

RAÍSSA MAZZER DE SINO

**AVALIAÇÃO NEURO-MORFOMÉTRICA DO
ENCÉFALO EM PACIENTES COM ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e Funcional do Departamento de Morfologia e Genética da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, como requisito da obtenção do título de Mestre.

São Paulo

2023

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Prof. Antonio Rubino de Azevedo,
Campus São Paulo da Universidade Federal de São Paulo, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Mazzer de Sino, Raissa

AValiação neuro-morfométrica do encéfalo em
pacientes com esclerose múltipla / Raissa Mazzer de Sino. -
São Paulo, 2023.

XV, 52f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Paulo, Escola
Paulista de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e
Funcional.

Título em inglês: BRAIN MORPHOMETRIC EVALUATION OF
THE BRAIN IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS.

1. Esclerose Múltipla. 2. Ressonância Magnética. 3. EDSS. 4.
Análise baseada em Voxel (VBM). 5. Algoritmo de crescimento de lesão
(LGA).

RAÍSSA MAZZER DE SINO

**AVALIAÇÃO NEURO-MORFOMÉTRICA DO
ENCÉFALO EM PACIENTES COM ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e Funcional do Departamento de Morfologia e Genética da Escola Paulista de Medicina - UNIFESP, como requisito da obtenção do título de Mestre.

Orientadora Profa. Dra. Isabel Cristina Céspedes

São Paulo

2023

Universidade Federal de São Paulo
Escola Paulista de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e Funcional

Chefe do Departamento de Morfologia e Genética: Prof^ª. Dra. Cristiane Damas Gil

Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Biologia Estrutural e Funcional: Prof^ª. Dra. Isabel Cristina Céspedes

RAÍSSA MAZZER DE SINO

**AVALIAÇÃO NEURO-MORFOMÉTRICA DO
ENCÉFALO EM PACIENTES COM ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Marcelo Cavenaghi Pereira da Silva

Prof. Dr. Fábio Cardoso Cruz

Prof.^a Dr.^a Mariana Penteado Nucci da Silva

SUPLENTE:

Prof.^o Dr.^a. Cristiane Damas Gil

São Paulo, 24 de abril de 2023

DEDICATÓRIA

Em memória da minha mãe, Rosana, que quando em vida foi minha maior incentivadora.

Ao meu noivo Carlos, por sempre estar ao meu lado e me apoiar e nunca me deixar desistir.

As minhas amigas Thays e Laís, por todas as conversas e companhia durante essa trajetória.

Agradecimentos Especiais

Agradeço especialmente à minha orientadora, a Prof^a Dra. Isabel Cristina Céspedes, que em meio a pandemia abriu as portas para mim, acreditou em mim, na minha capacidade e sempre me encorajou. Pelo tempo que me dedicou, mais uma vez, expressei minha profunda gratidão por tudo o que fez por mim. Além de ser uma excelente profissional é um ser humano incrível. Meu mais sincero obrigado!

Agradeço ao meu noivo, Carlos A. Júnior, por todo apoio durante minha trajetória, por ter segurado minha mão nos momentos em que eu mesma não acreditava em mim, que com suas brincadeiras acalmava meus dias de tormento e sempre me motivava com palavras de amor e incentivo, que mesmo em silêncio me cedia seu ombro para chorar e me acalmar. Por nunca ter me deixado desistir.

Em memória da minha mãe, Rosana Mazzer, que não pode estar presente de corpo no final dessa etapa, mas que esteve ao meu lado desde o começo, que foi minha maior incentivadora, melhor amiga e que sempre segurou minha mão e me guiava nos meus caminhos.

Agradecimentos

Agradeço primeiro a Deus, por me permitir a realização dessa etapa, por ser meu refúgio de fé e que em Seu modo me mostrou o melhor caminho a seguir.

À minha família, por todo apoio.

Ao meu irmão Rodrigo, sendo meu maior incentivador, por muitas vezes ter sido meu exemplo.

Aos meus colegas de Laboratório, em especial, meus colegas apocalípticos, Laís, Thays e Tiago que compartilharam comigo as melhores conversas e conhecimentos, não somente profissional. Conviver com vocês foi uma experiência maravilhosa.

Ao meu coorientador Dr. Denis Bichueti e colaboradores, Laís, Rafael, Dr. Henrique Carrete, Leizian. Sem vocês a realização desse projeto não seria possível.

Departamento de Morfologia e Genética e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e Funcional da Escola Paulista de Medicina da UNIFESP, técnicos, professores e alunos. Obrigada pelo acolhimento.

A todo o Departamento de Diagnóstico por Imagem, técnicos e setor administrativo.

À FAPESP e à CAPES, pelo apoio financeiro.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

(Leonardo da Vinci)

Resumo

A esclerose múltipla (EM) é uma das doenças inflamatórias mais comuns do sistema nervoso central. Atualmente, mais de 2,8 milhões de pessoas em todo o mundo vivem com EM. É uma doença crônica desmielinizante, que afeta a transmissão de impulsos nervosos, e desencadeia os diversos sintomas da doença. Considerada uma doença multifatorial, apresenta como fatores predisponentes características genéticas, infecção viral, inflamação autoimune e fatores ambientais. O diagnóstico precoce realizado por avaliação clínica, exame laboratorial do líquido cefalorraquidiano e de imagem por ressonância magnética (RM) facilita o tratamento precoce evitando o aumento das lesões em substância branca, atrofia da substância cinzenta e agravamento dos sintomas. No entanto, ainda é necessário o desenvolvimento de métodos preditores do curso da doença, para o seu melhor manejo. Assim, o objetivo deste projeto foi avaliar alterações morfométricas em substância branca e cinzenta do encéfalo de pacientes com diagnóstico de Esclerose Múltipla, além do número e tamanho das lesões encefálicas, buscando correlacioná-las às características clínicas pelo desempenho na Escala Expandida do Estado de Incapacidade (Expanded Disability Status Scale – EDSS). Foram selecionados 65 indivíduos do Ambulatório de Neurologia Clínica, Setor de Doenças Desmielinizantes, do Hospital São Paulo da Escola Paulista de Medicina da UNIFESP que possuíam exame de ressonância magnética nas sequências 3D T1, FLAIR e gradiente-eco. Dados sociodemográficos e clínicos (escala EDSS) foram obtidos para a análise de correlação com os dados volumétricos obtidos pelas imagens de ressonância magnética. As imagens foram analisadas pelas técnicas de morfologia baseada em voxel (VBM) e algoritmo de crescimento da lesão (LGA). Com base em nossos achados nós pudemos concluir que apesar da maior prevalência de indivíduos diagnosticados para EM do tipo recorrente-remitente (EMRR), aqueles com o tipo Secundária Progressiva (EMSP) apresentaram maior pontuação na EDSS. Com base em nossos achados nós podemos concluir que quanto maior a extensão das lesões de substância branca no cérebro, maior a pontuação total do grau de incapacidade analisado pela EDSS, mas o número de lesões não exerceu influência sobre esta análise clínica. Com relação ao volume de regiões cerebrais, quanto maior a pontuação na EDSS, maior perda de volume em diversas regiões associadas às capacidades cognitivas, sensoriais e espaciais. Nestes pacientes, a idade potencializou a perda volumétrica em diversas áreas, sendo que o sexo não exerceu influência. A extensão das lesões foi associada a aumento volumétrico em diversas áreas, provavelmente associada ao edema cerebral provocado pela presença das lesões ativas. O número de lesões não exerceu influência volumétrica.

Palavras-chave: esclerose múltipla, ressonância magnética, análise baseada em voxel, algoritmo de predição de lesão

Abstract

Multiple sclerosis (MS) is one of the most common inflammatory diseases of the central nervous system. Currently, more than 2.8 million people in the world are living with MS. It is a chronic demyelinating disease that affects the transmission of nerve impulses, and triggers the various symptoms of the disease. Considered a multifactorial disease, it presents as predisposing factors genetic characteristics, viral infection, autoimmune inflammation, and environmental factors. Early diagnosis by clinical evaluation, laboratory examination of the cerebrospinal fluid, and magnetic resonance imaging (MRI) facilitates early treatment by avoiding the increase of lesions in the white matter, atrophy of the gray matter, and worsening of symptoms. However, the development of methods to predict the course of the disease is still needed for its better management. Nevertheless, our objective were to evaluate morphometric alterations in the white and gray matter of the brain of patients diagnosed with Multiple Sclerosis, as well as the number and size of brain lesions, trying to correlate them to clinical characteristics by performance in the Expanded Disability Status Scale (EDSS). We selected 65 individuals from the Ambulatório de Neurologia Clínica, Setor de Doenças Desmielinizantes, Hospital São Paulo, Escola Paulista de Medicina - UNIFESP who had 3D T1, FLAIR and gradient-echo MRI scans. Sociodemographic and clinical data (EDSS scale) were obtained for correlation analysis with volumetric data obtained by MRI images. Images were analyzed by voxel-based morphology (VBM) and lesion growth algorithm (LGA) techniques. Based on our findings we conclude that despite the higher prevalence of individuals diagnosed for relapsing-remitting type MS (relapsing-remitting MS), those with the Secondary Progressive type (SPMS) had higher EDSS scores. Based on our findings we can conclude that the greater the extent of white matter lesions in the brain, the greater the total disability grade score analyzed by the EDSS, but the number of lesions had no influence on this clinical analysis. Regarding the volume of brain regions, the higher the EDSS score, the greater the loss of volume in several regions associated with cognitive, sensory and spatial abilities. In these patients, age potentiated the volume loss in several areas, and gender had no influence. The extension of the lesions was associated with volumetric increase in several areas, probably associated with brain edema caused by the presence of active lesions. The number of lesions had no volumetric influence.

