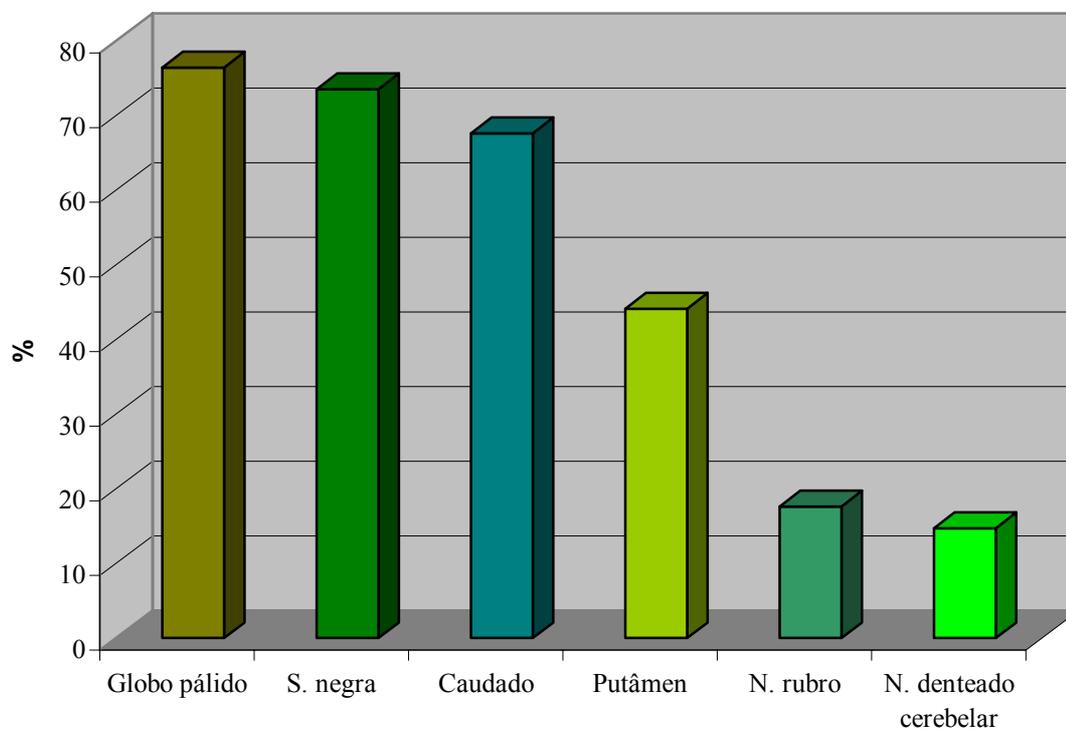
**FIGURA 9 -** A) IMAGEM NO PLANO CORONAL PONDERADA EM T2 ES (CASO 36) DEMONSTRA ÁREAS DE HIPOSSINAL NOS NÚCLEOS CAUDADOS E GLOBOS PÁLIDOS. B) IMAGEM SEMELHANTE OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



**FIGURA 10 -** A) IMAGEM NO PLANO CORONAL PONDERADA EM T2 ES (CASO 31) DEMONSTRA ÁREAS DE HIPOSSINAL NOS NÚCLEOS DENTEADOS CEREBELARES. B) IMAGEM SEMELHANTE OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



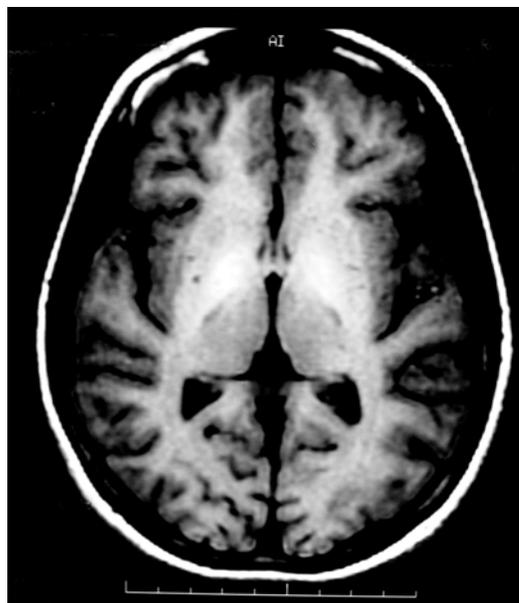
**GRÁFICO 6 -** FREQUÊNCIA RELATIVA DAS ESTRUTURAS ANATÔMICAS ACOMETIDAS (HIPOSSINAL EM T2) NAS IRM DOS PACIENTES COM DW



Nota: N.= núcleo; S.= substância

As lesões com hipersinal em T1 foram observadas de forma bilateral e simétrica no globo pálido em 4 dos exames analisados (11,76%) [Figura 11].

**FIGURA 11 -** IMAGEM NO PLANO AXIAL PONDERADA EM T1 (CASO 18)  
DEMONSTRA ÁREAS DE HIPERSINAL NOS GLOBOS PÁLIDOS



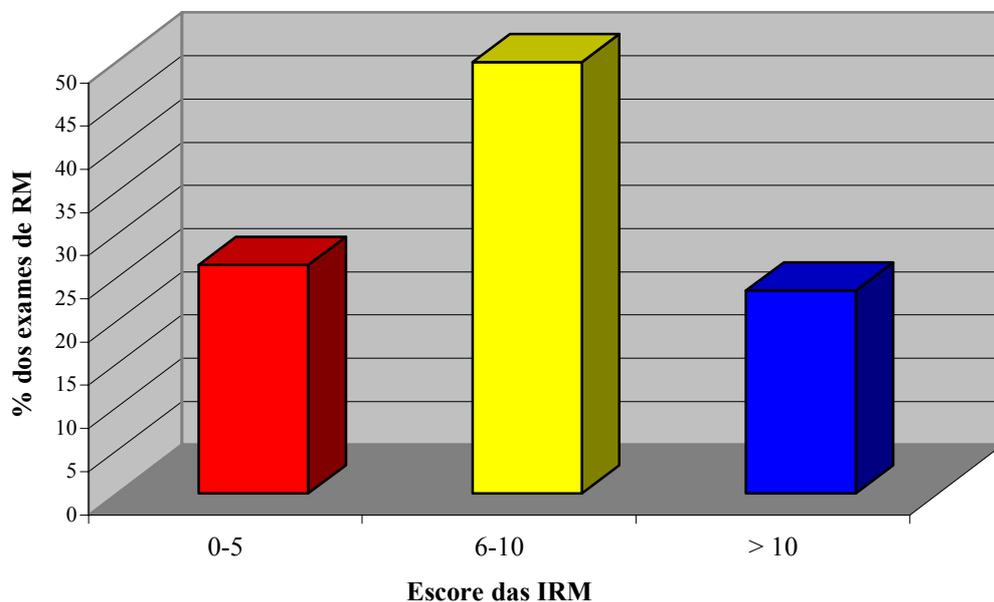
A proeminência exuberante dos espaços liquóricos em detrimento do parênquima encefálico, sugerindo atrofia global acentuada, foi notada em 9 exames dos 34 analisados (26,47%), e a mesma alteração em menor grau, indicativa de atrofia global leve, em 17 (50%). Em 8 dos casos (23,53%), não houve caracterização de proeminência dos espaços liquóricos.

A análise de áreas com atrofia focal demonstrou sinais de atrofia da cabeça do núcleo caudado em 16 exames (47,06%); em 15 casos havia atrofia cerebelar mais pronunciada (44,12%). Em 3 pacientes (8,82%), os sinais de atrofia do tronco encefálico eram mais nítidos.

## 5.4 - Escore das imagens convencionais de ressonância magnética

A análise dos 34 exames de IRM dos pacientes com DW utilizando-se o escore modificado a partir daquele proposto por KING *et al.* (1996), demonstrou escores variando entre 0 e 13, com uma mediana de 8, podendo ser visualizado para cada um dos pacientes nos ANEXOS F, G ou H. Nove destes 34 exames tiveram escores entre 0 e 5 (26,47%); 17 situaram-se entre 5 e 10 (50%); e 8 tiveram escores acima de 10 (23,53%) [Gráfico 7].

**GRÁFICO 7 -** FREQUÊNCIA RELATIVA DOS ESCORES DAS IRM DOS PACIENTES COM DW



## 5.5 - Espectroscopia de prótons por ressonância magnética nos pacientes X controles

Foi realizado o pós-processamento de três espectroscopias por paciente (núcleos da base, cortical parieto-occipital e substância branca frontal); totalizando, portanto, 102 espectros, de 34 pacientes [ANEXOS F, G e H].

Os 37 voluntários, que não apresentaram alteração de sinal nas IRM realizadas, também tiveram três espectroscopias pós-processadas cada um, nas mesmas localizações, totalizando 111 espectros [ANEXOS I, J e K].

Comparamos as relações entre os metabólitos NAA/Cr, Co/Cr, mI/Cr e Glx/Cr obtidas nos núcleos da base, na substância branca frontal e na cortical parieto-occipital dos pacientes com DW e dos mesmos locais nos controles, através do teste-t, uma vez que em todos os casos obtivemos a normalidade dos dados através do teste de Anderson-Darling. Apenas a relação Glx/Cr apresentou-se com distribuição diferente da normalidade na substância branca frontal, sendo neste caso utilizado também o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis.

Nos núcleos da base observamos que há diferença significativa entre as relações NAA/Cr dos pacientes com DW e dos controles, sendo menor nos pacientes, com  $p = 0,001$ . Há também uma diferença significativa entre os pacientes e os controles no que tange à relação mI/Cr, maior nos pacientes, com  $p = 0,000001$ . As demais relações estudadas, Co/Cr e Glx/Cr, não apresentaram diferença estatisticamente significativa, sendo os valores encontrados respectivamente  $p = 0,145$  e  $p = 0,299$  [Tabelas 2 e 3, Gráfico 8]. Para uma melhor análise comparativa,

em seguida mostramos uma ERM nos núcleos da base de um paciente e de um voluntário [Figura 12].

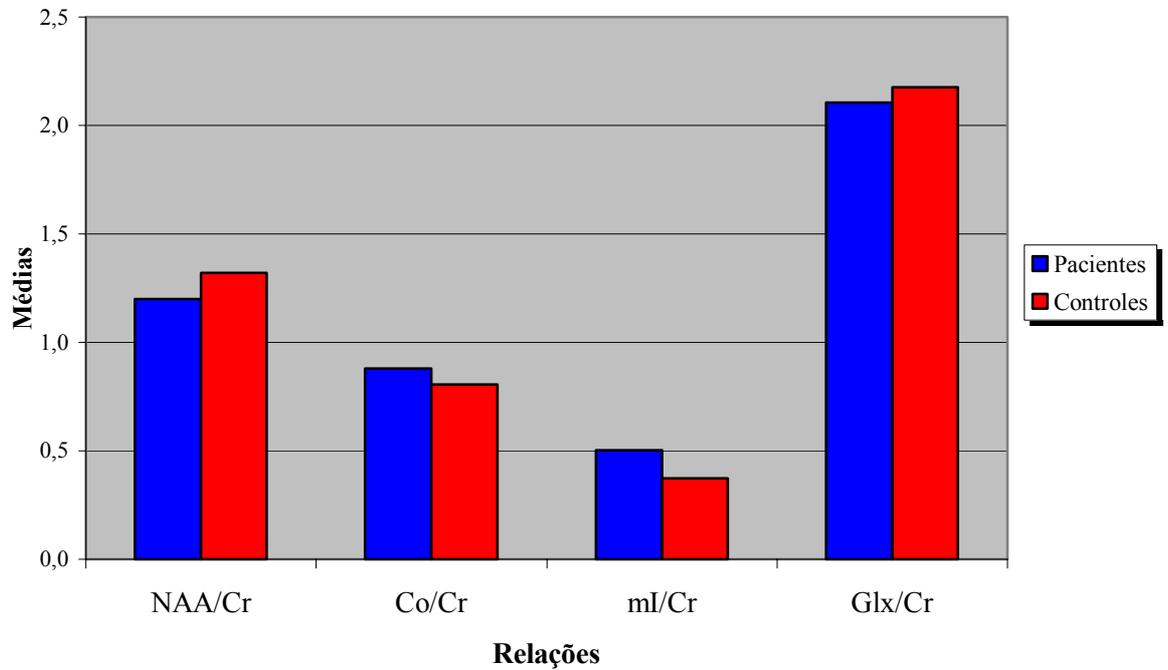
**TABELA 2 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NOS NÚCLEOS DA BASE DOS PACIENTES COM DW**

Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	34	1,20	0,17	1,20	0,84	1,62
Co/Cr	34	0,88	0,18	0,85	0,62	1,55
mI/Cr	34	0,50	0,13	0,50	0,21	0,78
Glx/Cr	34	2,11	0,30	2,13	1,49	2,76

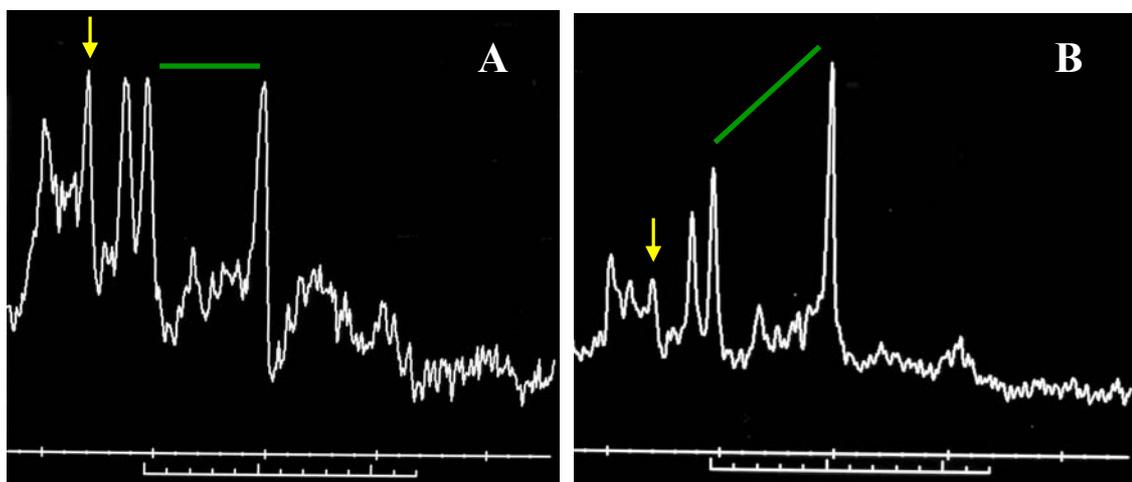
**TABELA 3 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NOS NÚCLEOS DA BASE DOS CONTROLES**

Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	37	1,32	0,12	1,28	1,08	1,55
Co/Cr	37	0,81	0,10	0,81	0,53	1,02
mI/Cr	37	0,37	0,06	0,38	0,22	0,52
Glx/Cr	37	2,18	0,26	2,21	1,64	2,71

**GRÁFICO 8 -** COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS RELAÇÕES ENTRE OS METABÓLITOS DOS PACIENTES COM DW E DOS CONTROLES NOS NÚCLEOS DA BASE



**FIGURA 12 -** A) ERM NOS NÚCLEOS DA BASE (CASO 17) DEMONSTRA A REDUÇÃO DO PICO DO N-ACETIL ASPARTATO EM RELAÇÃO AO DA CREATINA (LINHA VERDE). NOTAR TAMBÉM O AUMENTO DO PICO DO MIO-INOSITOL (SETA) B) ERM NA MESMA LOCALIZAÇÃO OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



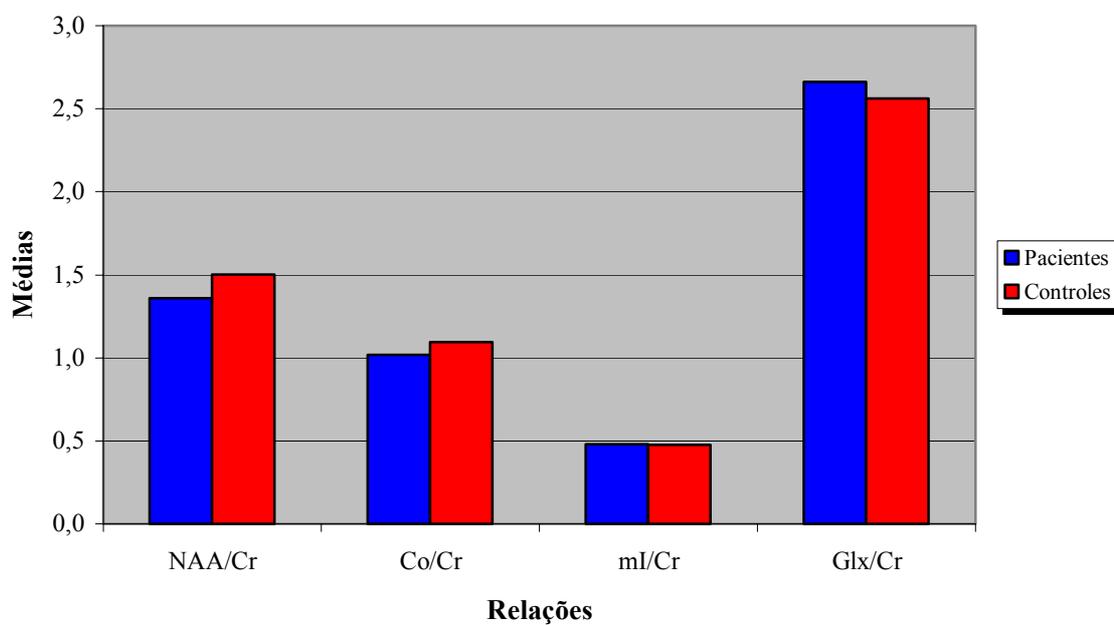
Na substância branca frontal, através do teste-t, observamos que também há diferença significativa entre as relações NAA/Cr dos pacientes com DW e dos controles, sendo menor nos pacientes, com  $p = 0,00029$ . Não houve diferença estatisticamente significativa nas demais relações estudadas, mI/Cr; Co/Cr e Glx/Cr; sendo respectivamente os valores calculados:  $p = 0,915$ ;  $p = 0,062$  e  $p = 0,503$  [Tabelas 4 e 5, Gráfico 9]. Para a relação Glx/Cr, em que a hipótese de normalidade foi rejeitada, o uso do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis encontrou valor de  $p = 0,831$ , chegando-se então à mesma conclusão do teste-t. Para uma melhor análise comparativa, em seguida mostramos uma ERM nos núcleos da base de um paciente e de um voluntário [Figura 13].

**TABELA 4 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL DOS PACIENTES COM DW**

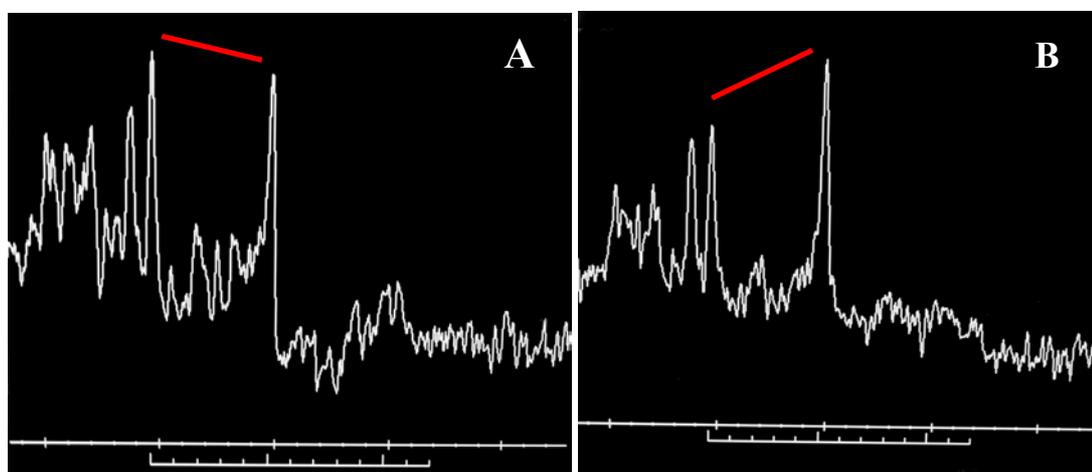
Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	34	1,36	0,16	1,38	1,02	1,64
Co/Cr	34	1,02	0,15	1,02	0,73	1,35
mI/Cr	34	0,48	0,17	0,49	0,12	0,82
Glx/Cr	34	2,66	0,66	2,49	1,41	4,87

**TABELA 5 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL DOS CONTROLES**

Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	37	1,50	0,15	1,50	1,20	1,78
Co/Cr	37	1,09	0,18	1,08	0,69	1,52
mI/Cr	37	0,48	0,15	0,48	0,15	0,89
Glx/Cr	37	2,56	0,62	2,45	1,46	5,57

**GRÁFICO 9 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS RELAÇÕES ENTRE OS METABÓLITOS DOS PACIENTES COM DW E DOS CONTROLES NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL**

**FIGURA 13 - A)** ERM NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL (CASO 3) DEMONSTRA A REDUÇÃO DO PICO DO N-ACETIL ASPARTATO EM RELAÇÃO AO DA CREATINA (LINHA VERMELHA). **B)** ERM NA MESMA LOCALIZAÇÃO OBTIDA EM VOLUNTÁRIO



Na cortical parieto-occipital, através do teste-t, observou-se também diferença significativa entre as relações NAA/Cr dos pacientes e dos controles, menor nos pacientes, com  $p = 0,00006$ . Não houve diferença estatisticamente significativa nas demais relações estudadas, mI/Cr; Co/Cr e Glx/Cr; sendo respectivamente os valores calculados:  $p = 0,284$ ;  $p = 0,252$  e  $p = 0,985$  [Tabelas 6 e 7, Gráfico 10]. Para uma melhor análise comparativa, em seguida mostramos uma ERM nos núcleos da base de um paciente e de um voluntário [Figura 14].

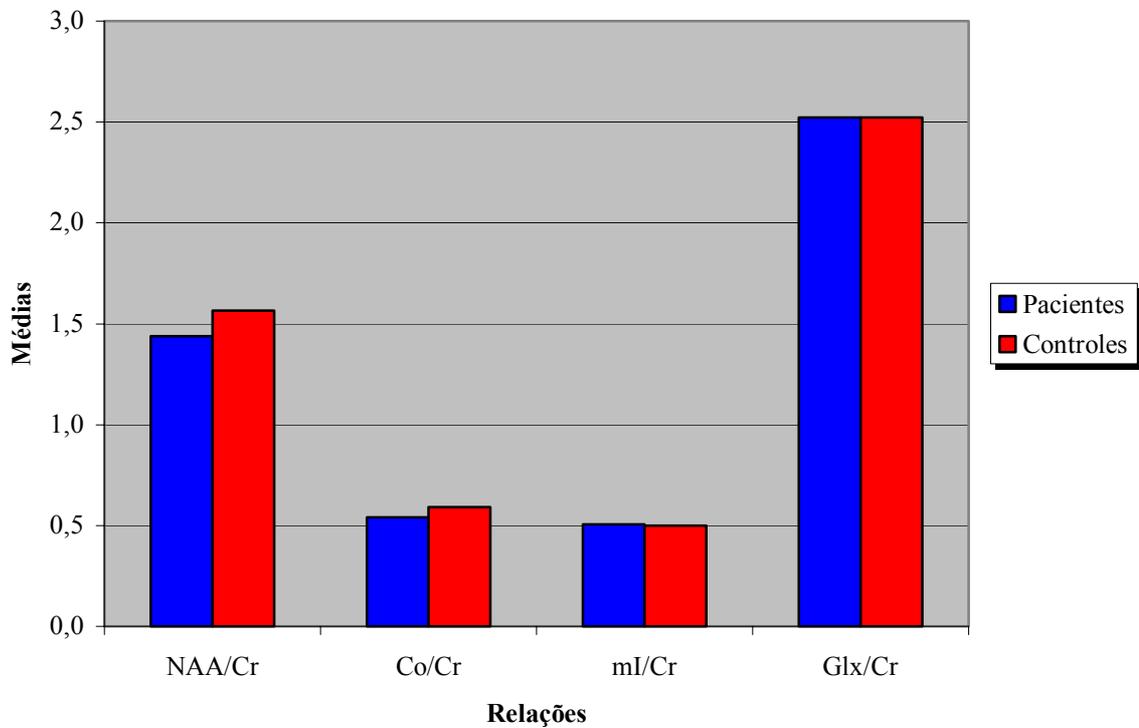
**TABELA 6 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL DOS PACIENTES COM DW**

Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	34	1,44	0,11	1,44	1,20	1,64
Co/Cr	34	0,54	0,09	0,53	0,43	0,76
mI/Cr	34	0,50	0,13	0,54	0,10	0,71
Glx/Cr	34	2,52	0,41	2,47	1,64	3,63

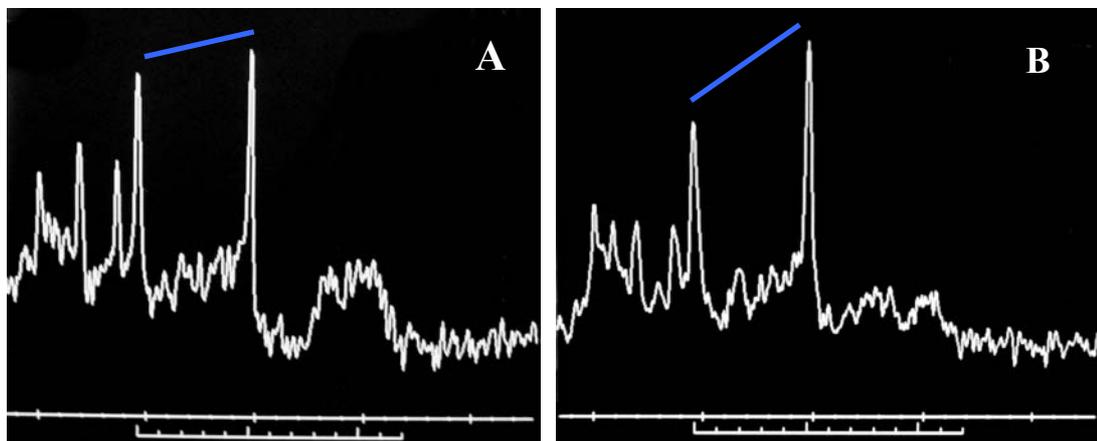
**TABELA 7 - ANÁLISE DOS VOLUMES DE INTERESSE NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL DOS CONTROLES**

Parâmetros analisados	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
NAA/Cr	37	1,56	0,13	1,56	1,33	1,92
Co/Cr	37	0,59	0,15	0,56	0,45	1,37
mI/Cr	37	0,50	0,07	0,50	0,27	0,59
Glx/Cr	37	2,52	0,26	2,59	1,90	3,10

**GRÁFICO 10 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS RELAÇÕES ENTRE OS METABÓLITOS DOS PACIENTES COM DW E DOS CONTROLES NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL**



**FIGURA 14 - A) ERM NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL (CASO 17) DEMONSTRA A REDUÇÃO DO PICO DO N-ACETIL ASPARTATO EM RELAÇÃO AO DA CREATINA (LINHA AZUL). B) ERM NA MESMA LOCALIZAÇÃO OBTIDA EM VOLUNTÁRIO**



Nestes pacientes, durante o pós-processamento das ERM, não foram observados picos anômalos detectáveis, tais como os picos dos lipídios, lactato, ou outro metabólito.

Já a análise da largura média dos picos (LM), através do teste-t, foi significativamente diferente nos núcleos da base entre os pacientes e os controles, maior nos primeiros, com  $p = 0,0000068$ . Tal diferença não se repetiu nas demais localizações ( $p = 0,607$  na substância branca e  $p = 0,787$  na cortical parieto-occipital), sendo que na cortical a hipótese de normalidade foi rejeitada e de maneira complementar foi aplicado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, cujo resultado foi  $p = 0,538$ , chegando-se assim à mesma conclusão [Tabelas 8 e 9, Gráfico 11].

**TABELA 8 – ANÁLISE DA LARGURA MÉDIA DOS PICOS DAS TRÊS LOCALIZAÇÕES ESTUDADAS NOS PACIENTES COM DW**

LM (Hz)	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Núcleos da base	34	6,47	1,29	6,27	4,04	10,24
S. branca frontal	34	5,16	0,89	5,06	3,30	6,93
Cortical	34	4,07	0,89	3,70	2,63	6,64

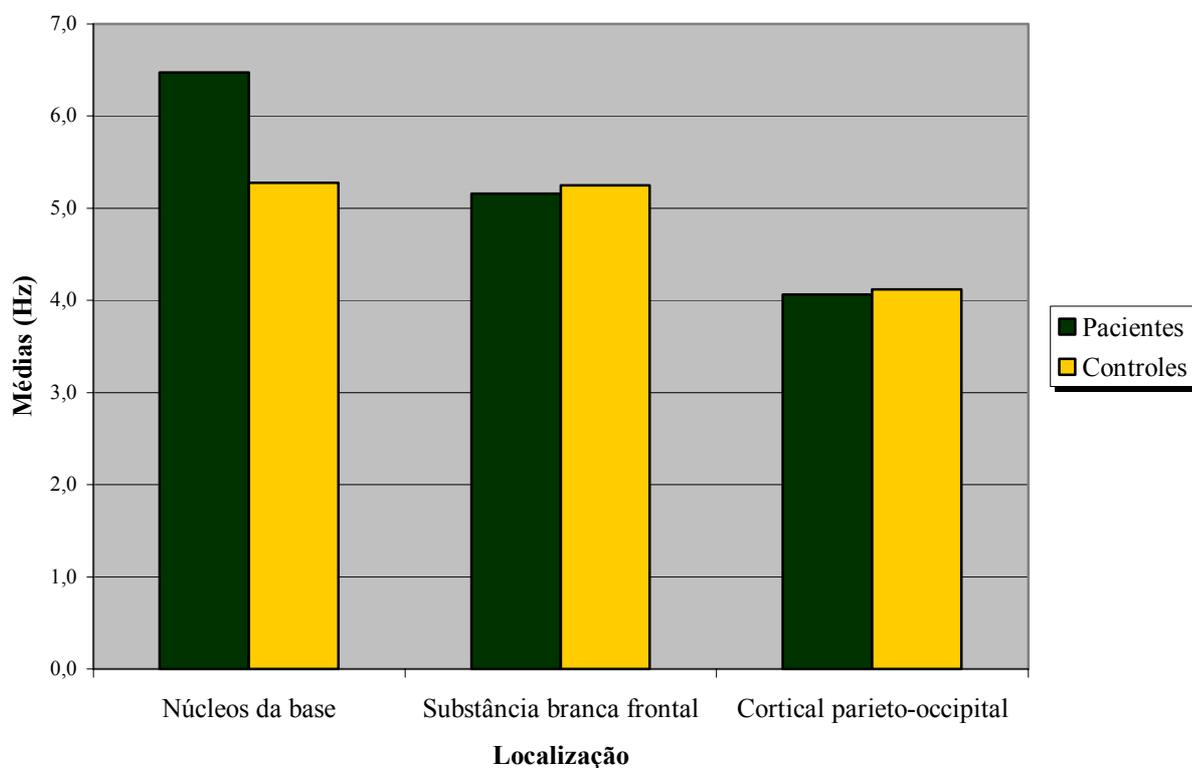
Nota: S.= substância

**TABELA 9 - ANÁLISE DA LARGURA MÉDIA DOS PICOS DAS TRÊS LOCALIZAÇÕES ESTUDADAS NOS CONTROLES**

LM (Hz)	N	Média	Desvio-padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Núcleos da base	37	5,27	0,73	5,21	4,05	7,63
S. branca frontal	37	5,25	0,62	5,24	4,25	6,72
Cortical	37	4,12	0,88	3,91	3,16	7,83

Nota: S.= substância

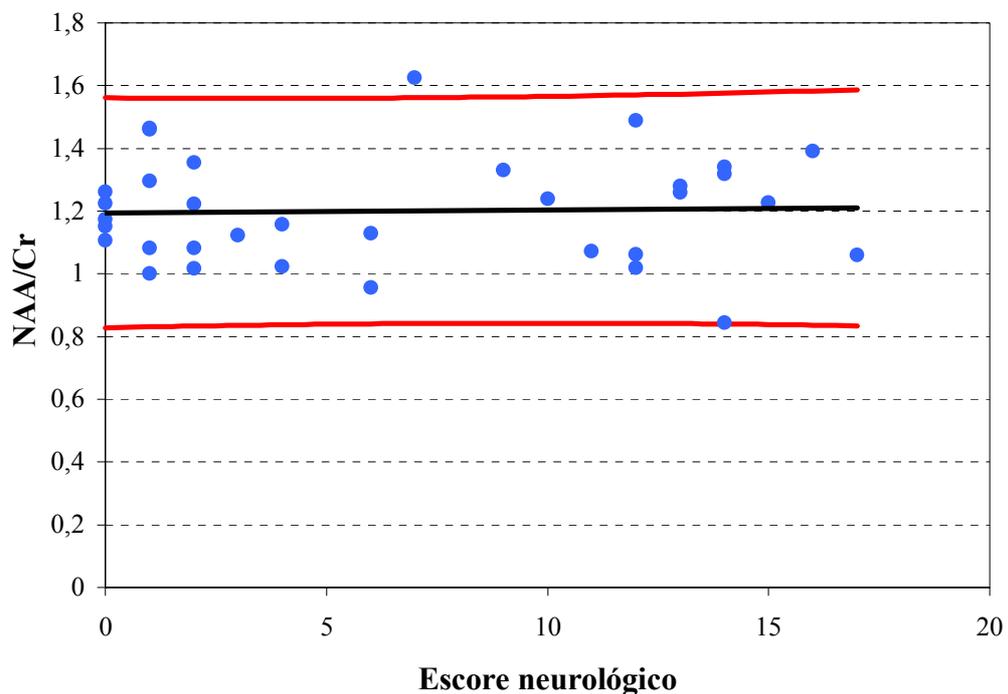
**GRÁFICO 11 - COMPARAÇÃO DAS MÉDIAS DAS LARGURAS MÉDIAS DOS PICOS DAS ERMS DOS PACIENTES COM DW E DOS CONTROLES NAS TRÊS LOCALIZAÇÕES ESTUDADAS**



## 5.6 - Escore neurológico X espectroscopia de prótons por ressonância magnética dos pacientes

O estudo comparativo entre o escore neurológico e a relação NAA/Cr nos núcleos da base, buscando uma correlação entre a ERM e o grau de acometimento neurológico, não demonstrou correlação significativa entre a relação NAA/Cr e o escore neurológico, sendo praticamente nula [Gráfico 12].