Keywords: multiple sclerosis, magnetic ressonance image, voxel-based morphometry, lesion growth algorithm

Sumário

1. INTRODUÇÃO	2
1.1 Epidemiologia da Esclerose Múltipla	2
1.2 Patogenia da Esclerose Múltipla	3
1.3 Classificação da Esclerose Múltipla	5
1.4 Diagnóstico Clínico da Esclerose Múltipla	6
2. JUSTIFICATIVA	10
3. OBJETIVOS	10
3.1 Objetivo Geral	10
3.2 Objetivos específicos	10
4. MÉTODOS	11
4.1 Participantes da Pesquisa	11
4.2 Aspectos Éticos	11
4.3 Critérios de Inclusão/Exclusão	11
4.3.1 Inclusão	11
4.3.2 Exclusão	11
4.4 Escala Expandida do Estado de Incapacidade (EDSS)	12
4.5 Imagens por Ressonância Magnética	13
4.6 Processamento e análise de dados	13
4.7 Análise Morfológica pelo método Lesion Growth Algorithm (LGA)	14
4.8 Análise Morfológica pelo método VBM	14
4.9 Análise Estatística	15
5. RESULTADOS	15
5.1 Análise de LGA	17
5.2 Análise morfométrica	18
5.2.1 Pontuação da EDSS	19
5.2.2 Extensão das lesões	20
5.2.3 Quantidade de lesões	21
5.2.4 Sexo	21
5.2.5 Idade	22
5.2.6 EDSS*Extensão das lesões	23
5.2.7 EDSS*Sexo	24
5.2.8 EDSS*Idade	24
6. DISCUSSÃO	25
7. CONCLUSÃO	28
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Prevalência média estimada globalmente de Esclerose Múltipla	02
Figura 2 - Neurônio lesionado pela EM. Recrutamento de oligodendrócitos para o local da lesão e remielinização dos axônios afetados, restaurando a condução saltatória.....	03
Figura 3 - Patologia cerebral característica da esclerose múltipla	05
Figura 4 - Distribuição da extensão média das lesões e da quantidade de lesões observadas nos exames de ressonância magnética dos pacientes da amostra (média \pm desvio padrão).....	17
Figura 5 - Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em azul) utilizando como efeito a pontuação total da EDSS.....	19
Figura 6 - Regiões encefálicas com diminuição (áreas em azul) e aumento (vermelho) volumétrico utilizando como efeito a extensão das lesões.....	21
Figura 7 - Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em vermelho) utilizando como efeito o sexo.....	22
Figura 8 - Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a idade.....	22
Figura 9 - Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a interação EDSS*Extensão das lesões.....	23
Figura 10 - Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a interação EDSS*Idade.....	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos indivíduos com Esclerose..... 15

Tabela 2 - Regiões com alteração no volume encefálico levando-se em conta extensão das lesões, sexo, faixa etária e gravidade 18

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Curso da Esclerose Múltipla com as definições de cada categoria 06

1. INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia da Esclerose Múltipla

A esclerose múltipla (EM) é uma doença neurológica crônica, desmielinizante, que compromete o sistema nervoso central (SNC), prejudicando as habilidades físicas e cognitivas do indivíduo (Khan *et al.*, 2015; Wallin *et al.*, 2019). É caracterizada pela ocorrência de surtos (agravamento dos sintomas de disfunção neurológica) e progressão, com início mais comum entre 20 e 40 anos de idade (Lublin & Reingold, 1996; Machado *et al.*, 2012).

As características biológicas da EM incluem inflamação, desmielinização localizada e neurodegeneração progressiva (Lassmann, Bruck & Lucchinetti, 2007), com lesões focais na substância branca do tecido nervoso (Frischer *et al.*, 2015; Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018). Presente em todas as regiões do mundo, a EM varia sua prevalência. De acordo com o atlas da EM de 2020 (figura 1), o número de pessoas com EM em todo o mundo aumentou de 2,3 milhões em 2013 para 2,8 milhões no ano de 2020. Sua prevalência é mais alta na América do Norte, com estimativas de mais de 900 mil indivíduos afetados nos Estados Unidos no ano de 2020. No Brasil, estima-se uma média de 40 mil habitantes no ano de 2020 (The Multiple Sclerosis International Federation, 2020).



Figura 1 - Prevalência média estimada globalmente de Esclerose Múltipla. Fonte: King (2020).

1.2 Patogenia da Esclerose Múltipla

A EM apresenta-se como uma doença de etiologia complexa, sendo seu desenvolvimento influenciado por múltiplos fatores como predisposição genética, inflamação autoimune, e infecção viral pelo Epstein Barr, além da exposição ao tabaco e à obesidade contribuírem para a susceptibilidade à doença (Lucchinetti *et al.*, 2000; Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018). Um conceito amplamente aceito sobre a patogênese da doença é que a lesão tecidual no cérebro e medula espinal, além da desmielinização e da neurodegeneração, envolve mecanismos heterogêneos que incluem os sistemas imunológicos inatos e adaptativos (Cheng & Chen, 2014; Zeydan & Kantarci, 2018). A mielina e os oligodendrócitos são os principais alvos dos processos imunológicos na EM. Após a lesão da mielina, as células precursoras dos oligodendrócitos são recrutadas para o local da lesão (figura 2), onde amadurecem, substituem os oligodendrócitos danificados, e remielinizam os axônios afetados, limitando, assim, a degeneração axonal e restaurando a condução saltatória (Absintia *et al.*, 2016).



Figura 2 - Neurônio lesionado pela EM. Recrutamento de oligodendrócitos para o local da lesão e remielinização dos axônios afetados, restaurando a condução saltatória. Fonte: Toda Matéria – adaptado (<https://www.amafresp.org.br/noticias/agosto-laranja-mes-da-conscientizacao-sobre-esclerose-multipla/>; <https://www.todamateria.com.br/celulas-gliais/>).

No curso da doença, as características patológicas da EM envolvem inflamação, desmielinização, remielinização, neurodegeneração e formação de cicatriz glial, que ocorrem focal ou difusamente principalmente em toda a substância branca (SB), mas envolvendo também a substância cinzenta (SC), do encéfalo e da medula espinal (Lassmann, Van Horssen & Mahad, 2012; Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018).

Exames por imagem de ressonância magnética (RM) indicam que os estágios iniciais da desmielinização da SB evoluem ao longo de meses (Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018). Os surtos são considerados a expressão clínica das placas

desmielinizantes inflamatórias agudas, focais ou disseminadas, com ou sem lesão axonal (Frischer et al., 2015; Zeydan & Kantarci, 2018). No início da doença, surtos ativos de desmielinização são seguidos por períodos de remissão, e a recidiva está associada ao surgimento de novas lesões ou reativação de lesões antigas da SB do cérebro e da medula espinal (Lassmann, Van Horssen & Mahad, 2012). Os diferentes padrões clínicos da EM podem representar fases diferentes do mesmo processo patológico (Barkhof, 1999). Assim, formas progressivas de EM podem surgir quando mecanismos compensatórios de reparo não conseguem lidar com o acúmulo de danos axonais e neuronais induzidos pela reação inflamatória (Nascimento, Kuriyama & Fidalgo-Neto, 2017). Portanto, os diferentes processos que conduzem a desmielinização na SB, bem como os danos da SC, devem ser interpretados como principais determinantes da heterogeneidade da doença em pacientes com EM (Cook *et al.*, 2012).

Estudos genéticos indicam a importância primária do sistema imunológico adaptativo na patogênese da doença. A ativação da microglia, provavelmente como resultado de um ambiente inflamatório crônico, pode desencadear vias neurotóxicas (por exemplo, produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio) que causam danos neuronais e neurodegeneração (Kular *et al.*, 2018). Já foram observados sinais de distrofia de oligodendrócitos pela alteração na expressão de certas proteínas da bainha de mielina, como a glicoproteína associada à mielina (myelin associated glycoprotein - MAG), ou ainda por alterações nas regiões distais dos seus prolongamentos (Lucchinetti *et al.*, 2000). A patologia axonal é observada nos estágios iniciais da EM e a inflamação está presente em todos os estágios. No entanto, axônios inchados são encontrados mais nas lesões inflamatórias agudas do que nas placas crônicas (Lassmann, 2012). As lesões causadas pela inflamação consistem em infiltrados perivasculares e parenquimatosos de linfócitos e macrófagos, e a invasão da maioria das células inflamatórias no tecido ocorre após a destruição inicial da mielina (Lassmann, Van Horssen & Mahad, 2012). Assim, o dano tecidual na EM resulta de uma interação complexa e dinâmica entre o sistema imunológico, a glia e os neurônios, com influência genética e ambiental (Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018).

Indivíduos com EM podem apresentar várias combinações de déficits físicos, tais como fraqueza motora, espasticidade (distúrbio no controle muscular caracterizado por tensão, rigidez, aumento dos reflexos dos tendões e incapacidade de controlar os músculos), disfunção sensorial, perda visual, ataxia, além de fadiga, dor, disfunção esfinteriana, e alteração na função cognitiva e comportamental, com dificuldade de

concentração, problemas de memória e ansiedade (Cheng & Chen, 2014; Thompson et al., 2018). Estas condições variam de acordo com a localização das lesões e o tipo de início dos sintomas (se for remitente ou progressivo) (Brownlee *et al.*, 2017). Estudo de Luchinetti e colaboradores mostrou que quase 40% dos pacientes com EM apresentavam desmielinização cortical. Há evidências de que a desmielinização cortical é comum na EM já em estágio inicial (Luchinetti *et al.*, 2011).

Portanto, as características patológicas da EM incluem inflamação, desmielinização, remielinização, neurodegeneração e formação de cicatriz glial, que ocorrem focal ou difusamente em toda a SB, assim como na SC, do encéfalo e da medula espinal (figura 3) (Lassmann, Van Horssen & Mahad, 2012; Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018).

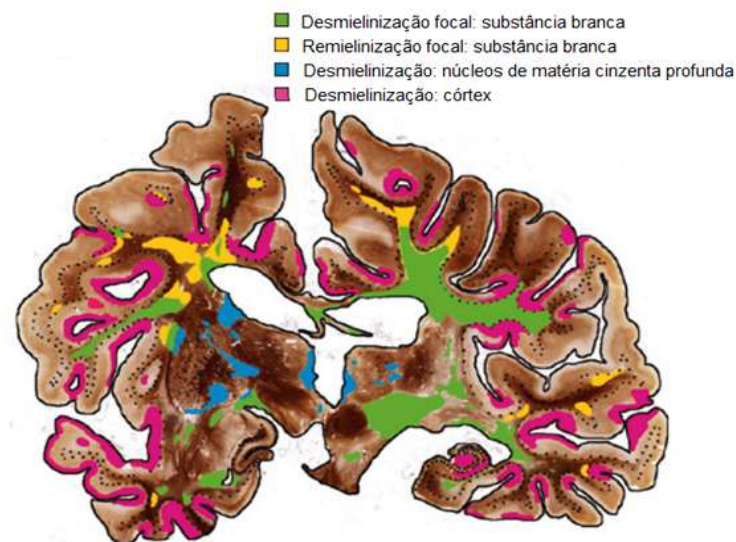


Figura 3 - Patologia cerebral característica na esclerose múltipla. As áreas coloridas indicam a localização de diferentes tipos de lesões. Observa-se atrofia acentuada com dilatação dos ventrículos cerebrais e aumento dos espaços subdurais do líquido cefalorraquidiano. (Fonte: Lassmann, Van Horssen & Mahad, 2012 - adaptado).

1.3 Classificação da Esclerose Múltipla

A EM pode ser classificada de acordo com a apresentação clínica, caracterizada pela ocorrência de surtos (agravamento de sintomas por disfunção neurológica de evolução subaguda) e progressão. Os surtos, também denominados de ataques, exacerbação ou recidiva, são considerados de ocorrência, recorrência ou agravamento de sintomas de disfunção neurológica, com duração igual ou superior a 24 horas, na ausência de febre, aumento de temperatura ambiente e/ou infecção (Machado *et al.*, 2012). As recidivas são consideradas a expressão clínica de placas desmielinizantes inflamatórias

agudas, focais ou disseminadas, com ou sem lesão axonal no SNC (Frischer *et al.*, 2015; Zeydan & Kantarci, 2018).

Assim, com base na apresentação clínica, a EM pode ser classificada em: recorrente-remitente (EMRR), primária progressiva (EMPP), secundária progressiva (EMSP) e progressiva com surtos (EMPS) (Lublin & Reingold, 1996). O quadro 1 apresenta os tipos de EM e a sua definição com base na presença de surtos e progressão/remissão dos sintomas.

Quadro 1 - Curso da Esclerose Múltipla com as definições de cada categoria.

Esclerose Múltipla	Definição
Recorrente/Remitente (EMRR)	Episódios de piora aguda com recuperação e um curso estável entre recorrências.
Secundária progressiva (EMSP)	Deterioração neurológica gradual, com ou sem recorrências agudas sobrepostas, em um paciente que anteriormente teve esclerose múltipla recorrente/remitente.
Primária progressiva (EMPP)	Deterioração neurológica gradual, quase contínua, a partir do aparecimento dos sintomas.
Progressiva recorrente (EMPR)	Deterioração neurológica gradual, a partir do aparecimento dos sintomas, mas com recidivas subsequentes sobrepostas.

1.4 Diagnóstico Clínico da Esclerose Múltipla

A compreensão dos detalhes da patologia e, especialmente, como ela evolui, teve grande contribuição de técnicas modernas, como as imagens por ressonância magnética (RM) (Lucchinetti *et al.*, 2011; Reich, Lucchinetti & Calabresi, 2018).

Como descrito anteriormente, por ser considerado um distúrbio neurológico desmielinizante, o diagnóstico adequado da EM permite o início precoce do tratamento, oferecendo ao paciente uma maior chance de modificar o curso natural da doença em longo prazo, através de tratamentos que reduzem o número de surtos, de lesões e, conseqüentemente, de sequelas neurológicas (Lassmann, Bruck & Lucchinetti, 2007).

Desde a primeira descrição diagnóstica feita em 1868, por Jean Martin Charcot, o avanço tecnológico permitiu a utilização de ferramentas mais sofisticadas e avaliações clínicas mais específicas da EM (Charcot, 1868; McDonald *et al.*, 2001; Polman *et al.*, 2011; Rovira *et al.*, 2015). Atualmente, para o diagnóstico, são utilizados os Critérios de McDonald 2017. Os Critérios Diagnósticos de McDonald incluem critérios clínicos, radiográficos e laboratoriais usados no diagnóstico da Esclerose Múltipla. Foram criados

em 2001, e revisados diversas vezes à medida que novos avanços diagnósticos foram ocorrendo, agregando mais conhecimento sobre a doença. Sua versão atual é de 2017. Consideram vários aspectos clínicos que podem ser obtidos pela Escala Expandida do Estado de Incapacidade (do inglês *Expanded Disability Status Scale* - EDSS), análise do líquido e análise por RM. Assim, o diagnóstico da EM requer a presença da disseminação da doença no espaço (*dissemination in space*, DIS) e no tempo (*dissemination in time*, DIT), e exclusão de outras condições que podem mimetizá-la pelo seu perfil clínico e laboratorial (Reich *et al.*, 2020).

O comprometimento neurológico observado em muitos pacientes com EM pode ser analisado pela EDSS. Esta escala foi desenvolvida em 1983, por John Kurtzke, para ser utilizada na clínica por um neurologista, e tem por finalidade quantificar o grau de incapacidade provocada pela EM, além de monitorar a sua evolução ao longo do tempo (Kurtzke, 1983). A escala avalia os sistemas funcionais (visual, piramidal, tronco cerebral, sensibilidade, coordenação, esfíncteres e mental) (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017; Çinae & Yorgun, 2018), mas não pode ser utilizada sozinha para o diagnóstico (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017). Ainda nos aspectos clínicos, considera-se a frequência do número de surtos, cujo aumento da periodicidade está intimamente relacionado ao agravamento das lesões no SNC e progressão da doença (Machado, 2012; Lublin & Reingold, 1996).

Em relação ao líquido, a detecção de bandas oligoclonais IgG (BOC) é considerada um biomarcador da esclerose múltipla, sendo um teste qualitativo que define o processo inflamatório crônico presente durante todo o curso da doença (Andersson *et al.*, 1994; Stangel *et al.*, 2013).