**GRÁFICO 12 -** GRÁFICO DE DISPERSÃO ENTRE ESCORE NEUROLÓGICO E RELAÇÃO N-ACETIL ASPARTATO/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE (AS RETAS VERMELHAS INDICAM UM INTERVALO DE PREDIÇÃO DE 95%)



O coeficiente de correlação linear de Pearson ficou em 0,033 e não é significativamente diferente de zero, como podemos observar pela Tabela 10.

**TABELA 10** - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA REGRESSÃO ENTRE ESCORE NEUROLÓGICO E RELAÇÃO N-ACETIL ASPARTATO/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE

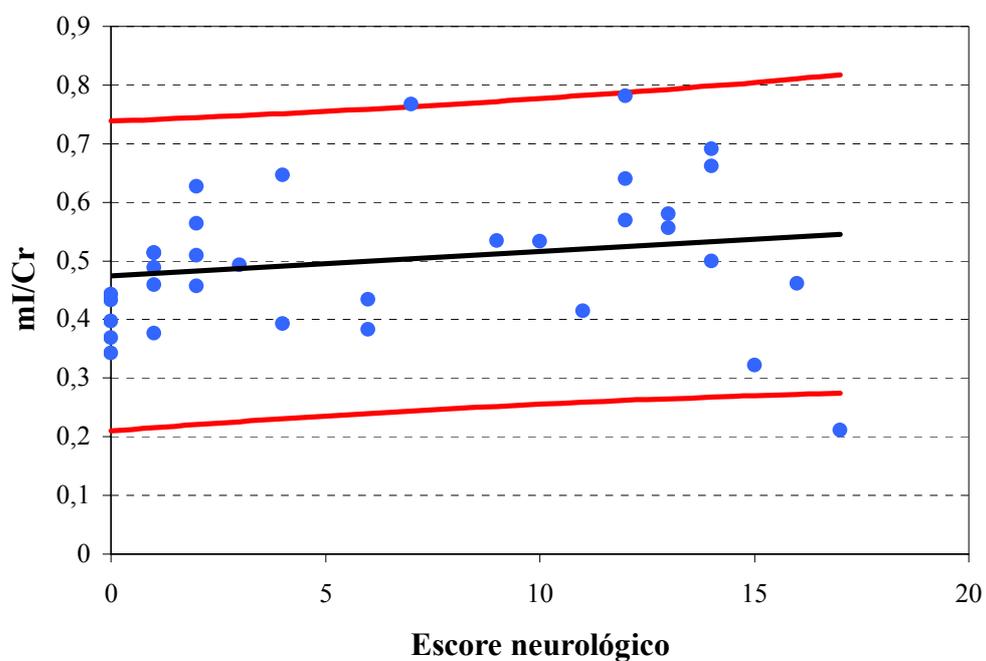
Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo (p)
Regressão	1	0,00106	0,00106	0,03	0,853
Resíduo	32	0,96972	0,03030		
Total	33	0,97078			

A equação obtida foi a seguinte:  $NAA/Cr = 1,19 + 0,00097 * \text{Escore Neurológico}$ ; onde percebemos o pequeno valor do coeficiente (que não é significativamente diferente de zero).

O coeficiente de explicação da regressão ficou em 0,1%, ou seja, praticamente zero.

Comparamos o escore neurológico com a relação mI/Cr nos núcleos da base, e observamos que a correlação entre as medidas é pequena, com uma grande dispersão dos dados [Gráfico 13].

**GRÁFICO 13** - GRÁFICO DE DISPERSÃO ENTRE ESCORE NEUROLÓGICO E RELAÇÃO MIO-INOSITOL/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE (AS RETAS VERMELHAS INDICAM UM INTERVALO DE PREDIÇÃO DE 95%)



O coeficiente de correlação linear de Pearson ficou em 0,194 e não é significativamente diferente de zero, como podemos observar pela Tabela 11.

**TABELA 11 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA REGRESSÃO ENTRE ESCORE NEUROLÓGICO E RELAÇÃO MIO-INOSITOL/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE**

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo (p)
Regressão	1	0,01979	0,01979	1,25	0,271
Resíduo	32	0,50464	0,01577		
Total	33	0,52443			

A equação obtida foi a seguinte:  $mI/Cr = 0,474 + 0,00420 * \text{Escore Neurológico}$ , onde percebemos o pequeno valor do coeficiente (que não é significativamente diferente de zero).

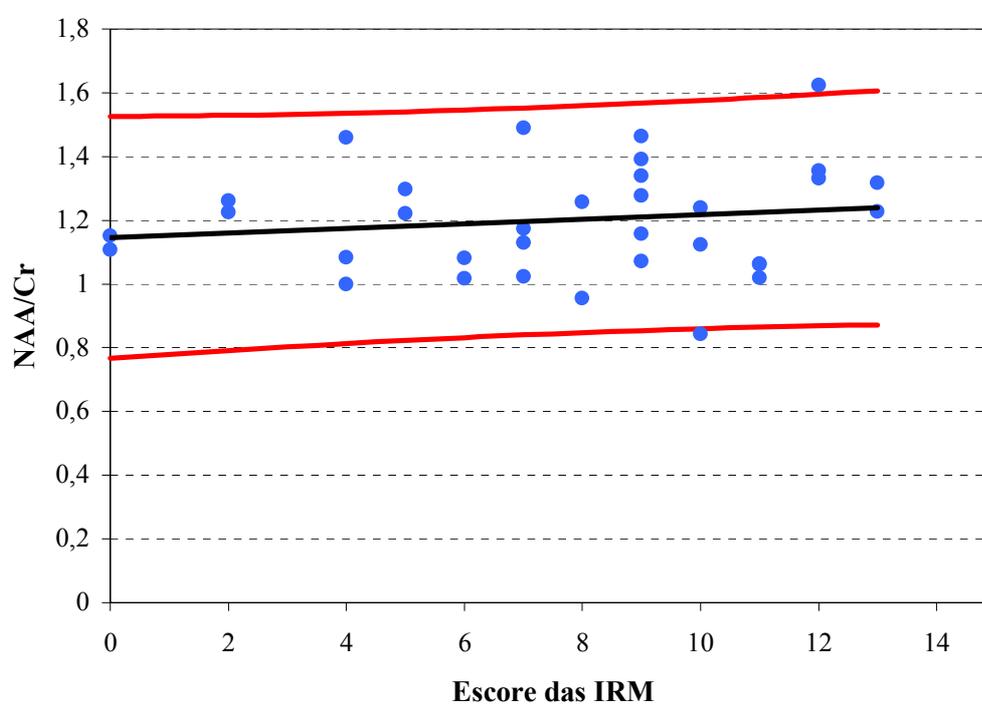
O coeficiente de explicação da regressão ficou em 3,8%.

### 5.7 - Escore das imagens convencionais de ressonância magnética X espectroscopia de prótons por ressonância magnética dos pacientes

O estudo comparativo entre o escore das IRM e as relações NAA/Cr e mI/Cr nos núcleos da base, buscando uma correlação entre a ERM e o grau de alteração nas IRM, não demonstrou correlação significativa entre a relação NAA/Cr e o escore das IRM.

Para compararmos o escore das IRM com a relação NAA/Cr, fizemos o Gráfico 14, com os valores para as duas medidas, pelo qual observamos que a correlação entre ambas é extremamente baixa.

**GRÁFICO 14 -** GRÁFICO DE DISPERSÃO ENTRE ESCORE DAS IRM E RELAÇÃO N-ACETIL ASPARTATO/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE (AS RETAS VERMELHAS INDICAM UM INTERVALO DE PREDIÇÃO DE 95%)



O coeficiente de correlação linear de Pearson ficou em 0,149 e não é significativamente diferente de zero, como podemos observar pela Tabela 12.

**TABELA 12 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA REGRESSÃO ENTRE ESCORE DAS IRM E RELAÇÃO N-ACETIL ASPARTATO/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE**

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo (p)
Regressão	1	0,0216	0,02160	0,73	0,400
Resíduo	32	0,94918	0,02966		
Total	33	0,97078			

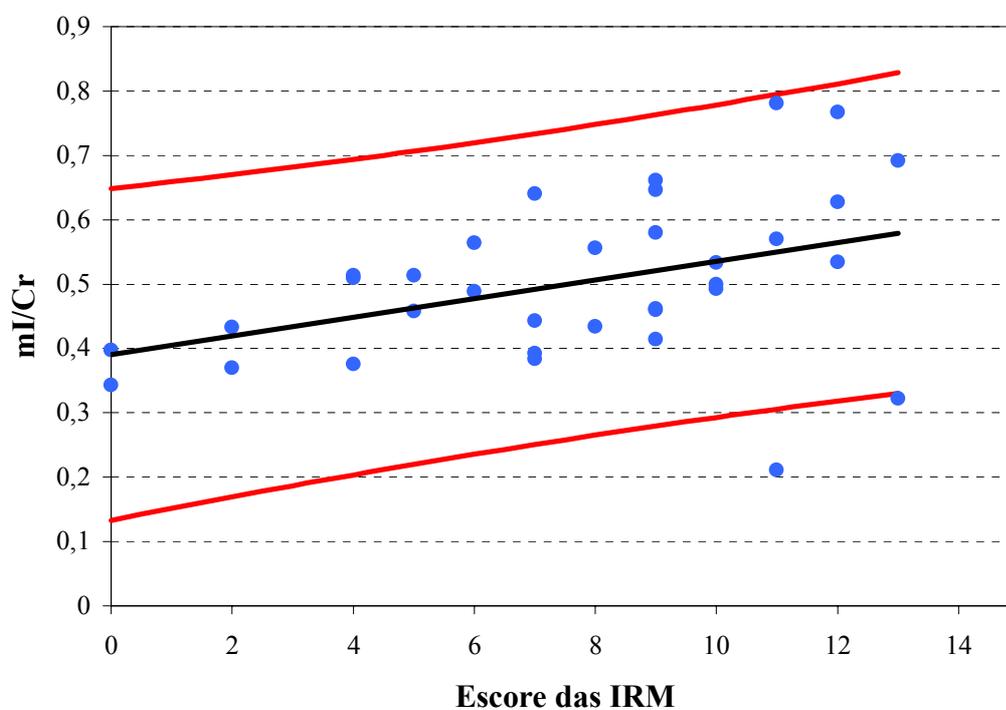
A equação obtida foi a seguinte:  $NAA/Cr = 1,15 + 0,00719 * \text{Escore IRM}$ , onde percebemos o pequeno valor do coeficiente (que não é significativamente diferente de zero).

O coeficiente de explicação da regressão ficou em 2,2%, valor extremamente baixo.

Já a correlação entre a relação mI/Cr e o escore das IRM existe, de maneira positiva, ou seja, quanto maior a relação, maior o escore neurológico.

Para compararmos o escore das IRM com a relação mI/Cr, fizemos o Gráfico 15, com os valores para as duas medidas, pelo qual observamos uma certa correlação entre elas.

**GRÁFICO 15 -** GRÁFICO DE DISPERSÃO ENTRE ESCORE DAS IRM E RELAÇÃO MIO-INOSITOL/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE (AS RETAS VERMELHAS INDICAM UM INTERVALO DE PREDIÇÃO DE 95%)



O coeficiente de correlação linear de Pearson ficou em 0,409 e ele é significativamente diferente de zero, como podemos observar pela Tabela 13.

**TABELA 13 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA REGRESSÃO ENTRE ESCORE DAS IRM E RELAÇÃO MIO-INOSITOL/CREATINA NOS NÚCLEOS DA BASE**

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma de quadrados	Quadrados médios	Estatística F	Nível descritivo (p)
Regressão	1	0,08782	0,08782	6,44	0,016
Resíduo	32	0,43661	0,01364		
Total	33	0,52443			

A equação obtida foi a seguinte:  $mI/Cr = 0,391 + 0,0145 * \text{Escore IRM}$ , onde temos que para cada ponto de variação no escore temos 0,0145 pontos de variação na relação mI/Cr.

O coeficiente de explicação da regressão ficou em 16,7%, valor baixo e com isto temos que, apesar da correlação ser significativa, o intervalo de predição é grande.

## ***6 - Discussão***

---

---

A DW, embora seja uma doença rara, apresenta importância significativa principalmente pelo fato de apresentar tratamento eficaz, porém para isto é crucial seu diagnóstico precoce. No nosso estudo, abordamos aspectos pertinentes às manifestações clínicas do ponto de vista neurológico, às alterações nas IRM e aos achados de ERM nesta moléstia. Deve-se levar em conta sempre que a DW apresenta uma particularidade, que consiste no fato de que as alterações do SNC possam resultar do efeito direto da deposição do cobre, do efeito secundário da hepatopatia sobre o encéfalo, ou de ambos.

Clinicamente, nos 34 pacientes com DW, a manifestação neurológica mais comum foi a disartria (76,47%), seguida respectivamente pela oligocinesia (50,0%); distonia (também em 50,0%); quadros psiquiátricos (47,06%); hipertonia plástica (rigidez, em 44,12%) e alterações na marcha (41,18%). Estes achados estão dentro do esperado de acordo com a literatura [BARBOSA, 1990; PRAYER *et al.*, 1990; BREWER; YUZBASIYAN-GURKAN, 1992; BARBOSA, 2000], representando de forma significativa os principais sinais e sintomas neurológicos observados na DW.

A ressonância magnética sem dúvida é o método mais indicado no estudo por imagem dos pacientes com DW [AISEN *et al.*, 1985]. Na nossa casuística, as lesões apresentavam distribuição bilateral e simétrica, com exceção feita aos focos de hipersinal em T2 na substância branca cerebral, que tinham distribuição assimétrica,

---

---

em conformidade com vários relatos [AISEN *et al.*, 1985; STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987; HEDERA *et al.*, 2002].

O local mais acometido por lesões com hipersinal em T2 foi o putâmen (73,53%) um achado que é corroborado por diversos estudos [AISEN *et al.*, 1985; STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987; MAGALHÃES *et al.*, 1994], sem achados de lesões unilaterais, como descrito no estudo de PRAYER *et al.* (1990). A segunda região mais acometida, a ponte (47,06%), é uma estrutura pouco citada nos primeiros relatos iniciais sobre IRM na DW [AISEN *et al.*, 1985; STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987]; porém claramente presente em artigos mais recentes [IMIYA *et al.*, 1992; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996; SAATCI *et al.*, 1997], com frequência de descrição semelhante à observada em nossa casuística. Este achado pode ser creditado a um notável desenvolvimento tecnológico dos aparelhos de RM ao longo dos anos, permitindo, através de seqüências mais sensíveis, da realização de imagens com menor espessura, e de maior relação sinal/ruído (proporcionada por exemplo por aparelhos de campo mais alto), um estudo mais detalhado da fossa posterior e em especial do tronco encefálico.

As demais estruturas lesadas, o mesencéfalo (também em 47,06%); o globo pálido e o tálamo (44,12% cada); o núcleo caudado (38,24%); o cerebelo e os pedúnculos cerebelares (29,41%), também se apresentam dentro do esperado de acordo com a literatura [THUOMAS *et al.*, 1993; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996; SAATCI *et al.*, 1997; COSTA, 2002].

Em 10 casos (29,41%), caracterizamos focos de hipersinal em T2 esparsos de maneira assimétrica pela substância branca subcortical cerebral, predominando nos lobos frontais (26,47%), também em conformidade com a literatura [VAN

---

---

WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996; HEDERA *et al.*, 2002]. No estudo de SAATCI *et al.* (1997), por exemplo, seis dos 30 pacientes estudados apresentam lesões da substância branca subcortical, predominando nas regiões frontal e parietal.

Quanto às lesões com hipossinal em T2, foram encontradas alterações nas seguintes estruturas: globo pálido (76,47%); substância negra (73,53%); núcleo caudado (67,65%); putâmen (44,12%); núcleo rubro (17,65%) e núcleo denteado cerebelar (14,71%). Estas alterações são descritas de forma esparsa na literatura em pacientes com DW, na maioria das vezes apenas como relatos de poucos casos [YUH; FLICKINGER, 1988; HITOSHI *et al.*, 1991; SINGCHAROEN *et al.*, 1991; BRUGIERES *et al.*, 1992]. Mesmo em casuísticas maiores, há relatos marginais destas alterações [MAGALHÃES *et al.*, 1994; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996]. No estudo de SAATCI *et al.* (1997), em 30 pacientes com DW, há descrição de 2 casos com hipossinal em T2 no globo pálido e na substância negra; no relato de KING *et al.* (1996), apenas um paciente entre os 25 estudados apresentou pequenos focos de hipossinal no putâmen, superpostos ao hipersinal.