Já os critérios de RM para o diagnóstico de EM são baseados na presença de lesões focais na SB em pelo menos dois locais do SNC, sendo estes tipicamente, justacorticais/corticais, periventriculares, infratentoriais e medulares (Rovira *et al.*, 2015; Filippi *et al.*, 2016; Thompson *et al.*, 2017). O exame de RM é considerado um procedimento de diagnóstico não invasivo, indolor e de fácil realização que vem sendo amplamente utilizado para avaliar o volume das lesões, volume cerebral e a progressão da doença. Sua utilização permite um diagnóstico precoce, sensível e específico, pois podem ser observadas as lesões iniciais características da EM (Brownlee *et al.*, 2016). Assim, torna-se um exame de grande utilidade clínica, uma vez que o grau de mudança no volume do cérebro apresenta direta correlação com a piora das condições clínicas do paciente (Pérez-Miralles *et al.*, 2013; Sormani *et al.*, 2014).

O comprometimento cognitivo é observado em muitos pacientes com EM e tem sido diretamente relacionado a lesões focais com hipersinal em Recuperação da Inversão Atenuada por Fluidos (do inglês *Fluid Attenuated Inversion Recovery* - FLAIR) na SB e SC em imagens de RM, com atrofia cortical e subcortical (Barkhof, 1999; Paul, 2016; Eijlers *et al.*, 2018; Oreja-Guevara *et al.*, 2019). Essas lesões focais observadas na SB apresentam-se espacialmente relacionadas e parecem contribuir para a atrofia observada em regiões de SC através das alterações axonais (Mühlau *et al.*, 2013). No entanto, a literatura ainda sugere que a perda do volume de SC esteja mais intimamente relacionada com o comprometimento cognitivo observado na EM do que com a perda do volume da SB (Stefano *et al.*, 2014; Deluca *et al.*, 2014). Isso porque à medida que a EM progride, surgem mecanismos adicionais de degeneração que são, ao menos em parte, independentes da lesão na SB, como ativação da microglia, inflamação meníngea, deposição de ferro e estresse oxidativo (Deluca *et al.*, 2014).

A RM já é uma ferramenta de papel fundamental para o diagnóstico precoce da EM, sendo formalmente incluída na investigação diagnóstica em 2001 por um painel internacional de especialistas. Os avanços nas técnicas de aquisição das imagens (*scanners* de alto campo - 3 Tesla), aliados a novas metodologias de processamento e análise das imagens utilizando *softwares* robustos, permitem um reconhecimento mais refinado das lesões, envolvendo áreas corticais, regiões infratentorial e periventriculares (Wattjes *et al.*, 2006). Estes avanços na área de neuroimagem têm contribuído com a identificação e entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença, favorecendo o diagnóstico diferencial e novos *insights* sobre a atividade da doença (McDonald *et al.*, 2001; Filippi *et al.*, 2016).

Por exemplo, dentre as técnicas para análise morfométrica das imagens de RM de pacientes com EM, a morfometria baseada em voxel (do inglês *voxel based morphometry* - VBM) e a segmentação estrutural (SE) têm ganhado destaque na literatura.

O VBM é uma metodologia de processamento de imagem robusta que vem sendo aplicada em estudos neurológicos com análise de estruturas corticais e subcorticais (Chen *et al.*, 2018; Zheng *et al.*, 2018; Matias-Guiu *et al.*, 2018). O princípio desta análise consiste em mensurar aspectos volumétricos de estruturas encefálicas baseando-se na intensidade de sinal de cada voxel, a partir de processos de segmentação de cada porção do tecido nervoso, como a SC, a SB e o líquido. As imagens segmentadas de SC de cada paciente são dispostas em um espaço estereotáxico padrão (*template*) onde sofrem normalização não linear espacial, corrigindo e suavizando (*smoothing*) as deformações

necessárias a essa reestruturação, o que permite identificar as diferenças volumétricas estruturais entre sujeitos (Ashburner & Friston, 2000; Georgeto *et al.*, 2016; Nemoto, 2017). Com intuito de correlacionar a atrofia de estruturas cerebrais ao desempenho em testes neuropsicológicos, Matías-Guiu e colaboradores (2018), utilizando VBM em pacientes com EM, observou que funções executivas e de atenção estariam fortemente associadas ao volume do núcleo caudado, funções de memória ao volume do tálamo, tarefas de atenção foram associadas ao precuneus e giro do cíngulo posterior, enquanto que tarefas de planejamento e de alta ordem executiva foram associadas ao volume cortical frontal (Matías-Guiu *et al.*, 2018).

Já a técnica de SE consiste em delinear lesões em hipo e hipersinal localizadas na SB em imagens de RM ponderadas em T1 e FLAIR. Essa segmentação realizada em T1 fornece um melhor contraste entre as camadas teciduais, onde as placas de EM aparecem como áreas focais de baixo sinal (hiposinal em relação à SB) (Fischl *et al.*, 2002; Patenaude *et al.*, 2011).

Assim, em diversos ensaios clínicos no estudo da EM, a RM foi usada para confirmar o diagnóstico e determinar a eficácia dos tratamentos modificadores da doença através da medição de novas contagens e volumes de lesões (Khan *et al.*, 2015). Portanto a RM atua como um excelente método diagnóstico e de monitoramento do tratamento, por fornecer informações sobre tamanho, número, e desenvolvimento de lesões no SNC (Sormani, 2013), sendo hoje considerado um dos principais biomarcadores da EM.

Novas abordagens utilizando RM deverão cada vez mais contribuir com a compreensão do processo de comprometimento do SNC, e conseqüentemente o efeito da atividade patogênica durante o curso da doença.

Em suma, a EM é uma doença crônica, inflamatória, desmielinizante, de possível etiologia autoimune e com um componente degenerativo associado, que acomete o SNC, afetando a qualidade de vida do paciente devido a sintomas como alterações na visão, na sensibilidade do corpo, no equilíbrio e na força muscular dos membros com conseqüente redução da mobilidade ou locomoção. Assim, a análise exploratória morfométrica por RM de pacientes com EM pode auxiliar estudos de correlação entre o volume das lesões da substância branca e atrofia da substância cinzenta com as alterações clínicas e evolução da doença, contribuindo para a compreensão do seu curso, e conseqüentemente seu prognóstico e tratamento.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O objetivo deste projeto foi avaliar alterações morfométricas em substância branca e cinzenta do encéfalo de pacientes com diagnóstico de Esclerose Múltipla, além do número e tamanho das lesões encefálicas, buscando correlacioná-las às características clínicas pelo desempenho na Escala Expandida do Estado de Incapacidade (Expanded Disability Status Scale – EDSS).

3.2 Objetivos específicos

- ➡ Analisar as alterações volumétricas da substância branca e cinzenta (por morfometria baseada em voxel) nos indivíduos com EM correlacionando com a pontuação da EDSS;
- ➡ Analisar a extensão e o número das lesões dos indivíduos com EM (por algoritmo de crescimento da lesão);
- ➡ Avaliar a relação entre as alterações volumétricas e a extensão e número das lesões, sexo e idade de forma independente e associada à pontuação da EDSS.

4. MÉTODOS

4.1 Participantes da Pesquisa

Sessenta e cinco indivíduos em acompanhamento regular no Ambulatório de Neurologia Clínica, Setor de Doenças Desmielinizantes do Hospital São Paulo, hospital universitário da Escola Paulista de Medicina (EPM) da Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), com exames por imagem de RM, realizados e padronizados pelo Departamento de Diagnóstico por Imagem do Hospital São Paulo da UNIFESP (DDI), participaram deste estudo. As informações clínicas foram adquiridas a partir do Prontuário Eletrônico do Paciente (PEP), registro clínico e administrativo que serve como ferramenta de apoio ao profissional clínico. Das informações contidas no PEP, para a realização deste projeto, coletamos as seguintes informações: idade, sexo, etnia, escolaridade, estado civil, diagnóstico clínico e mensuração da incapacidade neurológica através da Escala Expandida do Estado de Incapacidade (do inglês *Expanded Disability Status Scale* – EDSS).

4.2 Aspectos Éticos

Este estudo foi conduzido dentro das normas éticas que regem a pesquisa clínica, atendendo às orientações do Comitê de Ética em Pesquisa da UNIFESP (CEP – UNIFESP; aprovação número 0268/2021), da Plataforma Brasil e do Manual do Prontuário Eletrônico do Hospital São Paulo (PEP - HSP / UNIFESP), assim como os princípios da Declaração de Helsinki.

4.3 Critérios de Inclusão/Exclusão

4.3.1 Inclusão

Foram incluídos indivíduos do sexo masculino e feminino de 20-70 anos de idade, diagnosticados com EM e que apresentaram no PEP exames de RM de crânio com sequências volumétricas 3D-T1 e 3D-FLAIR realizados e padronizados pelo DDI - EPM/UNIFESP.

4.3.2 Exclusão

Indivíduos que possuíam doenças que causem comprometimento do SNC, como acidente vascular encefálico, trauma ou tumores, ou que não possuíam RM de crânio com sequências volumétricas, com artefatos ou problemas técnicos que inviabilizaram o processamento das imagens.

4.4 Escala Expandida do Estado de Incapacidade (EDSS)

A Escala Expandida do Estado de Incapacidade (EDSS) é um instrumento utilizado para quantificar o grau de incapacidade provocado pela EM. A escala classifica a incapacidade em oito sistemas funcionais e permite aos neurologistas determinar uma pontuação para cada um deles. Foi criada em 1983, por um neurologista americano chamado John F. Kurtzke e, desde então, é o instrumento clínico mais usado no mundo para medir o quanto a doença está afetando as funções neurológicas do paciente. Nesta escala, são avaliadas as seguintes dimensões funcionais: visual, piramidal, tronco encefálico, sensibilidade, coordenação, esfíncteres e mental (cognição + emoção). Quanto maior a pontuação em cada dimensão, maior é o prejuízo funcional. É importante que todos os pacientes tenham seu estado neurológico pontuado pela escala a cada três meses, para confirmar se está havendo progressão da doença ou se o tratamento está surtindo efeito. Escores por categorias:

0 = normal

- 1 = sem incapacidade
- 2 = incapacidade mínima
- 3 – 4 = incapacidade moderada
- 5 – 8 = incapacidade mais grave
- 9 = incapacidade muito grave
- 10 = óbito

Os escores também têm sido agrupados em intervalos de pontuação. Por exemplo, o intervalo de pontuação de 1 a 4 em todos os sistemas funcionais (visual, piramidal, tronco cerebral, sensibilidade, coordenação, esfíncteres e mental) refere-se a pacientes que são totalmente ambulatoriais; o intervalo de pontuação de 4 a 7 refere-se ao paciente na condição ambulatorial, com o uso de auxiliares de locomoção; e o intervalo de pontuação entre 7 e 9 refere-se ao paciente restrito à cadeira de rodas ou cama, descoordenação de movimentos e tremores involuntários, mas ainda mantém funções de autocuidado. A pontuação 10 representa a morte (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017; Çinae & Yorgun, 2018). A EDSS é uma medida de desfecho padronizada, amplamente usada para determinar o agravamento da deficiência e definir a mudança relacionada à função neurológica, mas não é utilizada para diagnóstico (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017).

4.5 Imagens por Ressonância Magnética

Os exames utilizados neste estudo foram realizados no DDI do HSP e obtidos a partir de acesso aos arquivos disponíveis no PEP. Como protocolo padrão para a EM, todos os pacientes foram escaneados pelo equipamento de ressonância magnética de 3.0 T da Philips Medical Systems (Andover, MA, US), no modelo MR Systems Achieva, na versão 5.3.1 / 5.3.1.2 com gradiente de 80mT/m e bobina de cabeça de 8 canais com os tempos de aquisição de 191340.51, repetição de 11, de Echo 4.602 sob o protocolo "CRÂNIO ESCLEROSE MÚLTIPLA". Foram realizadas sequências do crânio e medula espinal incluindo ao menos: Fluid Attenuated Inversion Recovery (3D-FLAIR) nos planos axial e sagital e 3D-T1 Spin-echo no plano axial.

4.6 Processamento e análise de dados

O pré-processamento e as análises das alterações morfométricas e sua correlação com as alterações clínicas com delineamento de um modelo preditivo foram realizados usando o software Statistical Parametric Mapping - versão 12 (SPM12) (The Wellcome

Centre for Human Neuroimaging, UCL Queen Square Institute of Neurology; London, UK), com o auxílio das extensões voxel based morphometry (VBM12) e lesion segmentation toolbox (LST) (www.statisticalmodelling.de/lst.html).

O SPM12 é um software gratuito e de código aberto, projetado para funcionar com as versões R2007a (7.4) a R2020b (9.9) do MATLAB, com o objetivo de realizar análise estatística de sequências de dados de imagens cerebrais. A LST é uma extensão que fornece o algoritmo de crescimento de lesão (lesion growth algorithm - LGA). Para o LGA são necessárias imagens 3D-T1 e 3D-FLAIR. Já o VBM é uma técnica de análise morfométrica que realiza comparação, baseada em voxel, da "densidade" (quantidade relativa) regional, principalmente da SC, entre grupos de indivíduos.

4.7 Análise Morfológica pelo método Lesion Growth Algorithm (LGA)

Para análise do volume e da quantidade de lesões características da EM em SB, foi utilizado o Algoritmo de Crescimento da Lesão (Lesion Growth Algorithm - LGA), capaz de segmentar lesões a partir de uma combinação de imagens 3D-FLAIR e 3D-T1. Inicialmente ocorre a segmentação da imagem T1 em líquido, SB e SC. Essas informações são então combinadas com a intensidade FLAIR para calcular os mapas das lesões, a partir dos voxels que aparecem hiperintensos. O resultado é um mapa de probabilidade de lesão (Schmidt *et al.*, 2012) implementado no SPM12 por meio da toolbox LST (lesion segmentation tool) v.3.0 (www.statistical-modelling.de/lst.html). As lesões podem ser caracterizadas por seu tamanho, forma e localização no cérebro.

4.8 Análise Morfológica pelo método VBM

As imagens por ressonância magnética em T1 (3D-T1) foram adquiridas em arquivos no formato DICOM que foram convertidos para o formato NIFTI no software MRICron v.1.0 (<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricron/mricron>). Para a análise de VBM foi utilizado o software SPM12 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm>), em MATLAB (v. 9.0 - 2016a) em conjunto com a toolbox CAT 12 (<http://dbm.neuro.uni-jena.de/cat/>). Primeiramente foi feita a segmentação do encéfalo em SC, SB e líquido. Para cada indivíduo foi calculado o volume relativo de cada segmentação (SC, SB e líquido) baseado no volume intracraniano total, comparando o volume ou a densidade do tecido cerebral. Tais comparações foram feitas por meio da construção de mapas cerebrais, que mostram a localização de clusters que se referem a grupos de voxels ligados entre si e que mostram diferença significativa em volume ou densidade, entre grupos experimentais ou em grupo

único, a partir da relação com uma outra variável pré-determinada. Assim, o volume e densidade são analisados em voxels.

Após a aquisição das imagens, foi efetuada a normalização para as coordenadas MNI (*Montreal Neurological Institute Atlas Montréal*, QC, Canadá), que serve de padrão para ajuste das imagens e adequada comparação entre grupos de indivíduos ou em relação a uma variável clínica. Deformações geradas no processo de aquisição foram compensadas com base na intensidade dos voxels e nos valores locais derivados do campo de deformação do processo. Finalmente, todos os dados foram suavizados utilizando-se um kernel de 8 mm FWHM (full width half maximum). O volume intracraniano total (TIV) foi utilizado como covariável e referência de volume padrão na análise realizada no SPM12 por meio do Human Brain in Standard MNI Space (Montreal Neurological Institute; Montréal, QC, Canadá), juntamente com a EDSS, extensão da lesão, quantidade de lesões, sexo e idade. O programa xjView toolbox (<https://www.alivelearn.net/xjview>) foi utilizado para visualização dos dados.

4.9 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada no software Jamovi versão 1.0. O teste t-student de amostra única e independente foi utilizado quando a normalidade e a homogeneidade foram alcançadas. Na ausência dos pré-requisitos, utilizamos o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Uma correlação de Spearman foi realizada entre a quantidade de lesões, a extensão da lesão e a pontuação total da EDSS. A significância foi considerada apenas quando $p < 0.05$. Para as análises de VBM foi utilizado o modelo de regressão multilinear, utilizando como efeito a pontuação total da EDSS, a extensão da lesão, a quantidade de lesões, o sexo, a idade, a EDSS*Extensão da Lesão, EDSS*Sexo, e EDSS*idade. Foram considerados significativos apenas os clusters com mais de 100 voxels e com o pFWE-corr = 0.001.

5. RESULTADOS

A amostra foi composta por um total de 65 indivíduos com diagnóstico clínico de Esclerose Múltipla pela equipe do Ambulatório de Neurologia Clínica, Setor de Doenças Desmielinizantes do Hospital São Paulo da UNIFESP. Os pacientes em sua maioria eram do sexo feminino (73.8 %; n = 48) em relação ao sexo masculino (26.2 %; n = 17) ($p < 0.001$), com idade média de 43.4 ± 11.3 . Entre as características étnicas autodeclaradas,

a amostra foi constituída por maioria branca (57.8 %), em relação à pardos (34.4 %) e pretos (7.8 %) ($p < 0.001$). Para o estado civil, a amostra foi constituída por maioria de 50.8 % de casados e 38.1 % solteiros em relação a divorciados (9.5 %) ou viúvos (1.6 %) ($p < 0.001$). Em relação ao nível educacional, a maioria apresentou mais de 12 anos de estudo (45.7 %) em relação aos outros níveis educacionais ($p < 0.001$) (tabela 1).