O fato de nosso estudo apresentar frequências de acometimento maiores do que as observadas na literatura, como acima descrito, deve ser valorizado, devido às seguintes vantagens do nosso estudo: realizado em aparelho de 1,5T (alto campo), notadamente mais sensível a artefatos de suscetibilidade magnética causados pela deposição de ferro e cobre [CUMINGS, 1948], que são presumivelmente a origem do hipossinal em T2 nestas estruturas [DRAYER, 1989]; foi realizada seqüência T2 ES, mais sensível aos artefatos de suscetibilidade do que as seqüências T2 ESR mais usadas hoje em dia na prática clínica, por serem mais rápidas; a caracterização do hipossinal em T2 como sendo patológico foi baseada na correlação com a mesma

---

---

seqüência (e os mesmos parâmetros), realizada nos participantes do grupo controle, com a mesma faixa etária, uma vez que algumas destas estruturas apresentam, com o envelhecimento, normalmente deposição de ferro e hipossinal em T2. Possivelmente estas alterações são reais, e refletem a deposição de ferro e cobre que ocorre nesta doença [CUMINGS, 1948; CUMINGS, 1968].

Um fato que pode parecer contraditório é a coexistência de hipersinal e hipossinal em T2 na mesma estrutura; tal situação pode ocorrer e depende basicamente da ocorrência de duas situações: uma lesão heterogênea com áreas de hiper e hipossinal em T2, comumente observada no putâmen; e a comparação de seqüências que valorizam mais o hipersinal em T2 das estruturas lesadas (T2 ESR e FLAIR) com outras que demonstram o hipossinal de maneira mais clara (T2 ES), cada uma delas demonstrando apresentações distintas e concomitantes da mesma entidade mórbida. Ainda nesta linha, a utilização da seqüência eco de gradientes poderia ser mais sensível do que a seqüência eco de spins na caracterização de áreas de hipossinal em T2 secundárias a efeitos de suscetibilidade pela deposição de ferro e cobre no SNC dos pacientes com DW; porém optamos pelo uso da seqüência eco de spins em virtude de sua maior resolução espacial, e por ter sido a técnica utilizada em estudos anteriores sobre a deposição de ferro no SNC [AOKI *et al.*, 1989; MILTON *et al.*, 1991].

O hipersinal em T1 observado no globo pálido de 4 pacientes com DW em nosso estudo mais provavelmente é secundário à hepatopatia com *shunt* portosistêmico; que alguns relatos atribuem ao acúmulo de manganês no globo pálido, levando ao hipersinal [INOUE *et al.*, 1991; KULISEVSKY *et al.*, 1992; MOCHIZUKI *et al.*, 1997]; em alguns relatos mais antigos se especulava a respeito

---

---

deste achado estar associado com efeito paramagnético do cobre, por sua deposição levar a um encurtamento de T1 dos tecidos em algumas circunstâncias [THUOMAS *et al.*, 1993], porém tal explicação não goza de grande aceitação atualmente, e o depósito de manganês secundário ao *shunt* parece ser a explicação mais plausível.

A prevalência de proeminência dos espaços liquóricos em detrimento do parênquima encefálico, sugerindo atrofia global, foi observada em expressiva porção dos exames (76,47%). Esta alteração é vista na literatura: nos casos descritos por SAATCI *et al.* (1997), 19 dos 21 pacientes sintomáticos apresentavam atrofia, sendo 18 com atrofia global e um com atrofia cerebelar; BARBOSA *et al.* (1993) demonstraram atrofia em cinco dos seus 16 pacientes; PRAYER *et al.* (1990) relataram os mesmos achados em 31,5% dos pacientes de sua casuística. Além disso, os estudos anátomo-patológicos descrevem esta proeminência dos espaços liquóricos de forma global [GREENFIELD *et al.*, 1992].

As ERMs foram obtidas nos núcleos da base, por ser o local mais freqüente de acometimento pela doença [KING *et al.*, 1996; VAN WASSENAER-VAN HALL *et al.*, 1996]; na cortical e na substância branca que, embora não sejam comumente afetadas, há relatos de acometimento tanto da cortical quanto da substância branca na DW; além disso o fato de ser uma doença metabólica, em que presumivelmente as alterações de depósito de cobre sejam globais, faz com que seja interessante o estudo bioquímico através da ERM em locais sem alteração detectável nas IRM, sendo já descritas alterações na mesma situação em pacientes com esclerose múltipla [FU *et al.*, 1998]. A escolha da localização parieto-occipital para a amostragem do córtex reside no fato de ser nesta localização que se obtém menor contaminação possível com substância branca e espaços liquóricos adjacentes; a análise da substância

---

---

branca frontal foi feita pois nesta região há mais alterações visíveis da substância branca cerebral nas IRM de pacientes com DW [AISEN *et al.*, 1985; STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987; HEDERA *et al.*, 2002], embora não tivéssemos englobado áreas com alteração de sinal nas IRM no VOI da substância branca frontal.

O tempo de aquisição da ERM foi mais prolongado nos núcleos da base devido ao fato de que neste local a obtenção de uma espectroscopia de boa qualidade é mais difícil, possivelmente relacionada à deposição de cobre e ferro nos núcleos da base em pacientes com DW [CUMINGS, 1948], substâncias paramagnéticas, que determinam inhomogeneidade do campo no interior do VOI, e resultam em alargamento dos picos obtidos na espectroscopia. Sendo assim, aumentamos o número de aquisições para 160 (ao invés de 128), conforme já citado, acarretando um aumento de pouco mais de um minuto no tempo total da seqüência, que foi de 6 minutos (ao invés de 4 minutos e 56 segundos nas outras localizações).

Quando da realização de ERMs, a contaminação com estruturas adjacentes é inerente, principalmente por se tratar de amostra tridimensional. Nos núcleos da base, a contaminação consistiu principalmente de substância branca ao redor, que em adultos é bastante pequena [LAM *et al.*, 1998]. Pelos mesmos motivos, os outros VOIs na verdade também sofreram contaminação das estruturas adjacentes, embora fosse na maioria das vezes desprezível.

Em controles normais não se observam alterações significativas nas espectroscopias quanto à lateralidade [TEDESCHI *et al.*, 1995; CHOI *et al.*, 2000]; além disto a DW é doença metabólica de acometimento via de regra bilateral e simétrico [LAWLER *et al.*, 1983; MAGALHÃES *et al.*, 1994]. Por este motivo o

---

---

VOI foi escolhido de forma aleatória na região dos núcleos da base (porém predominantemente à esquerda) e na substância branca frontal (predominantemente à direita).

Optou-se por realizar relações entre os metabólitos tendo como denominador a creatina (Cr), forma consagrada pela literatura, uma vez que a creatina é reconhecida como o mais estável dos metabólitos, permanecendo sem alteração significativa em diversos processos patológicos [WANG; ZIMMERMAN, 1998]. Além disso seu uso como referência interna foi testado de forma específica em pacientes com DW, mostrando-se adequado [KRAFT *et al.*, 1999]. Obtivemos então as relações NAA/Cr, Co/Cr, ml/Cr e Glx/Cr.

No nosso estudo, a relação NAA/Cr está diminuída nos pacientes de maneira significativa nas três localizações avaliadas pela espectroscopia quando comparamos pacientes e controles, de forma ainda mais intensa nos núcleos da base, de acordo com o observado por ALANEN *et al.* (1999) e VAN DEN HEUVEL *et al.* (1997), porém em contradição com o observado por KRAFT *et al.* (1999). Esta redução nos núcleos da base deve ser interpretada à luz da reconhecida função do NAA como marcador neuronal, devendo em boa parte corresponder a perda neuronal e axonal. No entanto, cabe ressaltar que a redução do NAA pode ser temporária e parcialmente reversível em algumas doenças [DE STEFANO *et al.*, 1995; WANG; ZIMMERMAN, 1998], indicando a possibilidade de que a redução da relação NAA/Cr reflita ao menos em parte um distúrbio funcional neuronal, sem morte da célula, que poderia ser revertido, especialmente na DW, com o tratamento. A análise deste componente reversível da redução da relação NAA/Cr não pôde ser avaliada, por não ser nosso objetivo a avaliação ao longo do tempo destes pacientes.

---

---

Entretanto, embora este componente seja digno de menção, possivelmente a maior parte da redução da relação NAA/Cr deve ser imputada à perda neuronal, corroborada por estudos de anatomia patológica [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984; GREENFIELD *et al.*, 1992].

O encontro de redução da relação NAA/Cr na substância branca frontal e na cortical parieto-occipital deve ser interpretado da mesma forma que nos núcleos da base, refletindo principalmente perda neuronal e axonal, talvez com algum componente funcional reversível associado. No entanto, esta alteração ocorreu em áreas que não apresentavam alterações nas IRM, demonstrando dois aspectos particulares: um deles, o caráter global da DW, como seria de se esperar numa doença metabólica, um achado que se coaduna com os altos índices de atrofia global descritos nas IRM, conforme acima descrito. O outro aspecto é o fato da ERM poder demonstrar alterações bioquímicas que não se traduziram como alteração estrutural visível nas IRM, fato este já observado em outras moléstias [FU *et al.*, 1998].

O fato de nossas observações acerca da relação NAA/Cr serem contraditórias em relação ao descrito por KRAFT *et al.* (1999) pode ser explicado provavelmente por um número pequeno da amostra naquele estudo (13 pacientes estudados na cortical e na substância branca, e apenas 9 no putâmen).

Outro achado significativo foi o aumento da relação mI/Cr nos núcleos da base dos pacientes com DW quando comparados aos controles. O mio-inositol apresenta duas funções básicas, estando envolvido na manutenção do equilíbrio osmótico celular e sendo um marcador de glia [DANIELSEN; ROSS, 1999]. Nos pacientes com DW há relatos de redução da relação mI/Cr, possivelmente relacionada a descompensação hepática com quadros de encefalopatia [VAN DEN

---

---

HEUVEL *et al.*, 1997], explicada pelo papel do mI como regulador da osmolaridade celular, alterada em virtude do acúmulo de toxinas associadas à descompensação hepática; porém na nossa casuística o que observamos é um aumento desta relação, possivelmente relacionado ao segundo papel citado do mI, como marcador de glia. É relativamente conhecida de relatos de anatomia patológica a proliferação glial nos núcleos da base em pacientes com DW, especialmente no núcleo lentiforme, com a presença de células de Alzheimer tipos I e II, e de células de Opalski [GREENFIELD *et al.*, 1992], todas de origem glial [SCHEINBERG; STERNLIEB, 1984]. Assim, talvez seja esta gliose secundária às lesões causadas pelo depósito de cobre nesta região que seja o principal determinante do aumento da relação mI/Cr nos núcleos da base observado em nosso estudo.

Outro achado que corrobora esta possibilidade é o fato de que na DW classicamente o local mais freqüentemente acometido com alteração de sinal nas IRM, notadamente com hipersinal em T2, é o núcleo lentiforme (em nosso estudo o putâmen estava acometido em 73,53% dos pacientes). Em se especulando que um dos componentes mais importantes para a visibilização deste hipersinal em T2 é representado por gliose, o achado de aumento da relação mI/Cr nos núcleos da base parece razoável.

Este aumento da relação mI/Cr não foi observado na substância branca frontal e na cortical parieto-occipital, talvez relacionado a uma proliferação glial menos intensa nestes locais, fato que é corroborado pela anatomia patológica [GREENFIELD *et al.*, 1992], bem como pela ausência de alteração de sinal nas IRM destes pacientes nos locais amostrados, uma vez que a gliose é detectada de maneira

---

---

muito sensível pelas IRM como áreas com hipersinal em T2 [SZE *et al.*, 1986; MARSHALL *et al.*, 1988].

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os pacientes e os controles quanto às relações Co/Cr e Glx/Cr em todos os locais. Em especial quanto à relação Co/Cr os relatos da literatura são contraditórios, havendo relatos de redução [VAN DEN HEUVEL *et al.*, 1997] ou de não alteração [KRAFT *et al.*, 1999]. Na nossa casuística, nos núcleos da base, houve uma tendência de aumento da relação Co/Cr nos pacientes, embora não estatisticamente significativa, que pode estar associada à proliferação glial já descrita acima, com aumento do *turnover* das membranas celulares.

É digno de citação que o padrão sugestivo de encefalopatia hepática detectável pela ERM, caracterizado por redução das relações Co/Cr e ml/Cr; e por aumento da relação Glx/Cr [KREIS *et al.*, 1990; KREIS *et al.*, 1992; ROSS *et al.*, 1994] não foi observado de maneira inequívoca na maioria de nossos pacientes, embora todos tenham por definição hepatopatia. Este fato pode ser explicado pela cronicidade do tratamento da maioria dos pacientes, com estabilidade das alterações hepáticas e com menor possibilidade de descompensação; no artigo de VAN DEN HEUVEL *et al.* (1997) a falta de aumento da relação Glx/Cr também foi creditada à possibilidade de que os pacientes eram tratados de longa data, com hepatopatia estável.

Embora existam relatos de alterações mitocondriais secundárias ao depósito de cobre, com comprometimento do metabolismo da glicose, não se detectou pico de lactato nas ERMs dos pacientes. Este achado já foi observado no estudo de KRAFT

---

---

*et al.* (1999), e uma possível explicação seria um aumento insignificante ou mesmo um aumento da concentração do lactato abaixo do limiar de detecção pela DW.

A análise da largura média dos picos (LM) das ERM's trouxe dados instigantes para nosso estudo, principalmente o fato de que a LM foi em média diferente de forma significativa entre os pacientes e os controles nos núcleos da base. Este achado é bastante significativo, demonstrando que na DW há deposição mais acentuada de ferro e cobre nos núcleos da base, conforme já descrito acima, e a presença destes metais determinando artefatos de suscetibilidade magnética torna o campo magnético heterogêneo no interior do VOI e conseqüentemente os picos do espectro obtido tendem a estar alargados secundariamente à heterogeneidade do campo. Nas outras duas localizações, onde esta deposição não é tão evidente, a LM em média não diferiu significativamente entre os pacientes e os controles, demonstrando ainda mais fortemente que o fenômeno é restrito aos núcleos da base.

Quanto à correlação entre o escore neurológico e as relações NAA/Cr e mI/Cr nos núcleos da base, não observamos correlação entre as relações e o escore obtido. Esta falta de correlação entre as relações e o escore possivelmente reflete o fato de que o grau de acometimento neurológico depende também de lesões em outros locais no SNC além da região dos núcleos da base, em especial o núcleo lentiforme, que foi o centro do nosso VOI nesta topografia. Além disso, demonstra ainda que as alterações observadas nos núcleos da base não podem ser tomadas como amostra do que se passa no restante do SNC, ao menos no tocante às alterações neurológicas. Assim, a perda neuronal mensurada através da redução da relação NAA/Cr e a proliferação glial avaliada através do aumento da relação mI/Cr nos núcleos da base dos pacientes com DW não parece ser isoladamente fator que se correlacione de

---

---

maneira significativa com o escore, porquanto outras alterações em outros locais também desempenhem papel relevante.

Um outro aspecto que pode ser abordado nesta análise é o fato de que a relação NAA/Cr, conforme acima discutido, ao menos em parte pode ser representada por um componente reversível de distúrbio funcional neuronal, e assim não há uma correlação dos níveis da relação NAA/Cr com os escores porque nem toda a queda da relação é representada por perda neuronal; e assim o componente reversível, que não foi o objetivo do nosso estudo (pois dependeria de estudos evolutivos dos pacientes), seria responsável por alteração da relação sem um componente clínico nítido.

Não houve boa correlação entre a relação ml/Cr obtida nos núcleos da base e o escore neurológico, indicando que esta relação também, como observado na relação NAA/Cr, não se presta a uma condição de indicador das alterações neurológicas.

Esta falta de correlação também pode ser tributada ao fato de que sabidamente alguns sinais e sintomas neurológicos estão associados a lesões de estruturas específicas, embora haja alguma controvérsia na literatura. Assim, a distonia se associa com alterações no putâmen, a disartria com lesões no putâmen e no núcleo caudado, dismetria e tremor de ação com lesão dos núcleos cerebelares profundos [STAROSTA-RUBINSTEIN *et al.*, 1987]. ODER *et al.* (1993), através de análise fatorial, determinaram três subgrupos da DW: (1) bradicinesia, rigidez, alteração cognitiva, dilatação do III ventrículo; (2) tremor, ataxia, capacidade funcional reduzida e lesões talâmicas focais; e (3) discinesia, disartria, distúrbios de personalidade e lesões focais no núcleo lentiforme. Desta forma, a medida das

---

---

relações das IRMs nos núcleos da base poderia se relacionar a alguns dos componentes do escore neurológico, porém não refletir de maneira alguma o que acontece em outros locais do SNC, responsáveis por outros componentes do mesmo escore.

Quanto à correlação entre o escore das IRM e as relações NAA/Cr e mI/Cr nos núcleos da base, não observamos correlação entre a relação NAA/Cr e o escore obtido. Esta falta de correlação desta relação com o escore possivelmente reflete o fato de que o grau de alteração das IRM depende também de outros locais no SNC além da região dos núcleos da base, em especial o núcleo lentiforme, que foi o centro do nosso VOI nesta topografia. Assim, a perda neuronal mensurada através da redução da relação NAA/Cr nos núcleos da base dos pacientes com DW não foi isoladamente fator que se correlacionou de maneira significativa com o escore, porquanto outras alterações em outros locais também desempenharam papel relevante.