Tabela 1 - Características sociodemográficas dos indivíduos com Esclerose Múltipla.

Características Sociodemográficas	Indivíduos com EM	p†
Idade [média ± SD]	(n = 65) 43.2 ± 11.1	
Sexo (%)	(n = 65)	
Feminino	73.8	< 0.001
Masculino	26.2	
Etnia (%)	(n = 64)	
Branco	57.8	< 0.001
Pardo	34.4	
Preto	7.8	
Omisso	1	
Estado Civil (%)	(n = 63)	
Casado	50.8	< 0.001
Solteiro	38.1	
Divorciado	9.5	
Viúvo	1.6	
Omisso	2	
Anos de Estudos (%)	(n = 46)	
0 anos	2.2	< 0.001
1 – 9 anos	10.9	
10 – 12 anos	41.3	
+ 12 anos	45.7	
Omisso	19	

† Teste de qui-quadrado e T-student.

Para a Escala Expandida do Estado de Incapacidade (EDSS), a pontuação total foi de 2.99 ± 2.21 pontos. Esta é composta pelas dimensões funcionais: visual, piramidal, tronco cerebral, sensibilidade, coordenação, esfíncteres e mental (cognição + emoção). Em nosso estudo as dimensões com maior relevância para o quadro clínico foram as dimensões piramidal (1.51 ± 1.26), cerebelar (0.67 ± 1.00), visual (0.73 ± 0.87) e sensitivo (1.12 ± 1.05).

Pelo escore total da EDSS, nós classificamos os pacientes com relação ao prejuízo funcional, sendo estes classificados em normal (7.7 %), sem incapacidade (24.6 %), incapacidade mínima (26.2 %), incapacidade moderada (18.5 %) e incapacidade grave (23.1 %).

Por fim, com relação ao diagnóstico clínico, foram observados apenas dois perfis diagnósticos para EM nesta amostra. Para a maioria dos indivíduos (87.7 %; n = 57) o diagnóstico foi de EMRR, com 12.3 % de indivíduos com EMSP (n = 8).

Para os indivíduos diagnosticados com EMRR, a amostra mostrou-se predominantemente feminina (71.9 %; n = 41), em relação ao sexo masculino (28.1 %; n = 16) ($p < 0.001$); e com idade média de 41.5 ± 10.4 . O predomínio étnico e civil foi de brancos (57.8 %) em relação a pardos (35.7 %) e pretos (7.1 %) ($p < 0.001$); e de casados (45.5 %) seguido por solteiros (43.6 %) em relação a divorciados (9.1 %) ou viúvos (1.8 %) ($p < 0.001$), respectivamente. O nível de escolaridade foi de 10 – 12 anos de estudo (46.2 %) em relação aos outros níveis educacionais ($p < 0.001$). O escore global da EDSS foi de 3.02 ± 1.19 (média \pm desvio padrão), permanecendo no mesmo prejuízo funcional em relação à amostra total.

Para os indivíduos diagnosticados com EMSP, a amostra mostrou-se predominantemente feminina (87.5 %; n = 7), em relação ao sexo masculino (12.5 %; n = 1) ($p = 0.034$) e com idade média de 55.1 ± 8.77 . O predomínio étnico e civil foi de brancos (62.5 %) em relação a pardos (25.0 %) e pretos (12.5 %) ($p = 0.197$); e casados (87.5 %) ou solteiros (12.5 %) ($p = 0.034$). Para o nível de escolaridade, a maioria possuía mais de 12 anos de estudo (71.4 %) em relação aos outros níveis educacionais ($p = 0.102$). O escore global da EDSS foi de 4.88 ± 0.35 , predominando a incapacidade mais grave de prejuízo funcional.

5.1 Análise de LGA

A partir da análise de LGA, utilizando as imagens em 3D-T1 e 3D-FLAIR, obtivemos o tamanho médio das lesões (11.4 ± 13.1 centímetros³) (média \pm desvio padrão), e a quantidade das lesões que variou de 0 a 85 lesões/indivíduo (figura 4). Levando-se em conta apenas os indivíduos do tipo EMRR o tamanho médio das lesões foi de 10.9 ± 13.2 centímetros cúbicos (média \pm desvio padrão), enquanto que para o tipo EMSP o tamanho médio foi de 15.1 ± 12.3 centímetros.

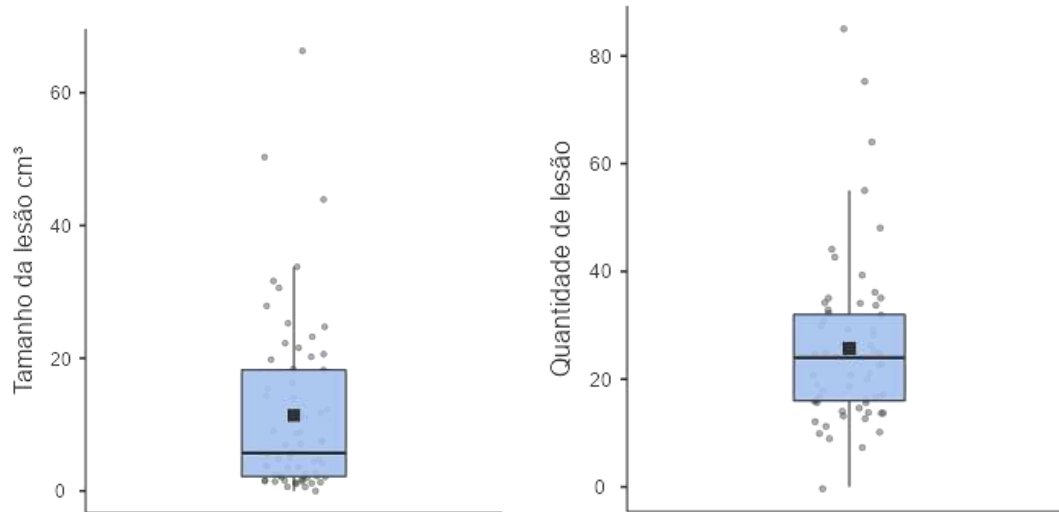


Figura 4 – Distribuição da extensão média das lesões e da quantidade de lesões observadas nos exames de ressonância magnética dos pacientes da amostra (média \pm desvio padrão).

Ao fazermos a correlação entre a extensão da lesão, quantidade de lesão e a pontuação total da EDSS, nós observamos correlações positivas entre a quantidade de lesão e a extensão das lesões ($Rho = 0.571$; $p < 0.001$), e entre a extensão da lesão e a pontuação total da EDSS ($Rho = 0.410$; $p < 0.001$). Não foi observada correlação entre a quantidade de lesões e a pontuação total da EDSS.

Com relação aos pacientes do tipo EMRR, nós observamos uma correlação positiva entre a extensão da lesão e a quantidade de lesão ($Rho = 0.606$; $p < 0.001$), entre a quantidade de lesão e a pontuação total da EDSS ($Rho = 0.309$; $p < 0.019$), e entre a extensão da lesão e a pontuação total da EDSS ($Rho = 0.435$; $p < 0.001$).

5.2 Análise morfométrica

A partir da análise de VBM, utilizando as imagens em 3D-T1, nós realizamos a análise de volume de SC e SB, tendo como referência o volume intracraniano total (TIV) do SPM12. Para esta análise utilizamos como efeito de comparação a pontuação total da EDSS, a extensão das lesões, a quantidade de lesões, o sexo, a idade, EDSS*extensão das lesões, EDSS*sexo e EDSS*idade.

A tabela 2 sumariza os resultados que serão descritos em detalhes na sequência.

Tabela 2 - Regiões com alteração no volume encefálico utilizando como efeito a pontuação total da EDSS, a extensão das lesões, o sexo, a idade, a EDSS*extensão das lesões, a EDSS*sexo e a EDSS*idade.