Além disso, a perda neuronal, principal componente da relação NAA/Cr, não se correlaciona de forma nítida com alterações nas IRM, já que classicamente a perda neuronal não se correlaciona com alteração de sinal na RM, e muitas vezes há alteração da relação NAA/Cr sem alteração significativa das IRM, conforme já observado em outras doenças [FU *et al.*, 1998]. E um outro aspecto que pode ser abordado nesta análise é o fato de que a relação NAA/Cr, conforme acima discutido, ao menos em parte pode ser representada por um componente reversível de distúrbio funcional neuronal; e assim o componente reversível, que não foi o objetivo do nosso estudo, seria responsável por alteração da relação sem um componente de imagem nítido.

---

---

A relação mI/Cr não apresentou correlação com o escore neurológico; mas apresentou correlação significativa, embora de fraca intensidade, com o das IRM, sendo que quanto maior a relação mI/Cr, maior o escore. Este fato deve ser explicado porque a relação mI/Cr, conforme acima descrito, está associada à gliose observada nos núcleos da base, possivelmente podendo ser tomada como uma amostra do que ocorre nas demais regiões do encéfalo que apresentam hipersinal em T2, influenciando assim o grau de alteração das IRM, já que em nosso estudo várias estruturas com hipersinal em T2 foram consideradas para a obtenção do escore das IRM, e este hipersinal ao menos em parte também se correlaciona com a gliose.

Esta falta de correlação entre a ERM e o quadro neurológico e também entre a ERM e o quadro das IRM parece repetir as tentativas descritas de correlação entre o quadro neurológico e o grau de alteração das IRM. A literatura é bastante controversa a este respeito, havendo estudos que confirmam esta associação [AISEN *et al.*, 1985; THUOMAS *et al.*, 1993; MAGALHÃES *et al.*, 1994] e outros que a refutam [PRAYER *et al.*, 1990; NAZER *et al.*, 1993]. A hipótese de que alterações bioquímicas causem lesões funcionais do SNC antes de haver alterações morfológicas pode ser uma explicação possível para a falta de correlação entre o quadro clínico e as IRM. Neste contexto, a ERM, embora sinalizando alterações bioquímicas do SNC, também não se correlaciona de forma significativa com os achados clínicos e das IRM por conta de uma heterogeneidade das estruturas acometidas e do grau de acometimento nos pacientes com DW.

Em resumo, nosso estudo demonstrou de maneira inequívoca a existência de alterações nas ERMs de pacientes com DW, na comparação com um grupo de voluntários. Estas alterações foram atribuídas à perda neuronal e proliferação glial,

---

achados que se correlacionam de maneira notável com descrições anátomo-patológicas, e por vezes podem ser observadas em locais aparentemente normais às IRM. No entanto, estas alterações nos núcleos da base, embora essencialmente associadas às lesões causadas pela DW, não apresentam correlação consistente com o escore neurológico, fato que demonstra que a alteração neurológica depende também de outros locais acometidos, e que o grau de acometimento destas estruturas deve ser heterogêneo num mesmo paciente; e, assim, os achados nos núcleos da base não podem ser tomados como amostra do quadro global. Apenas a relação mI/Cr se correlacionou com o escore das IRM, fato que deve estar associado ao hipersinal em T2 que compõe parte do escore e que deve corresponder principalmente à gliose, estando também o mI relacionado à gliose através de aumento da relação mI/Cr.

Como perspectiva, realçamos que estudos futuros, principalmente longitudinais, poderão ser importantes na definição do papel da ERM no acompanhamento de pacientes com DW, talvez monitorando e indicando o sucesso do tratamento de maneira mais fidedigna e precoce em relação aos parâmetros hoje disponíveis.

---

## ***7 - Conclusões***

---

1- Na comparação entre as ERM's dos pacientes com DW e as dos controles, observou-se:

- uma redução significativa da relação NAA/Cr dos pacientes em todos os locais analisados, de maneira mais intensa nos núcleos da base, possivelmente relacionada à perda neuronal; e que este achado ocorre também em áreas que não apresentam alterações nas IRM, como a cortical e a substância branca, indicando o caráter global da DW;
- um aumento significativo, nos núcleos da base, da relação mI/Cr dos pacientes em relação aos controles, possivelmente associado à proliferação glial observada neste local em pacientes com DW;
- que a deposição de ferro e cobre nos núcleos da base de pacientes com DW determina heterogeneidade do campo, e alargamento significativo da largura média dos picos das ERM's na comparação com os controles.

2- Na análise comparativa entre o escore neurológico dos pacientes com DW, e as relações NAA/Cr e mI/Cr nos núcleos da base, observou-se:

- não houve correlação significativa entre a relação NAA/Cr nos núcleos da base e o escore neurológico;
  - não houve tampouco correlação significativa entre a relação mI/Cr nos núcleos da base e o escore obtido.
-

3- Na análise comparativa entre o escore das IRM dos pacientes com DW, e as relações NAA/Cr e MI/Cr nos núcleos da base, observou-se:

- não houve correlação significativa entre a relação NAA/Cr nos núcleos da base e o escore das IRM;
  - houve correlação significativa entre a relação MI/Cr nos núcleos da base e o escore das IRM obtido, possivelmente porque esta relação possa ser considerada como um marcador da gliose, e assim deve mais fortemente se correlacionar com o hipersinal em T2 nas IRM, também, ao menos em parte, associado à gliose.
-

## ***8 - Anexos***

---

**ANEXO A – RELAÇÃO DOS PACIENTES, DATA DE REALIZAÇÃO DO EXAME, GÊNERO E IDADE**

<b>Paciente</b>	<b>RGHC</b>	<b>Data do exame</b>	<b>Gênero</b>	<b>Idade (anos)</b>
1 - DM	2471999B	21/11/2000	Feminino	31
2 - FASB*	3325960G	29/05/2000	Masculino	29
3 - AMC	3113623C	22/05/2000	Masculino	33
4 - BMS	6064775G	13/02/2001	Masculino	13
5 - JBP&	3330700H	09/01/2001	Masculino	15
6 - JDBP&	3268416D	19/12/2000	Masculino	23
7 - BSF	3258933I	05/06/2000	Masculino	18
8 - JOJ	13501332A	15/05/2000	Masculino	14
9 - SEM	3078182G	19/06/2000	Feminino	27
10 - ROA	2639294E	10/07/2000	Feminino	43
11 - HBS <sup>+</sup>	3328234C	03/07/2000	Masculino	24
12 - SBS <sup>+</sup>	7035871A	12/09/2000	Feminino	19
13 - HBL <sup>#</sup>	2201362J	21/08/2000	Feminino	42
14 - LPS	7037829I	24/07/2000	Feminino	22
15 - ESF	3085858B	31/07/2000	Feminino	22
16 - ALOS	3353355J	05/12/2000	Masculino	19
17 - MBN <sup>#</sup>	2182891B	06/06/2000	Feminino	36
18 - ESA	3328424I	15/05/2000	Feminino	14
19 - FSB*	3319327K	28/08/2000	Masculino	21
20 - LMNT	2812569H	24/10/2000	Feminino	34
21 - SOF	2099438F	17/07/2000	Masculino	35
22 - APS	3514597D	06/03/2001	Feminino	17
23 - IFCN	2722561F	01/02/2002	Feminino	34
24 - VCS	3563111C	08/02/2002	Feminino	25
25 - DMO	3367595H	03/08/2001	Masculino	35
26 - GCG	6090208C	05/10/2001	Masculino	13
27 - JCP	2527594E	24/08/2001	Masculino	30
28 - LSS	2741263I	19/10/2001	Masculino	23
29 - EGS	3367670D	28/09/2001	Masculino	34
30 - LMS	2955638A	20/09/2002	Masculino	24
31 - JCB	13580474F	30/08/2002	Feminino	17
32 - WFP	3342216C	09/08/2002	Masculino	25
33 - NMM	13446935I	18/10/2002	Feminino	27
34 - VCP	77062659D	04/12/2002	Masculino	25

NOTA: (\*); (&) e (#) irmãos; (†) primos

**ANEXO B – RELAÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS DO GRUPO  
CONTROLE, DATA DE REALIZAÇÃO DO EXAME,  
GÊNERO E IDADE**

<b>Controle</b>	<b>Data do exame</b>	<b>Idade (anos)</b>
1 - CBL	20/02/2001	Masculino 43
	18/05/2001	Feminino 26
3 - HWL	01/06/2001	Feminino 28
4 - CCL	25/05/2001	Feminino
5 - RRS	08/06/2001	Masculino 24
6 - FNS	22/06/2001	Feminino 29
7 - TSS	17/08/2001	Feminino 18
8 - ASH	20/07/2001	Feminino 30
9 - TS	31/08/2001	Masculino 15
10 - LRC		Feminino 32
11 - SC	22/11/2002	Feminino 26
12 - EAF	20/11/2002	Masculino 12
13 - JRV	03/12/2002	Masculino 32
14 - ACP	05/12/2002	16
15 - MRTG	17/10/2002	Masculino 26
	29/11/2002	Masculino 33
17 - LTL	13/09/2002	Masculino 29
18 - CLC	05/12/2002	Feminino 21
19 - HSA	06/12/2002	Masculino 12
20 - JBS	06/12/2002	Masculino 16
21 - CCN	26/11/2002	Masculino 25
22 - TDS	20/12/2002	Feminino 16
23 - EBS	20/12/2002	Masculino 18
24 - TGS	13/12/2002	Masculino 15
25 - RON	12/12/2002	Masculino 17
26 - FCL	12/12/2002	Feminino 16
27 - MJHI	23/12/2002	Masculino 29
28 - JPM	26/12/2002	Masculino 15
29 - FRS	26/12/2002	Masculino 17
30 - SFV	09/01/2003	Masculino 22
31 - WSS	16/01/2003	Masculino 19
32 - ESJ	17/01/2003	Masculino 29
33 - ESS	23/01/2003	Feminino 16
34 - DSG	24/01/2003	Feminino 15
35 - STS	16/01/2003	Feminino 28
36 - ZCS	31/01/2003	Feminino 33
37 - SAA	31/01/2003	Feminino 37

**ANEXO C**

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS**  
DA  
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS -INFORMAÇÃO**

(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: Utilização de novas técnicas de Ressonância Magnética (Difusão e Espectroscopia) na Doença de Wilson  
.....  
PESQUISADOR: Leandro Tavares Lucato.....  
CARGO/FUNÇÃO: Médico Radiologista. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 84464.....  
UNIDADE DO HCFMUSP: INRAD.....
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:  
SEM RISCO X 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 : Três anos (01/05/2000 a 01/05/2003).....

---

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

1. justificativa e os objetivos da pesquisa; 2. procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais; 3. desconfortos e riscos esperados; 4. benefícios que poderão ser obtidos; 5. procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo.

Estamos fazendo uma pesquisa sobre uma doença chamada Doença de Wilson. Vamos tentar provar a utilidade de novas técnicas de um exame usado para estudar o seu cérebro, chamado Ressonância Magnética. E estas novas técnicas podem vir a ser importantes no diagnóstico e controle dos pacientes e na resposta ao tratamento com as medicações utilizadas. Você será submetido a um exame de Ressonância Magnética. Este exame consiste em você entrar deitado dentro de um aparelho, e ficar quieto, movendo-se o mínimo possível. Haverá de tempos em tempos um barulho, que indica que o exame está sendo feito. Se você já fez Ressonância antes, o exame será semelhante aos anteriores. A diferença é que este será um exame um pouco mais demorado, porque serão utilizadas técnicas novas de Ressonância além do exame tradicional. Não há nenhum risco adicional causado por estas novas técnicas. Se você é do grupo de voluntários sem a doença, saiba que a sua participação é muito importante, porque será através do seu exame que poderemos ter idéia dos padrões normais para estas novas técnicas, que variam de aparelho para aparelho e de população para população.

---

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

1. Acesso, a qualquer tempo, às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para dirimir eventuais dúvidas. 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. 3. Salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade. 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.

Você pode ficar à vontade para perguntar o que quiser, quando quiser, sobre a doença de Wilson, o exame de Ressonância Magnética, as vantagens e desvantagens desta pesquisa. Estamos à disposição para tirar qualquer dúvida. Você tem o direito de não querer mais participar da pesquisa quando quiser, e isto não trará nenhum prejuízo para você, seu tratamento será continuado da mesma forma. Os dados e informações obtidos não serão divulgados para nenhuma outra pessoa que não esteja participando da pesquisa. Você pode procurar o Hospital das Clínicas sempre que precisar.

---

---

---

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

**Leandro Tavares Lucato**

**Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255**

**Tel. : 3069-7094 ou 7095**

---

**VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:**

---

**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        .

---

Assinatura do sujeito da pesquisa ou  
responsável legal

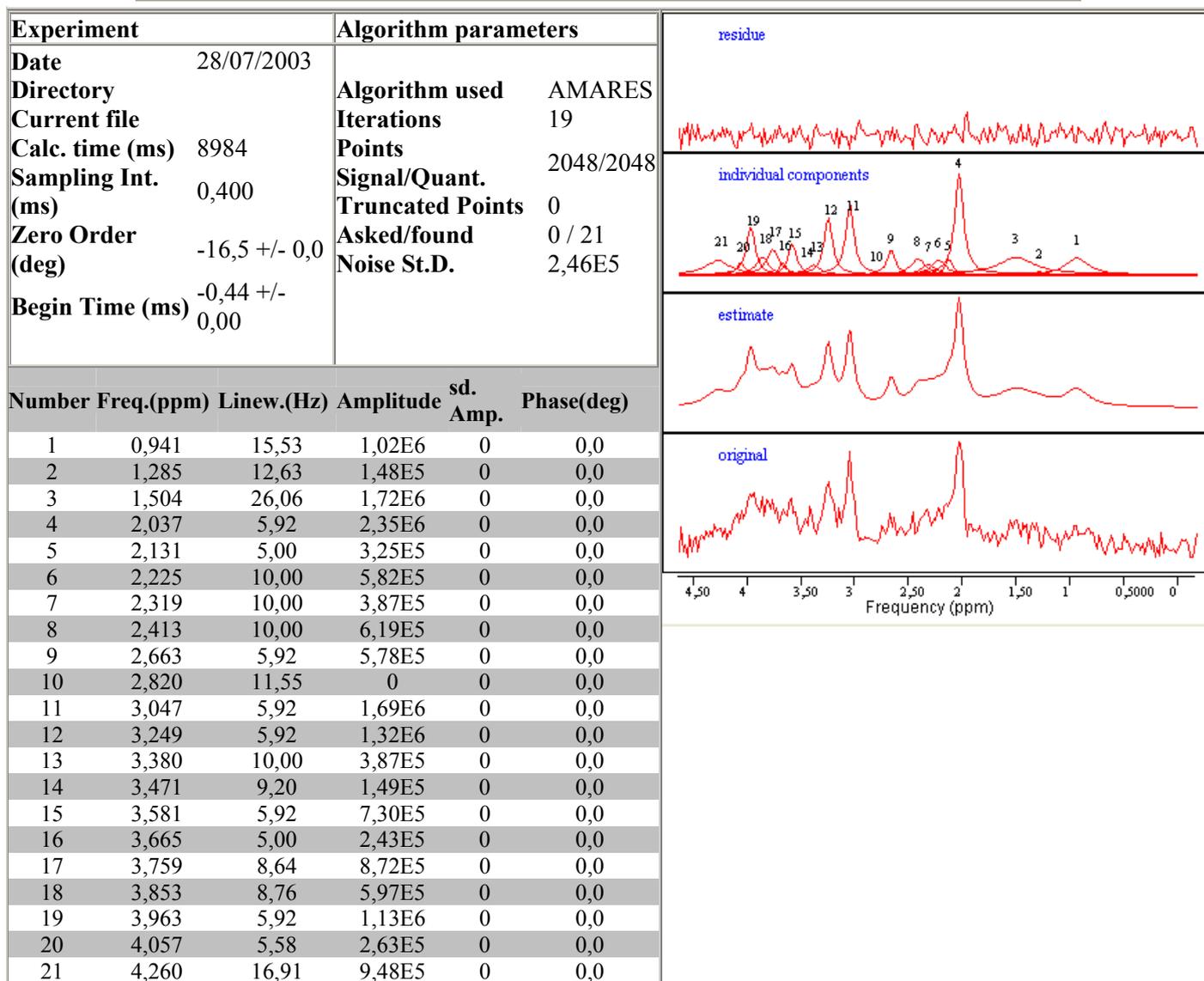
---

Assinatura do pesquisador  
(Carimbo ou Nome legível)

---

## ANEXO D – PADRÃO DE APRESENTAÇÃO DOS DADOS DO PROCESSAMENTO DAS ERM PELO PROGRAMA MRUI

### MRUI Quantitation Results



## ANEXO E - AVALIAÇÃO CLÍNICA DOS PACIENTES – ESCORE NEUROLÓGICO

Caso	Oligoc.	Hipert. plást.	Instab. post.	Diston.	Cor.	Atet.	Trem.	Dist. cerebel.	Disart.	Disfag.	Alter. marcha	Alter. psíqu.	Outras manif.	TOTAL
1 (D.M.)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
2 (F.A.S.B.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 (A.M.C.)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
4 (B.M.S.)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
5 (J.B.P.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 (J.D.B.P.)	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	1	0	4
7 (B.S.F.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
8 (J.O.J.)	2	2	0	1	0	0	0	0	1	1	0	2	0	9
9 (E.M.S.)	1	1	0	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	6
10 (R.O.A.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
11 (H.B.S.)	2	1	1	1	0	0	0	0	2	1	2	0	0	10
12 (S.B.S.)	1	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	4
13 (H.B.L.)	2	1	1	3	1	1	0	0	3	0	3	1	0	16
14 (L.P.S.)	1	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	2	0	7
15 (E.S.F.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 (A.L.O.S.)	2	1	2	2	0	0	1	0	3	1	2	0	0	14
17 (M.B.N.)	0	0	1	3	2	1	0	0	2	0	1	2	0	12
18 (E.S.A.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19 (F.S.B.)	2	2	1	0	0	0	2	2	2	1	1	1	0	14
20 (L.M.N.T.)	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	3
21 (S.O.F.)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
22 (A.P.S.)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
23 (I.F.C.N.)	2	1	3	3	0	0	0	0	3	2	3	0	0	17
24 (V.C.S.)	1	1	1	2	3	0	0	0	3	0	2	0	0	13
25 (D.M.O.)	2	1	1	1	0	0	1	0	3	2	1	0	0	12
26 (G.C.G.)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2
27 (J.C.P.)	2	1	1	1	0	0	0	0	2	0	2	3	0	12
28 (L.S.S.)	1	1	0	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	6
29 (E.G.S.)	1	1	1	0	0	0	2	1	3	3	2	1	0	15
30 (L.M.S.)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
31 (J.C.B.)	2	2	0	0	0	0	0	0	3	0	2	2	0	11
32 (W.F.P.)	1	2	2	2	0	0	0	0	3	0	2	1	0	13
33 (N.M.M.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
34 (V.C.P.)	1	2	2	0	0	0	1	0	2	2	2	1	1	14

Nota: Alter.= alterações; Atet.= atetose; cerebel.= cerebelares; Cor.= coréia; Disartr.= disartria; Disfag.= disfagia; Dist.= distúrbios; Diston.= distonia; Hipert.= hipertonia; Instab.= instabilidade; manif.= manifestações; Oligoc.= oligocinesia; plást.= plástica; post.= postural; psíqu.= psiquiátricas; Trem.= tremor

**ANEXO F – ESCORE DAS IRM E DADOS DAS ERM DOS  
PACIENTES NOS NÚCLEOS DA BASE**

Paciente	Escore IRM	LM (Hz)	NAA/Cr	Co/Cr	mI/Cr	Glx/Cr
1 - DM	5	7,03	1,30	0,90	0,51	2,42
2 - FASB	0	6,13	1,11	0,66	0,34	1,71
3 - AMC	6	7,49	1,02	0,80	0,56	1,73
4 - BMS	4	5,13	1,08	0,74	0,51	2,63
5 - JBP	0	4,04	1,15	0,66	0,40	1,95
6 - JDBP	7	7,17	1,02	0,85	0,39	2,30
7 - BSF	9	5,58	1,46	0,78	0,46	2,14
8 - JOJ	12	5,47	1,33	0,79	0,53	2,30
9 - SEM	7	6,46	1,13	0,82	0,38	2,12
10 - ROA	6	5,54	1,08	0,76	0,49	1,68
11 - HBS	10	5,44	1,24	0,87	0,53	2,04
12 - SBS	9	6,41	1,16	0,90	0,65	1,81
13 - HBL	9	5,41	1,39	0,82	0,46	2,45
14 - LPS	12	5,55	1,62	1,55	0,77	2,13
15 - ESF	7	7,33	1,17	0,82	0,44	2,16
16 - ALOS	10	7,81	0,84	0,93	0,50	2,09
17 - MBN	11	5,93	1,06	0,96	0,78	1,53
18 - ESA	2	5,70	1,23	0,70	0,43	2,34
19 - FSB	9	5,11	1,34	1,11	0,66	1,80
20 - LMNT	10	6,58	1,12	0,78	0,49	2,11
21 - SOF	4	5,90	1,46	0,84	0,38	2,39
22 - APS	4	6,93	1,00	0,83	0,51	2,25
23 - IFCN	11	7,46	1,06	1,01	0,21	2,12
24 - VCS	9	7,06	1,28	0,78	0,58	2,26
25 - DMO	11	8,55	1,02	0,89	0,57	1,91
26 - GCG	5	6,87	1,22	0,62	0,46	2,24
27 - JCP	7	9,12	1,49	1,36	0,64	2,48
28 - LSS	8	7,32	0,96	0,90	0,43	1,49
29 - EGS	13	7,56	1,23	0,89	0,32	2,04
30 - LMS	12	5,40	1,35	0,93	0,63	2,24
31 - JCB	9	5,91	1,07	0,88	0,41	2,02
32 - WFP	8	5,01	1,26	0,98	0,56	2,76
33 - NMM	2	5,41	1,26	0,80	0,37	2,27
34 - VCP	13	10,24	1,32	0,97	0,69	1,69

**ANEXO G – ESCORE DAS IRM E DADOS DAS ERM DOS  
PACIENTES NA SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL**

<b>Paciente</b>	<b>Escore IRM</b>	<b>LM (Hz)</b>	<b>NAA/Cr</b>	<b>Co/Cr</b>	<b>mI/Cr</b>	<b>Glx/Cr</b>
1 - DM	5	4,47	1,39	1,05	0,65	2,01
2 - FASB	0	5,40	1,44	1,01	0,68	2,21
3 - AMC	6	4,35	1,18	0,87	0,67	2,56
4 - BMS	4	4,49	1,43	0,99	0,55	2,43
5 - JBP	0	3,30	1,55	1,03	0,66	2,96
6 - JDBP	7	4,55	1,44	0,94	0,31	2,48
7 - BSF	9	5,10	1,36	1,11	0,35	2,11
8 - JOJ	12	4,70	1,38	0,81	0,35	2,56
9 - SEM	7	4,87	1,17	1,05	0,73	2,45
10 - ROA	6	4,30	1,27	0,73	0,49	2,07
11 - HBS	10	5,12	1,24	0,97	0,61	3,05
12 - SBS	9	3,72	1,29	0,99	0,53	2,42
13 - HBL	9	5,89	1,52	1,21	0,48	2,76
14 - LPS	12	6,77	1,02	1,29	0,82	1,59
15 - ESF	7	4,10	1,52	0,88	0,64	2,42
16 - ALOS	10	4,29	1,20	1,15	0,35	3,07
17 - MBN	11	4,57	1,20	0,91	0,70	2,47
18 - ESA	2	4,03	1,61	1,08	0,35	3,15
19 - FSB	9	5,90	1,26	1,00	0,36	3,23
20 - LMNT	10	6,16	1,17	1,22	0,66	2,46
21 - SOF	4	4,64	1,46	1,04	0,51	2,77
22 - APS	4	4,92	1,35	1,04	0,28	3,86
23 - IFCN	11	6,27	1,63	1,35	0,26	4,87
24 - VCS	9	5,86	1,43	0,89	0,46	2,20
25 - DMO	11	5,53	1,18	0,76	0,12	3,44
26 - GCG	5	5,60	1,31	1,09	0,23	2,74
27 - JCP	7	5,02	1,47	1,12	0,16	1,41
28 - LSS	8	5,75	1,13	1,01	0,31	3,10
29 - EGS	13	5,60	1,14	0,88	0,54	2,25
30 - LMS	12	4,63	1,39	1,08	0,63	2,78
31 - JCB	9	6,93	1,54	0,86	0,43	2,03
32 - WFP	8	6,34	1,42	1,08	0,49	2,47
33 - NMM	2	6,36	1,64	1,26	0,45	3,67
34 - VCP	13	5,82	1,48	0,96	0,54	2,50

**ANEXO H – ESCORE DAS IRM E DADOS DAS ERM DOS  
PACIENTES NA CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL**

<b>Paciente</b>	<b>Escore IRM</b>	<b>LM (Hz)</b>	<b>NAA/Cr</b>	<b>Co/Cr</b>	<b>mI/Cr</b>	<b>Glx/Cr</b>
1 - DM	5	3,58	1,45	0,44	0,55	1,64
2 - FASB	0	3,51	1,34	0,46	0,46	2,46
3 - AMC	6	3,47	1,44	0,47	0,58	2,25
4 - BMS	4	3,11	1,63	0,49	0,58	2,51
5 - JBP	0	2,63	1,64	0,57	0,57	3,61
6 - JDBP	7	3,37	1,45	0,55	0,39	3,11
7 - BSF	9	3,57	1,52	0,76	0,61	2,52
8 - JOJ	12	4,35	1,47	0,46	0,46	2,38
9 - SEM	7	3,16	1,55	0,43	0,34	2,63
10 - ROA	6	3,49	1,32	0,53	0,52	2,40
11 - HBS	10	3,49	1,24	0,58	0,56	2,84
12 - SBS	9	2,84	1,47	0,62	0,43	2,69
13 - HBL	9	4,27	1,44	0,48	0,55	2,19
14 - LPS	12	3,71	1,41	0,61	0,70	3,63
15 - ESF	7	3,57	1,63	0,60	0,34	2,51
16 - ALOS	10	6,64	1,26	0,72	0,50	2,59
17 - MBN	11	3,66	1,20	0,61	0,67	2,39
18 - ESA	2	3,68	1,43	0,64	0,32	2,84
19 - FSB	9	3,27	1,44	0,59	0,53	2,61
20 - LMNT	10	4,03	1,53	0,51	0,58	2,42
21 - SOF	4	3,94	1,52	0,65	0,56	2,98
22 - APS	4	3,62	1,43	0,43	0,20	2,87
23 - IFCN	11	5,84	1,38	0,44	0,41	1,88
24 - VCS	9	4,64	1,36	0,43	0,42	1,92
25 - DMO	11	5,33	1,32	0,43	0,10	2,65
26 - GCG	5	5,07	1,62	0,45	0,54	2,47
27 - JCP	7	5,36	1,46	0,62	0,71	2,48
28 - LSS	8	4,52	1,27	0,52	0,53	2,14
29 - EGS	13	5,23	1,42	0,59	0,62	2,34
30 - LMS	12	4,83	1,36	0,52	0,59	2,12
31 - JCB	9	3,52	1,57	0,48	0,54	2,57
32 - WFP	8	4,15	1,35	0,58	0,57	2,32
33 - NMM	2	4,21	1,53	0,56	0,49	2,36
34 - VCP	13	4,57	1,49	0,53	0,61	2,40

## ANEXO I - DADOS DAS ERM DOS CONTROLES NOS NÚCLEOS DA BASE

Controle	LM (Hz)	NAA/Cr	Co/Cr	mI/Cr	Glx/Cr
1 - CBL	5,41	1,27	0,97	0,52	2,71
2 - JTL	6,10	1,28	0,93	0,40	2,32
3 - HWL	7,63	1,23	0,84	0,26	2,02
4 - CCL	6,43	1,26	0,82	0,36	2,22
5 - RRS	5,71	1,36	0,89	0,41	2,40
6 - FNS	5,19	1,26	0,87	0,37	2,58
7 - TSS	5,59	1,14	0,84	0,43	2,33
8 - ASH	6,61	1,08	0,74	0,28	1,72
9 - TS	4,72	1,15	0,74	0,23	2,26
10 - LRC	5,58	1,42	0,91	0,36	2,12
11 - SC	4,95	1,40	0,74	0,35	2,10
12 - EAF	4,49	1,43	0,84	0,42	2,57
13 - JRV	5,72	1,37	0,92	0,39	2,31
14 - ACP	4,59	1,40	0,83	0,37	2,40
15 - MRTG	5,29	1,16	0,85	0,45	2,42
16 - MJO	6,14	1,33	0,62	0,22	1,64
17 - LTL	5,92	1,39	0,78	0,43	2,14
18 - CLC	4,77	1,55	0,81	0,32	2,24
19 - HSA	5,44	1,44	0,90	0,44	2,21
20 - JBS	5,11	1,26	0,77	0,33	1,79
21 - CCN	4,72	1,38	0,53	0,49	1,80
22 - TDS	4,34	1,51	0,85	0,33	2,29
23 - EBS	4,30	1,27	0,90	0,41	2,46
24 - TGS	4,90	1,27	0,71	0,41	2,07
25 - RON	5,25	1,36	0,80	0,38	1,99
26 - FCL	4,05	1,55	0,81	0,40	2,47
27 - MJHI	5,31	1,41	1,02	0,33	2,51
28 - JPM	4,33	1,25	0,64	0,32	2,07
29 - FRS	5,00	1,45	0,78	0,39	1,90
30 - SFV	5,72	1,21	0,76	0,36	1,92
31 - WSS	4,97	1,27	0,84	0,42	2,37
32 - ESJ	5,21	1,49	0,89	0,37	1,83
33 - ESS	4,47	1,27	0,77	0,40	2,26
34 - DSG	4,92	1,22	0,66	0,40	2,08
35 - STS	4,92	1,18	0,73	0,33	2,12
36 - ZCS	5,47	1,37	0,73	0,31	1,97
37 - SAA	5,84	1,24	0,74	0,40	1,91

**ANEXO J - DADOS DAS ERM DOS CONTROLES NA  
SUBSTÂNCIA BRANCA FRONTAL**

<b>Controle</b>	<b>LM (Hz)</b>	<b>NAA/Cr</b>	<b>Co/Cr</b>	<b>ml/Cr</b>	<b>Glx/Cr</b>
1 - CBL	5,04	1,22	1,30	0,89	2,20
2 - JTL	5,24	1,43	1,50	0,58	5,57
3 - HWL	6,11	1,23	1,06	0,50	2,80
4 - CCL	5,64	1,57	1,29	0,67	2,45
5 - RRS	5,25	1,48	1,07	0,47	2,67
6 - FNS	4,46	1,67	1,32	0,15	2,46
7 - TSS	4,62	1,55	1,02	0,46	3,33
8 - ASH	5,32	1,20	0,99	0,24	2,37
9 - TS	4,25	1,39	0,93	0,44	2,52
10 - LRC	5,19	1,62	1,15	0,58	2,63
11 - SC	5,13	1,49	1,03	0,44	2,83
12 - EAF	5,24	1,76	1,23	0,58	2,75
13 - JRV	4,99	1,47	0,91	0,54	2,39
14 - ACP	4,37	1,35	0,69	0,47	2,23
15 - MRTG	5,54	1,27	1,05	0,52	2,33
16 - MJO	5,4	1,46	1,10	0,33	2,46
17 - LTL	4,56	1,74	0,93	0,54	2,34
18 - CLC	5,33	1,74	0,79	0,45	2,15
19 - HSA	5,93	1,31	0,92	0,49	2,34
20 - JBS	4,74	1,56	1,18	0,35	2,65
21 - CCN	6,72	1,78	1,52	0,32	1,46
22 - TDS	5,37	1,49	1,13	0,28	3,06
23 - EBS	6,42	1,44	1,17	0,35	2,65
24 - TGS	4,61	1,34	1,09	0,53	2,80
25 - RON	5,25	1,37	1,17	0,42	2,19
26 - FCL	4,25	1,60	1,10	0,54	2,67
27 - MJHI	6,36	1,60	1,37	0,15	2,77
28 - JPM	4,5	1,50	1,04	0,49	3,09
29 - FRS	5,13	1,60	0,98	0,48	2,45
30 - SFV	5,58	1,52	1,25	0,79	2,35
31 - WSS	5,4	1,52	1,20	0,51	2,36
32 - ESJ	4,94	1,55	1,18	0,47	1,89
33 - ESS	6,13	1,62	1,01	0,63	1,99
34 - DSG	6,06	1,71	1,08	0,53	2,33
35 - STS	4,98	1,40	0,96	0,43	2,71
36 - ZCS	5,35	1,56	0,83	0,63	2,37
37 - SAA	4,89	1,42	0,94	0,38	2,12

**ANEXO K - DADOS DAS ERM DOS CONTROLES NA  
CORTICAL PARIETO-OCCIPITAL**

<b>Controle</b>	<b>LM (Hz)</b>	<b>NAA/Cr</b>	<b>Co/Cr</b>	<b>mI/Cr</b>	<b>Glx/Cr</b>
1 - CBL	3,68	1,82	0,53	0,39	2,68
2 - JTL	4,6	1,63	0,55	0,48	2,31
3 - HWL	4,6	1,76	0,74	0,47	2,72
4 - CCL	4,53	1,65	0,58	0,58	2,44
5 - RRS	4,31	1,58	0,62	0,59	2,28
6 - FNS	5,61	1,74	0,88	0,27	2,69
7 - TSS	3,85	1,58	0,53	0,51	2,23
8 - ASH	5,74	1,47	0,62	0,57	1,90
9 - TS	3,81	1,45	0,53	0,51	2,46
10 - LRC	3,58	1,67	0,70	0,57	2,68
11 - SC	4,19	1,61	0,58	0,40	2,30
12 - EAF	4,06	1,54	0,45	0,48	2,56
13 - JRV	4,56	1,44	0,54	0,58	2,67
14 - ACP	3,26	1,33	0,48	0,47	2,62
15 - MRTG	3,58	1,60	0,62	0,49	2,50
16 - MJO	4,07	1,41	0,60	0,53	2,69
17 - LTL	4,73	1,50	0,60	0,55	2,19
18 - CLC	3,71	1,66	0,50	0,58	2,49
19 - HSA	5,11	1,60	0,56	0,45	2,08
20 - JBS	4,25	1,46	0,51	0,56	2,27
21 - CCN	7,83	1,92	1,37	0,41	2,11
22 - TDS	3,16	1,56	0,51	0,50	2,81
23 - EBS	3,75	1,49	0,59	0,58	2,70
24 - TGS	3,6	1,53	0,59	0,52	2,84
25 - RON	3,19	1,58	0,59	0,56	3,10
26 - FCL	3,64	1,60	0,52	0,49	2,79
27 - MJHI	3,96	1,42	0,49	0,42	2,30
28 - JPM	4,28	1,34	0,54	0,54	2,32
29 - FRS	3,64	1,48	0,51	0,57	2,65
30 - SFV	4,18	1,35	0,60	0,47	2,71
31 - WSS	3,44	1,68	0,58	0,52	2,77
32 - ESJ	3,75	1,49	0,56	0,43	2,53
33 - ESS	3,24	1,48	0,49	0,47	2,72
34 - DSG	3,64	1,69	0,55	0,49	2,22
35 - STS	3,39	1,54	0,53	0,45	2,73
36 - ZCS	4,1	1,69	0,54	0,53	2,67
37 - SAA	3,91	1,53	0,59	0,48	2,59