EDSS	Tamanho do Cluster (voxel)	p^{\dagger} FWE	T	Coordenadas MNI
------	----------------------------	-------------------	---	-----------------

				(x	y	z)
Cluster 1	1089	0.028	- 3.24	- 20	- 66	52
Cluster 2	1265	0.014	- 3.24	- 24	0	- 21
Extensão da Lesão	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	1055	0.032	7.19	36	- 39	18
Cluster 2	2000	0.001	6.48	- 27	- 66	15
Cluster 3	5953	< 0.001	9.19	36	- 39	18
Cluster 4	9247	< 0.001	- 3.24	15	- 4	3
Sexo	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	2212	0.001	4.81	42	- 30	32
Cluster 2	3003	< 0.001	5.59	0	27	9
Idade	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	1879	0.002	- 4.85	42	- 14	48
Cluster 2	6154	< 0.001	- 5.13	52	16	- 8
EDSS*Lesão	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	995	0.041	- 3.24	-15	26	38
Cluster 2	1026	0.036	- 3.24	- 20	2	- 24
Cluster 3	1056	0.032	- 3.24	- 42	6	- 34
Cluster 4	1332	0.011	- 3.24	- 16	- 63	46
EDSS*Sexo	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	2171	0.001	5.46	0	27	9
EDSS*Idade	Tamanho do Cluster (voxel)	p† FWE	T	Coordenadas MNI		
				(x	y	z)
Cluster 1	1241	0.016	- 3.24	- 21	22	-20
Cluster 2	1665	0.003	- 3.24	-40	0	-12

Cluster 3	1737	0.003	- 3.24	-22	-57	28
Cluster 4	2317	< 0.001	- 3.24	-26	46	46
Cluster 5	2944	< 0.001	- 3.24	-22	-30	-28

FWE: family-wise error rate $p < 0.001$ (tamanho do cluster > 100 voxels); T: limiar de altura em $p < 0.001$ corrigido; MNI: Instituto Neurológico de Montreal Atlas (coordenadas em mm).

5.2.1 Pontuação da EDSS

Para a pontuação total do EDSS nós obtivemos dois cluster com significância estatística presente no hemisfério esquerdo do encéfalo. Nestes clusters observamos que quanto maior o valor da pontuação total da EDSS, maior foi a perda volumétrica. O primeiro cluster constituído por 1089 voxels, compreendeu as regiões do lobo parietal, lobo occipital, lobo temporal, sulco calcarino, cuneus e área de brodmann (7, 18 e 31). Já o segundo cluster, formado por 1265 voxels, compreendeu as regiões do lobo temporal, hipocampo, giro-parahipocampal, amígdala, núcleo caudado, ventrículo lateral e área de brodmann (20, 28, 43, 35 e 36) (Figura 5).

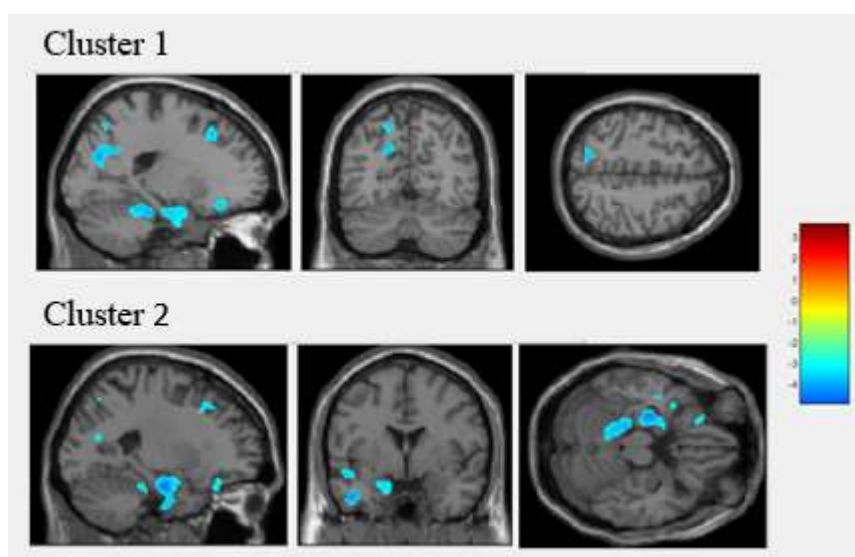


Figura 5 – Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em azul) utilizando como efeito a pontuação total da EDSS.

5.2.2 Extensão das lesões

Levando-se em conta a extensão das lesões, nós obtivemos quatro clusters com significância estatística. Os três primeiros clusters apresentaram um aumento do volume encefálico das regiões, enquanto no quarto cluster, houve uma diminuição do volume.

O primeiro cluster, formado por 1055 voxels, compreendeu as regiões do lobo frontal, lobo parietal, giro cingulado, giro pós central, giro pré central, cuneus, precuneus

e área brodmann 31. O segundo cluster, formado por 2000 voxels, envolveu o lobo occipital, lobo temporal, corpo caloso, hipocampo, giro parahipocampal, giro temporal médio, giro temporal superior, cuneus, precuneus, núcleo caudado, e área brodmann (13, 18, 22, 31 e 36). Por fim, o terceiro cluster, composto por 5953, compreendeu as regiões do lobo frontal, lobo occipital, lobo temporal, lobo parietal, giro parahipocampal, hipocampo, sulco calcarino, precuneus e área de brodmann 30, 13, 19, 23, 24, 29, 31, 32, 36, 37 e 41). Nestes três clusters, quanto maior a extensão da lesão houve um aumento no volume encefálico. O quarto cluster demonstrou uma redução volumétrica quanto maior a extensão da lesão. Este cluster, formado por 9247, compreendeu as regiões do putâmen, núcleo caudado, núcleo caudado, globo pálido lateral, corpo mamilar, núcleo subtalâmico, corpo caloso, claustro, corpo geniculado medial e lateral, substância negra, hipotálamo e hipocampo (Figura 6).

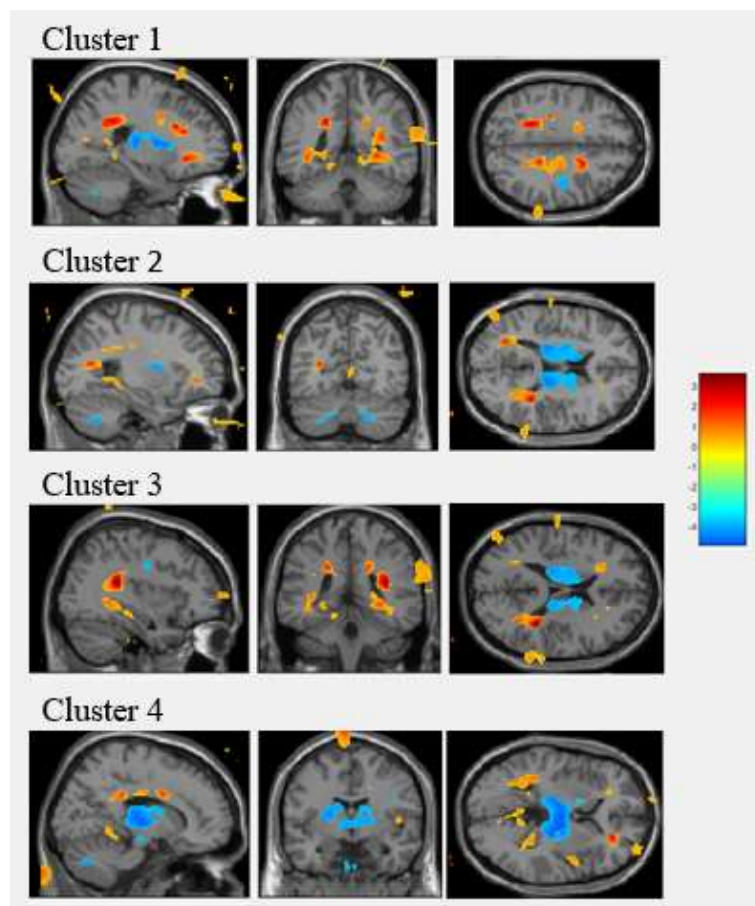


Figura 6 – Regiões encefálicas com diminuição (áreas em azul) e aumento (vermelho) volumétrico utilizando como efeito a extensão das lesões.

5.2.3 Quantidade de lesões

Para a quantidade de lesão obtivemos um único cluster, porém sem significância estatística (pFWE-corr: 0.994).

5.2.4 Sexo

Levando-se em conta o sexo, nós observamos que independente de ser do gênero feminino ou masculino, houve a formação de dois clusters. Nestes clusters foi observado um aumento volumétrico. O primeiro cluster, formado por 2212 voxels, compreendeu as regiões do lobo frontal, lobo temporal, lobo parietal, giro pré e pós-central, giro temporal superior e área de brodmann (2, 3, 4, 6, 9, 13, 22, 40, 42, 43 e 44). O segundo cluster, formado por 3003 voxels, envolveu as regiões do lobo frontal, corpo caloso, núcleo caudado, giro cingulado e área de brodmann (24, 32 e 33) (Figura 7).