## *9 - Referências bibliográficas*

---

- 
- AISEN, A.M.; MARTEL, W.; GABRIELSEN, T.O.; GLAZER, G.M.; BREWER, G.; YOUNG, A.B.; HILL, G. Wilson disease of the brain: MR imaging. **Radiology**, v.157, p.137-41, 1985.
- AKHAN, O.; AKPINAR, E.; OTO, A.; KOROGLU, M.; OZMEN, M.N.; AKATA, D.; BIJAN, B. Unusual imaging findings in Wilson's disease. **Eur. Radiol.**, v.12 Suppl 3, p.S66-9, 2002.
- ALANEN, A.; KOMU, M.; PENTTINEN, M.; LEINO, R. Magnetic resonance imaging and proton MR spectroscopy in Wilson's disease. **Br. J. Radiol.**, v.72, p.749-56, 1999.
- ALT, E.R.; STERNLIEB, I.; GOLDFISCHER, S. The cytopathology of metal overload. **Int. Rev. Exp. Pathol.**, v.31, p.165-88, 1990.
- AOKI, S.; OKADA, Y.; NISHIMURA, K.; BARKOVICH, A.J.; KJOS, B.O.; BRASCH, R.C.; NORMAN, D. Normal deposition of brain iron in childhood and adolescence: MR imaging at 1.5 T. **Radiology**, v.172, p.381-5, 1989.
- BARBOSA, E.R. **Degeneração Hepatolenticular: Aspectos Terapêuticos em 76 casos**. São Paulo, 1990. 165p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- BARBOSA, E.R. **O Zinco no Tratamento da Doença de Wilson: Estudo de 20 casos**. São Paulo, 2000. 95p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
-

- 
- BARBOSA, E.R.; BURDMANN EDE, A.; CANÇADO, E.R.; HADDAD, M.S.; SCAFF, M.; CANELAS, H.M. O zinco no tratamento da degeneração hepatolenticular: relato de 3 casos. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v.50, p.99-103, 1992.
- BARBOSA, E.R.; CARAMELLI, P.; BACHESCHI, L.A.; HADDAD, M.S.; MAGALHÃES, A.C.; MENEZES, J.R.; SCAFF, M.; CANELAS, H.M. Wilson's disease: magnetic resonance imaging (MRI) with clinical correlations in 16 cases. **Rev. Paul. Med.**, v.111, p.407-11, 1993.
- BARBOSA, E.R.; SCAFF, M.; COMERLATTI, L.R.; CANELAS, H.M. Degeneração hepatolenticular: aspectos diagnósticos em 95 casos. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v.43, p.234-42, 1985.
- BREWER, G.J.; DICK, R.D.; YUZBASIYAN-GURKAN, V.; JOHNSON, V.; WANG, Y. Treatment of Wilson's disease with zinc. XIII: Therapy with zinc in presymptomatic patients from the time of diagnosis. **J. Lab. Clin. Med.**, v.123, p.849-58, 1994.
- BREWER, G.J.; FINK, J.K.; HEDERA, P. Diagnosis and treatment of Wilson's disease. **Semin. Neurol.**, v.19, p.261-70, 1999.
- BREWER, G.J.; HEDERA, P.; KLUIN, K.J.; CARLSON, M.; ASKARI, F.; DICK, R.B.; SITTERLY, J.; FINK, J.K. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate: III. Initial therapy in a total of 55 neurologically affected patients and follow-up with zinc therapy. **Arch. Neurol.**, v.60, p.379-85, 2003.
- BREWER, G.J.; YUZBASIYAN-GURKAN, V. Wilson disease. **Medicine (Baltimore)**, v.71, p.139-64, 1992.
- BRUGIERES, P.; COMBES, C.; RICOLFI, F.; DEGOS, J.D.; POIRIER, J.; GASTON, A. Atypical MR presentation of Wilson disease: a possible consequence of paramagnetic effect of copper? **Neuroradiology**, v.34, p.222-4, 1992.
-

---

BUSSAB, W.O.; MORETTIN, P.A. **Estatística Básica**. 4. ed. São Paulo, Atual Editora, 1987. 321p.

CANÇADO, E.L.; BARBOSA, E.R.; DIAS, M.A. Doença de Wilson. In: GAYOTTO, L. C. C.; ALVES, V. A. F., ed. **Doenças do fígado e das vias biliares**. São Paulo, Editora Atheneu, 2001. p.377-91.

CANELAS, H.M. Degeneração hepatolenticular. A propósito de 102 casos. **Arq. Neuropsiquiatr.**, v.45, p.197-212, 1987.

CASTILLO, M.; KWOCK, L. Proton MR spectroscopy of common brain tumors. **Neuroimaging Clin. N. Am.**, v.8, p.733-52, 1998.

CASTILLO, M.; KWOCK, L.; MUKHERJI, S.K. Clinical applications of proton MR spectroscopy. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.17, p.1-15, 1996.

CASTILLO, M.; KWOCK, L.; SCATLIFF, J.; MUKHERJI, S.K. Proton MR spectroscopy in neoplastic and non-neoplastic brain disorders. **Magn. Reson. Imaging Clin. N. Am.**, v.6, p.1-20, 1998.

CASTILLO, M.; SMITH, J.K.; KWOCK, L. Correlation of myo-inositol levels and grading of cerebral astrocytomas. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.21, p.1645-9, 2000.

CHANCE, B.; ELEFF, S.; LEIGH, J.S., JR.; SOKOLOW, D.; SAPEGA, A. Mitochondrial regulation of phosphocreatine/inorganic phosphate ratios in exercising human muscle: a gated <sup>31</sup>P NMR study. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.78, p.6714-8, 1981.

CHELLY, J.; TUMER, Z.; TONNESEN, T.; PETERSON, A.; ISHIKAWA-BRUSH, Y.; TOMMERUP, N.; HORN, N.; MONACO, A.P. Isolation of a candidate gene for Menkes disease that encodes a potential heavy metal binding protein. **Nat. Genet.**, v.3, p.14-9, 1993.

---

- 
- CHOI, C.G.; KO, T.S.; LEE, H.K.; LEE, J.H.; SUH, D.C. Localized proton MR spectroscopy of the allocortex and isocortex in healthy children. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.21, p.1354-8, 2000.
- CHRISTIANSEN, P.; TOFT, P.; LARSSON, H.B.; STUBGAARD, M.; HENRIKSEN, O. The concentration of N-acetyl aspartate, creatine + phosphocreatine, and choline in different parts of the brain in adulthood and senium. **Magn. Reson. Imaging**, v.11, p.799-806, 1993.
- CONOVER, W.J. **Practical nonparametric statistics**. 2. ed. New York, Wiley, 1980. 493p.
- COSTA, M.D.L. **Aspectos evolutivos de neuroimagem em pacientes com doença de Wilson**. São Paulo, 2002. 149p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo.
- CUMINGS, J.N. The copper and iron content of brain and liver in the normal and in hepatolenticular degeneration. **Brain**, v.71, p.410-5, 1948.
- CUMINGS, J.N. The effect of BAL in hepatolenticular degeneration. **Brain**, v.74, p.10-22, 1951.
- CUMINGS, J.N. Trace metals in the brain and in Wilson's disease. **J. Clin. Pathol.**, v.21, p.1-7, 1968.
- DANIELSEN, E.R.; ROSS, B. **Magnetic resonance spectroscopy diagnosis of neurological diseases**. New York, Marcel Dekker, 1999. 327p.
- DE GRAAF, R.A. **In vivo NMR spectroscopy : principles and techniques**. New York, Wiley, 1998. 508p.
-

- 
- DE STEFANO, N.; MATTHEWS, P.M.; ANTEL, J.P.; PREUL, M.; FRANCIS, G.; ARNOLD, D.L. Chemical pathology of acute demyelinating lesions and its correlation with disability. **Ann. Neurol.**, v.38, p.901-9, 1995.
- DENNY BROWN, D.; PORTER, H. The effect of BAL (2,3 dimercaptopropanol) on hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). **N. Engl. J. Med.**, v.245, p.917-25, 1951.
- DRAYER, B.P. Basal ganglia: significance of signal hypointensity on T2-weighted MR images. **Radiology**, v.173, p.311-2, 1989.
- ENGELBRECHT, V.; SCHLAUG, G.; HEFTER, H.; KAHN, T.; MODDER, U. MRI of the brain in Wilson disease: T2 signal loss under therapy. **J. Comput. Assist. Tomogr.**, v.19, p.635-8, 1995.
- FERENCI, P.; GILLIAM, T.C.; GITLIN, J.D.; PACKMAN, S.; SCHILSKY, M.L.; SOKOL, R.J.; STERNLIEB, I. An international symposium on Wilson's and Menkes' diseases. **Hepatology**, v.24, p.952-8, 1996.
- FLEISCHER, B. Zwei weitere Falle von grunlicher. Verfärbung der Kornea. **Klin. Monatsbl. Augenheil.**, v.41, p.489-91, 1903.
- FRAHM, J.; BRUHN, H.; GYNGELL, M.L.; MERBOLDT, K.D.; HANICKE, W.; SAUTER, R. Localized proton NMR spectroscopy in different regions of the human brain in vivo. Relaxation times and concentrations of cerebral metabolites. **Magn. Reson. Med.**, v.11, p.47-63, 1989.
- FRYDMAN, M.; BONNE-TAMIR, B.; FARRER, L.A.; CONNEALLY, P.M.; MAGAZANIK, A.; ASHBEL, S.; GOLDWITCH, Z. Assignment of the gene for Wilson disease to chromosome 13: linkage to the esterase D locus. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.82, p.1819-21, 1985.
-

- 
- FU, L.; MATTHEWS, P.M.; DE STEFANO, N.; WORSLEY, K.J.; NARAYANAN, S.; FRANCIS, G.S.; ANTEL, J.P.; WOLFSON, C.; ARNOLD, D.L. Imaging axonal damage of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. **Brain**, v.121, p.103-13, 1998.
- GADIAN, D.G.; PROCTOR, E.; WILLIAMS, S.R. Some recent applications of <sup>1</sup>H NMR spectroscopy in vivo. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v.508, p.241-50, 1987.
- GLAZEBROOK, A.J. Wilson's disease. **Edinb. Med. J.**, v.52, p.83-7, 1945.
- GREENFIELD, J.G.; ADAMS, J.H.; DUCHEN, L.W. **Greenfield's Neuropathology**. 5. ed. New York, Oxford University Press, 1992. 1557p.
- GRODD, W.; KRAGELOH-MANN, I.; KLOSE, U.; SAUTER, R. Metabolic and destructive brain disorders in children: findings with localized proton MR spectroscopy. **Radiology**, v.181, p.173-81, 1991.
- HARRIS, Z.L.; TAKAHASHI, Y.; MIYAJIMA, H.; SERIZAWA, M.; MACGILLIVRAY, R.T.; GITLIN, J.D. Aceruloplasminemia: molecular characterization of this disorder of iron metabolism. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v.92, p.2539-43, 1995.
- HAUSSINGER, D.; LAUBENBERGER, J.; VOM DAHL, S.; ERNST, T.; BAYER, S.; LANGER, M.; GEROK, W.; HENNIG, J. Proton magnetic resonance spectroscopy studies on human brain myo-inositol in hypo-osmolarity and hepatic encephalopathy. **Gastroenterology**, v.107, p.1475-80, 1994.
- HEDERA, P.; BREWER, G.J.; FINK, J.K. White matter changes in Wilson disease. **Arch. Neurol.**, v.59, p.866-7, 2002.
- HITOSHI, S.; IWATA, M.; YOSHIKAWA, K. Mid-brain pathology of Wilson's disease: MRI analysis of three cases. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.54, p.624-6, 1991.
-

- 
- HOLMBERG, C.G.; LAURELL, C.B. Investigations in serum copper. III. Caeruloplasmin as an enzyme. **Acta Chemica Scandinavica**, v.5, p.921-30, 1951.
- HOOGENRAAD, T.U.; VAN HATTUM, J.; VAN DEN HAMER, C.J. Management of Wilson's disease with zinc sulphate. Experience in a series of 27 patients. **J. Neurol. Sci.**, v.77, p.137-46, 1987.
- HUNG, I.H.; SUZUKI, M.; YAMAGUCHI, Y.; YUAN, D.S.; KLAUSNER, R.D.; GITLIN, J.D. Biochemical characterization of the Wilson disease protein and functional expression in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **J. Biol. Chem.**, v.272, p.21461-6, 1997.
- IMIYA, M.; ICHIKAWA, K.; MATSUSHIMA, H.; KAGEYAMA, Y.; FUJIOKA, A. MR of the base of the pons in Wilson disease. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.13, p.1009-12, 1992.
- INOUE, E.; HORI, S.; NARUMI, Y.; FUJITA, M.; KURIYAMA, K.; KADOTA, T.; KURODA, C. Portal-systemic encephalopathy: presence of basal ganglia lesions with high signal intensity on MR images. **Radiology**, v.179, p.551-5, 1991.
- JAYASUNDAR, R.; SAHANI, A.K.; GAIKWAD, S.; SINGH, S.; BEHARI, M. Proton MR spectroscopy of basal ganglia in Wilson's disease: case report and review of literature. **Magn. Reson. Imaging**, v.20, p.131-5, 2002.
- JESS, A. Hornhautverkupferung in Form des Fleischerschen Pigmentringes bei der Pseudoesclerose. **Klin. Monatsbl. Augenheil.**, v.69, p.218, 1922.
- KAWANAMI, T.; KATO, T.; DAIMON, M.; TOMINAGA, M.; SASAKI, H.; MAEDA, K.; ARAI, S.; SHIKAMA, Y.; KATAGIRI, T. Hereditary caeruloplasmin deficiency: clinicopathological study of a patient. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.61, p.506-9, 1996.
-

---

KAYSER, B. Ueber ein Fall von angeborenen grunlicher. Verfärbung der Cornea.

**Klin. Monatsbl. Augenheil.**, v.40, p.22-5, 1902.

KING, A.D.; WALSH, J.M.; KENDALL, B.E.; CHINN, R.J.; PALEY, M.N.;

WILKINSON, I.D.; HALLIGAN, S.; HALL-CRAGGS, M.A. Cranial MR

imaging in Wilson's disease. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v.167, p.1579-84, 1996.

KRAFT, E.; TRENKWALDER, C.; THEN BERGH, F.; AUER, D.P. Magnetic

resonance proton spectroscopy of the brain in Wilson's disease. **J. Neurol.**,

v.246, p.693-9, 1999.

KREIS, R.; FARROW, N.; ROSS, B.D. Diagnosis of hepatic encephalopathy by

proton magnetic resonance spectroscopy. **Lancet**, v.336, p.635-6, 1990.

KREIS, R.; ROSS, B.D.; FARROW, N.A.; ACKERMAN, Z. Metabolic disorders of

the brain in chronic hepatic encephalopathy detected with H-1 MR spectroscopy.

**Radiology**, v.182, p.19-27, 1992.

KULISEVSKY, J.; PUJOL, J.; BALANZO, J.; JUNQUE, C.; DEUS, J.;

CAPDEVILLA, A.; VILLANUEVA, C. Pallidal hyperintensity on magnetic

resonance imaging in cirrhotic patients: clinical correlations. **Hepatology**, v.16,

p.1382-8, 1992.

KURUVILLA, A.; JOSEPH, S. 'Face of the giant panda' sign in Wilson's disease:

revisited. **Neurol. India**, v.48, p.395-6, 2000.

KWOCK, L. Clinical proton magnetic resonance spectroscopy: basic principles. In:

MUKHERJI, S. K., ed. **Clinical applications of Magnetic Resonance**

**Spectroscopy**. New York, Wiley-Liss, 1996. p.1-431.

KWOCK, L. Localized MR spectroscopy: basic principles. **Neuroimaging Clin. N.**

**Am.**, v.8, p.713-31, 1998.

---

- 
- LAM, W.W.; WANG, Z.J.; ZHAO, H.; BERRY, G.T.; KAPLAN, P.; GIBSON, J.; KAPLAN, B.S.; BILANIUK, L.T.; HUNTER, J.V.; HASELGROVE, J.C.; ZIMMERMANN, R.A. 1H MR spectroscopy of the basal ganglia in childhood: a semiquantitative analysis. **Neuroradiology**, v.40, p.315-23, 1998.
- LAWLER, G.A.; PENNOCK, J.M.; STEINER, R.E.; JENKINS, W.J.; SHERLOCK, S.; YOUNG, I.R. Nuclear magnetic resonance (NMR) imaging in Wilson disease. **J. Comput. Assist. Tomogr.**, v.7, p.1-8, 1983.
- LEWIS, K.O. The nature of the copper complexes in bile and their relationship to the absorption and excretion of copper in normal subjects and in Wilson's disease. **Gut**, v.14, p.221-32, 1973.
- LIEBESKIND, D.S.; WONG, S.; HAMILTON, R.H. Faces of the giant panda and her cub: MRI correlates of Wilson's disease. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.74, p.682, 2003.
- LOGAN, J.I.; HARVEYSON, K.B.; WISDOM, G.B.; HUGHES, A.E.; ARCHBOLD, G.P. Hereditary caeruloplasmin deficiency, dementia and diabetes mellitus. **QJM**, v.87, p.663-70, 1994.
- MAGALHÃES, A.C.; CARAMELLI, P.; MENEZES, J.R.; LO, L.S.; BACHESCHI, L.A.; BARBOSA, E.R.; ROSEMBERG, L.A.; MAGALHÃES, A. Wilson's disease: MRI with clinical correlation. **Neuroradiology**, v.36, p.97-100, 1994.
- MARSHALL, V.G.; BRADLEY, W.G., JR.; MARSHALL, C.E.; BHOOPAT, T.; RHODES, R.H. Deep white matter infarction: correlation of MR imaging and histopathologic findings. **Radiology**, v.167, p.517-22, 1988.
- MATSUURA, T.; SASAKI, H.; TASHIRO, K. Atypical MR findings in Wilson's disease: pronounced lesions in the dentate nucleus causing tremor. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.64, p.161, 1998.
-

- 
- MCCULLOUGH, A.J.; FLEMING, C.R.; THISTLE, J.L.; BALDUS, W.P.;  
LUDWIG, J.; MCCALL, J.T.; DICKSON, E.R. Diagnosis of Wilson's disease  
presenting as fulminant hepatic failure. **Gastroenterology**, v.84, p.161-7, 1983.
- MEDALIA, A.; GALYNKER, I.; SCHEINBERG, I.H. The interaction of motor,  
memory, and emotional dysfunction in Wilson's disease. **Biol. Psychiatry**, v.31,  
p.823-6, 1992.
- MERCER, J.F.; LIVINGSTON, J.; HALL, B.; PAYNTER, J.A.; BEGY, C.;  
CHANDRASEKHARAPPA, S.; LOCKHART, P.; GRIMES, A.; BHAVE, M.;  
SIEMIENIAK, D. Isolation of a partial candidate gene for Menkes disease by  
positional cloning. **Nat. Genet.**, v.3, p.20-5, 1993.
- MIERISOVÁ, S.; VAN DEN BOOGAART, A.; TKAC, I.; VAN HECKE, P.;  
VANHAMME, L.; LIPTAJ, T. New approach for quantitation of short echo time  
in vivo <sup>1</sup>H MR spectra of brain using AMARES. **NMR Biomed.**, v.11, p.32-9,  
1998.
- MILLIKEN, G.A.; JOHNSON, D.E. **Analysis of messy data. Volume I: Designed  
Experiments**. Belmont, Lifetime Learning Publications, 1992. 473p.
- MILTON, W.J.; ATLAS, S.W.; LEXA, F.J.; MOZLEY, P.D.; GUR, R.E. Deep gray  
matter hypointensity patterns with aging in healthy adults: MR imaging at 1.5 T.  
**Radiology**, v.181, p.715-9, 1991.
- MOCHIZUKI, H.; KAMAKURA, K.; MASAKI, T.; OKANO, M.; NAGATA, N.;  
INUI, A.; FUJISAWA, T.; KAJI, T. Atypical MRI features of Wilson's disease:  
high signal in globus pallidus on T1-weighted images. **Neuroradiology**, v.39,  
p.171-4, 1997.
- NAZER, H.; BRISMAR, J.; AL-KAWI, M.Z.; GUNASEKARAN, T.S.; JORULF,  
K.H. Magnetic resonance imaging of the brain in Wilson's disease.  
**Neuroradiology**, v.35, p.130-3, 1993.
-

---

NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M.H. **Applied linear regression models**. 2. ed. Homewood, Irwin, 1989. 667p.

NETER, J.; WASSERMAN, W.; KUTNER, M.H. **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance, and experimental designs**. 3. ed. Homewood, Irwin, 1990. 1181p.

ODER, W.; PRAYER, L.; GRIMM, G.; SPATT, J.; FERENCI, P.; KOLLEGGER, H.; SCHNEIDER, B.; GANGL, A.; DEECKE, L. Wilson's disease: evidence of subgroups derived from clinical findings and brain lesions. **Neurology**, v.43, p.120-4, 1993.

PETRUKHIN, K.; FISCHER, S.G.; PIRASTU, M.; TANZI, R.E.; CHERNOV, I.; DEVOTO, M.; BRZUSTOWICZ, L.M.; CAYANIS, E.; VITALE, E.; RUSSO, J.J. Mapping, cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. **Nat. Genet.**, v.5, p.338-43, 1993.

POUWELS, P.J.; FRAHM, J. Regional metabolite concentrations in human brain as determined by quantitative localized proton MRS. **Magn. Reson. Med.**, v.39, p.53-60, 1998.

PRAYER, L.; WIMBERGER, D.; KRAMER, J.; GRIMM, G.; ODER, W.; IMHOF, H. Cranial MRI in Wilson's disease. **Neuroradiology**, v.32, p.211-4, 1990.

REILLY, M.; DALY, L.; HUTCHINSON, M. An epidemiological study of Wilson's disease in the Republic of Ireland. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.56, p.298-300, 1993.

RICCI, P.E.; PITT, A.; KELLER, P.J.; COONS, S.W.; HEISERMAN, J.E. Effect of voxel position on single-voxel MR spectroscopy findings. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.21, p.367-74, 2000.

---

- 
- ROH, J.K.; LEE, T.G.; WIE, B.A.; LEE, S.B.; PARK, S.H.; CHANG, K.H. Initial and follow-up brain MRI findings and correlation with the clinical course in Wilson's disease. **Neurology**, v.44, p.1064-8, 1994.
- ROSS, B.; BLUML, S. Magnetic resonance spectroscopy of the human brain. **Anat. Rec.**, v.265, p.54-84, 2001.
- ROSS, B.D.; JACOBSON, S.; VILLAMIL, F.; KORULA, J.; KREIS, R.; ERNST, T.; SHONK, T.; MOATS, R.A. Subclinical hepatic encephalopathy: proton MR spectroscopic abnormalities. **Radiology**, v.193, p.457-63, 1994.
- ROSS, B.D.; RADDA, G.K.; GADIAN, D.G.; ROCKER, G.; ESIRI, M.; FALCONER-SMITH, J. Examination of a case of suspected McArdle's syndrome by 31P nuclear magnetic resonance. **N. Engl. J. Med.**, v.304, p.1338-42, 1981.
- ROVIRA, A.; GRIVE, E.; PEDRAZA, S.; ALONSO, J. Magnetization transfer ratio values and proton MR spectroscopy of normal-appearing cerebral white matter in patients with liver cirrhosis. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.22, p.1137-42, 2001.
- RUDKIN, T.M.; ARNOLD, D.L. MR spectroscopy and the biochemical basis of neurological disease. In: ATLAS, S. W., ed. **Magnetic resonance imaging of the brain and spine**. 3. ed. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, 2002. p.2021-40.
- SAATCI, I.; TOPCU, M.; BALTAOGLU, F.F.; KOSE, G.; YALAZ, K.; RENDA, Y.; BESIM, A. Cranial MR findings in Wilson's disease. **Acta Radiol.**, v.38, p.250-8, 1997.
- SARKAR, B. Copper transport and its defect in Wilson disease: characterization of the copper-binding domain of Wilson disease ATPase. **J. Inorg. Biochem.**, v.79, p.187-91, 2000.
-

- 
- SCHEINBERG, I.H.; GITLIN, D. Deficiency of ceruloplasmin in patients with Hepatolenticular Degeneration. **Science**, v.116, p.484-5, 1952.
- SCHEINBERG, I.H.; STERNLIEB, I. **Wilson's disease**. Philadelphia, Saunders, 1984. 171p.
- SCHILSKY, M.L.; TAVILL, A.S. Wilson's Disease. In: SORRELL, M. F.; MADDREY, W. C.; SCHIFF, L., ed. **Schiff's diseases of the liver**. 8. ed. Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1999. p.1091-106.
- SENER, R.N. The claustrum on MRI: normal anatomy, and the bright claustrum as a new sign in Wilson's disease. **Pediatr. Radiol.**, v.23, p.594-6, 1993.
- SENER, R.N. Wilson's disease: contrast enhancement of cerebral lesions on MR images after penicillamine therapy. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v.163, p.228-9, 1994.
- SHAH, A.B.; CHERNOV, I.; ZHANG, H.T.; ROSS, B.M.; DAS, K.; LUTSENKO, S.; PARANO, E.; PAVONE, L.; EVGRAFOV, O.; IVANOVA-SMOLENSKAYA, I.A.; ANNEREN, G.; WESTERMARK, K.; URRUTIA, F.H.; PENCHASZADEH, G.K.; STERNLIEB, I.; SCHEINBERG, I.H.; GILLIAM, T.C.; PETRUKHIN, K. Identification and analysis of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B): population frequencies, genotype-phenotype correlation, and functional analyses. **Am. J. Hum. Genet.**, v.61, p.317-28, 1997.
- SINGCHAROEN, T.; CHAKKAPPAK, K.; UDOMPANICH, O. Unusual magnetic resonance findings in Wilson's disease. **Br. J. Radiol.**, v.64, p.752-4, 1991.
- SLOTBOOM, J.; BOESCH, C.; KREIS, R. Versatile frequency domain fitting using time domain models and prior knowledge. **Magn. Reson. Med.**, v.39, p.899-911, 1998.
-

- 
- STAROSTA-RUBINSTEIN, S.; YOUNG, A.B.; KLUIN, K.; HILL, G.; AISEN, A.M.; GABRIELSEN, T.; BREWER, G.J. Clinical assessment of 31 patients with Wilson's disease. Correlations with structural changes on magnetic resonance imaging. **Arch. Neurol.**, v.44, p.365-70, 1987.
- STERNLIEB, I.; SCHEINBERG, I.H. Prevention of Wilson's disease in asymptomatic patients. **N. Engl. J. Med.**, v.278, p.352-9, 1968.
- SZE, G.; DE ARMOND, S.J.; BRANT-ZAWADZKI, M.; DAVIS, R.L.; NORMAN, D.; NEWTON, T.H. Foci of MRI signal (pseudo lesions) anterior to the frontal horns: histologic correlations of a normal finding. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v.147, p.331-7, 1986.
- TAGAWA, A.; ONO, S.; SHIBATA, M.; IMAI, T.; SUZUKI, M.; SHIMIZU, N. A new neurological entity manifesting as involuntary movements and dysarthria with possible abnormal copper metabolism. **J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry**, v.71, p.780-3, 2001.
- TAKAHASHI, W.; YOSHII, F.; SHINOHARA, Y. Reversible magnetic resonance imaging lesions in Wilson's disease: clinical-anatomical correlation. **J. Neuroimaging**, v.6, p.246-8, 1996.
- TANZI, R.E.; PETRUKHIN, K.; CHERNOV, I.; PELLEQUER, J.L.; WASCO, W.; ROSS, B.; ROMANO, D.M.; PARANO, E.; PAVONE, L.; BRZUSTOWICZ, L.M. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. **Nat. Genet.**, v.5, p.344-50, 1993.
- TEDESCHI, G.; BERTOLINO, A.; RIGHINI, A.; CAMPBELL, G.; RAMAN, R.; DUYN, J.H.; MOONEN, C.T.; ALGER, J.R.; DI CHIRO, G. Brain regional distribution pattern of metabolite signal intensities in young adults by proton magnetic resonance spectroscopic imaging. **Neurology**, v.45, p.1384-91, 1995.
-

- 
- THOMAS, M.A.; HUDA, A.; GUZE, B.; CURRAN, J.; BUGBEE, M.; FAIRBANKS, L.; KE, Y.; OSHIRO, T.; MARTIN, P.; FAWZY, F. Cerebral 1H MR spectroscopy and neuropsychologic status of patients with hepatic encephalopathy. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v.171, p.1123-30, 1998.
- THUOMAS, K.A.; AQUILONIUS, S.M.; BERGSTROM, K.; WESTERMARK, K. Magnetic resonance imaging of the brain in Wilson's disease. **Neuroradiology**, v.35, p.134-41, 1993.
- TSIVKOVSKII, R.; MACARTHUR, B.C.; LUTSENKO, S. The Lys1010-Lys1325 fragment of the Wilson's disease protein binds nucleotides and interacts with the N-terminal domain of this protein in a copper-dependent manner. **J. Biol. Chem.**, v.276, p.2234-42, 2001.
- VAN DEN HEUVEL, A.G.; VAN DER GROND, J.; VAN ROOIJ, L.G.; VAN WASSENAER-VAN HALL, H.N.; HOOGENRAAD, T.U.; MALI, W.P. Differentiation between portal-systemic encephalopathy and neurodegenerative disorders in patients with Wilson disease: H-1 MR spectroscopy. **Radiology**, v.203, p.539-43, 1997.
- VAN DER KNAAP, M.S.; VAN DER GROND, J.; VAN RIJEN, P.C.; FABER, J.A.; VALK, J.; WILLEMSE, K. Age-dependent changes in localized proton and phosphorus MR spectroscopy of the brain. **Radiology**, v.176, p.509-15, 1990.
- VAN WASSENAER-VAN HALL, H.N.; VAN DEN HEUVEL, A.G.; ALGRA, A.; HOOGENRAAD, T.U.; MALI, W.P. Wilson disease: findings at MR imaging and CT of the brain with clinical correlation. **Radiology**, v.198, p.531-6, 1996.
- VAN WASSENAER-VAN HALL, H.N.; VAN DEN HEUVEL, A.G.; JANSEN, G.H.; HOOGENRAAD, T.U.; MALI, W.P. Cranial MR in Wilson disease: abnormal white matter in extrapyramidal and pyramidal tracts. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.16, p.2021-7, 1995.
-

- 
- VANHAMME, L.; VAN DEN BOOGAART, A.; VAN HUFFEL, S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. **J. Magn. Reson.**, v.129, p.35-43, 1997.
- VULPE, C.; LEVINSON, B.; WHITNEY, S.; PACKMAN, S.; GITSCHIER, J. Isolation of a candidate gene for Menkes disease and evidence that it encodes a copper-transporting ATPase. **Nat. Genet.**, v.3, p.7-13, 1993.
- WALSHE, J.M. Wilson's disease. New oral therapy. **Lancet**, v.1, p.25-6, 1956.
- WALSHE, J.M. Copper chelation in patients with Wilson's disease. A comparison of penicillamine and triethylene tetramine dihydrochloride. **QJM**, v.42, p.441-52, 1973.
- WALSHE, J.M. Tetramolybdate (MoS<sub>4</sub>) as an anti-copper agent in man. In: SCHEINBERG, I. H.; WALSHE, J. M., ed. **Orphan diseases and orphan drugs**. Manchester, University Press, 1986a. p.76-86.
- WALSHE, J.M. Wilson's disease. In: VINKEN, P. J.; BRUYN, G. W.; KLAWANS, H. L., ed. **Extrapyramidal disorders**. New York, Elsevier Science, 1986b. p.223-38.
- WANG, Z.J.; ZIMMERMAN, R.A. Proton MR spectroscopy of pediatric brain metabolic disorders. **Neuroimaging Clin. N. Am.**, v.8, n.4, p.781-807, 1998.
- WILLIAMS, F.J.; WALSHE, J.M. Wilson's disease. An analysis of the cranial computerized tomographic appearances found in 60 patients and the changes in response to treatment with chelating agents. **Brain**, v.104, p.735-52, 1981.
- WILSON, S.A.K. Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. **Brain**, v.34, p.20-509, 1912.
-

---

WINER, B.J. **Statistical principles in experimental design**. 2. ed. New York, McGraw-Hill, 1971. 907p.

YUH, W.T.; FLICKINGER, F.W. Unusual MR findings in CNS Wilson disease. **AJR Am. J. Roentgenol.**, v.151, p.834, 1988.

ZANDT, H.; VAN DER GRAAF, M.; HEERSCHAP, A. Common processing of in vivo MR spectra. **NMR Biomed.**, v.14, p.224-32, 2001.

ZIMMERMAN, R.A.; WANG, Z.J. The value of proton MR spectroscopy in pediatric metabolic brain disease. **AJNR Am. J. Neuroradiol.**, v.18, p.1872-9, 1997.

---