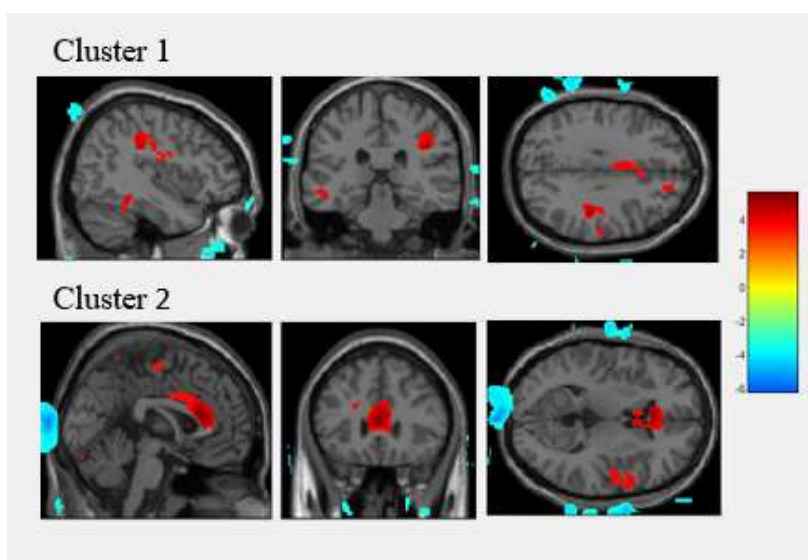


Figura 7 – Regiões encefálicas com aumento volumétrico (áreas em vermelho) utilizando como efeito o sexo.

5.2.5 Idade

Com relação à idade, nós observamos a presença de dois clusters apenas no hemisfério direito do encéfalo. Nestes clusters observamos que quanto maior a idade, maior foi a perda volumétrica. O primeiro cluster, formado por 1879, envolveu as regiões do lobo frontal, lobo parietal, giro pós e pré-central, giro frontal médio e inferior, e área de brodmann (3, 4 e 6). O segundo cluster, formado por 6154, envolveu as regiões do lobo temporal, lobo occipital, lobo parietal, lobo frontal, giro temporal superior e médio, giro frontal inferior e área de brodmann (6, 13, 19, 21, 22, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 e 47) ((Figura 8).

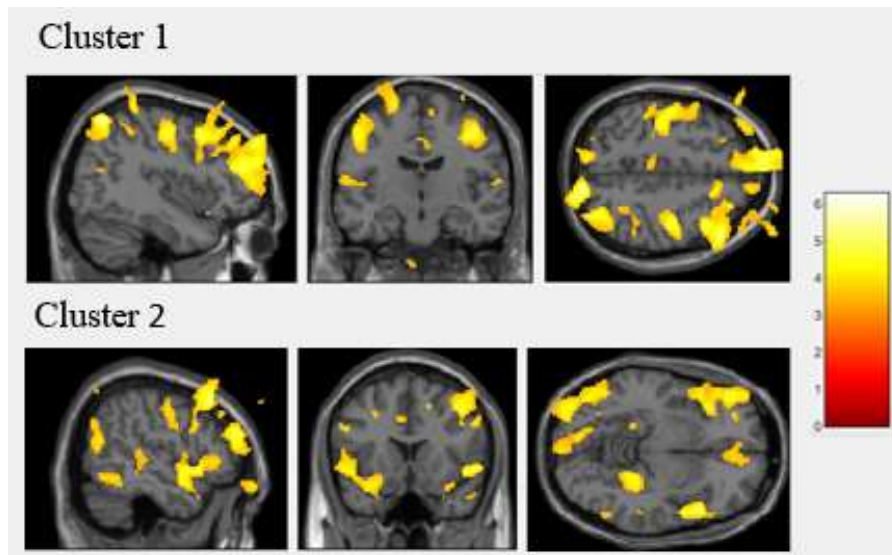


Figura 8 – Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a idade.

5.2.6 EDSS*Extensão das lesões

Na análise da interação EDSS*extensão das lesões, nós observamos que quanto maior a pontuação total da EDSS e maior a extensão da lesão, houve uma diminuição do volume do hemisfério cerebral esquerdo. Com esta interação observamos quatro clusters com significância. O primeiro cluster, formado por 995 voxels, envolveu as regiões do lobo frontal, giro frontal medial, giro frontal médio, giro cingulado, giro frontal superior e área de brodmann (6, 8, 24 e 32). O segundo cluster, formado por 1026 voxels, compreendeu as regiões do lobo temporal, núcleo caudado, amígdala, giro parahipocampal, hipocampo e área de brodmann (20, 28, 34, 35 e 36). O terceiro cluster foi constituído por 1056 voxels e envolveu as regiões do lobo temporal, insular, giro temporal superior, inferior e médio, e área de brodmann (13, 20, 21, 22 e 38). Por fim, o quarto cluster, formado por, compreendeu as regiões do lobo parietal, lobo occipital, lobo temporal, cúneo, núcleo calcâneo, e área de brodmann (7, 18 e 31) (Figura 9).

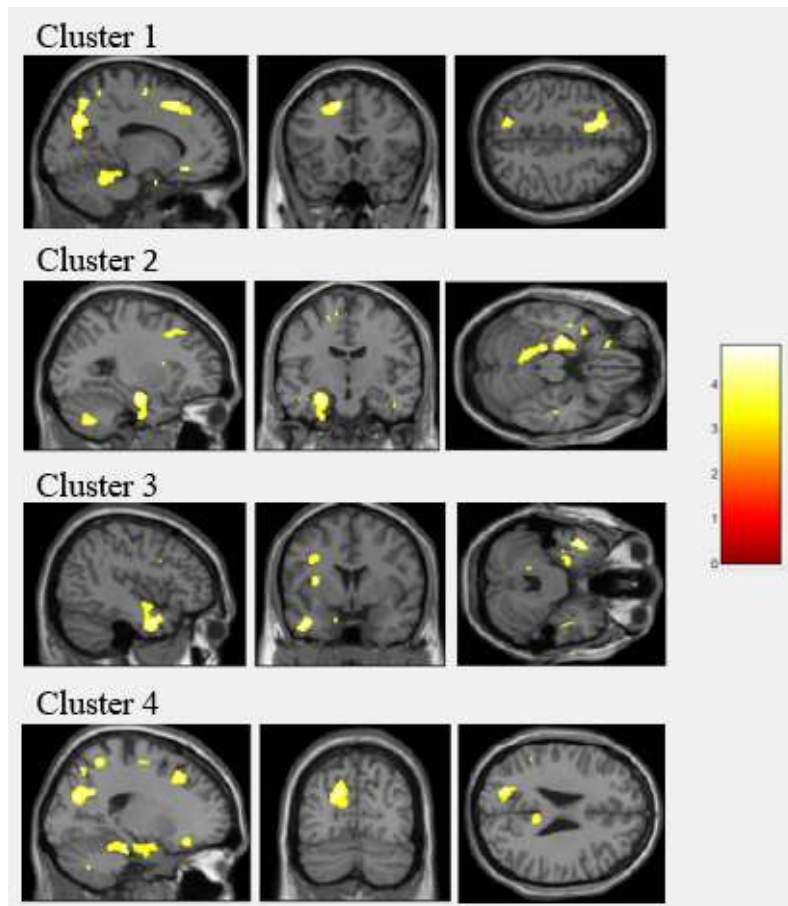


Figura 9 – Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a interação EDSS*Extensão das lesões.

5.2.7 EDSS*Sexo

Na interação EDSS*sexo, nós obtivemos um único cluster com significância estatística. Este cluster está localizado nas mesmas coordenadas (0 27 9) do cluster formado na análise por sexo, demonstrando que não há efeito da interação sexo*EDSS.

5.2.8 EDSS*Idade

Os resultados da interação EDSS*idade demonstrou a presença de cinco clusters com redução volumétrica no hemisfério esquerdo do cérebro. O primeiro cluster foi constituído por 1241 voxels. Este compreendeu as regiões do lobo frontal, giro frontal inferior e médio, cíngulo anterior, giro subcaloso e área de brodmann (10, 11, 32 e 47). O segundo cluster, formado por 1665 voxels, envolveu as regiões do lobo temporal, lobo frontal, insula, giro temporal superior, giro frontal inferior, giro temporal médio e inferior, e área de brodmann (13, 20, 21, 22, 28 e 38). O terceiro foi formado por 1737 voxels e compreendeu as regiões do lobo parietal, lobo temporal, lobo occipital, cíngulo posterior, giro do cíngulo, cúneo e área de brodmann (7, 18 e 31).

O quarto cluster, formado por 2317 voxels, envolveu as regiões do lobo frontal, giro frontal superior e medial, giro cingulado, cingulado anterior, e área de brodmann (6, 8, 9, 24 e 32). Por fim, o quinto cluster, formado por 2944, compreendeu as regiões do lobo occipital, lobo temporal, parahipocampo, hipocampo, amígdala, núcleo caudado, cerebelo, lobo anterior do cerebelo, e culmen do cerebelo (Figura 10).

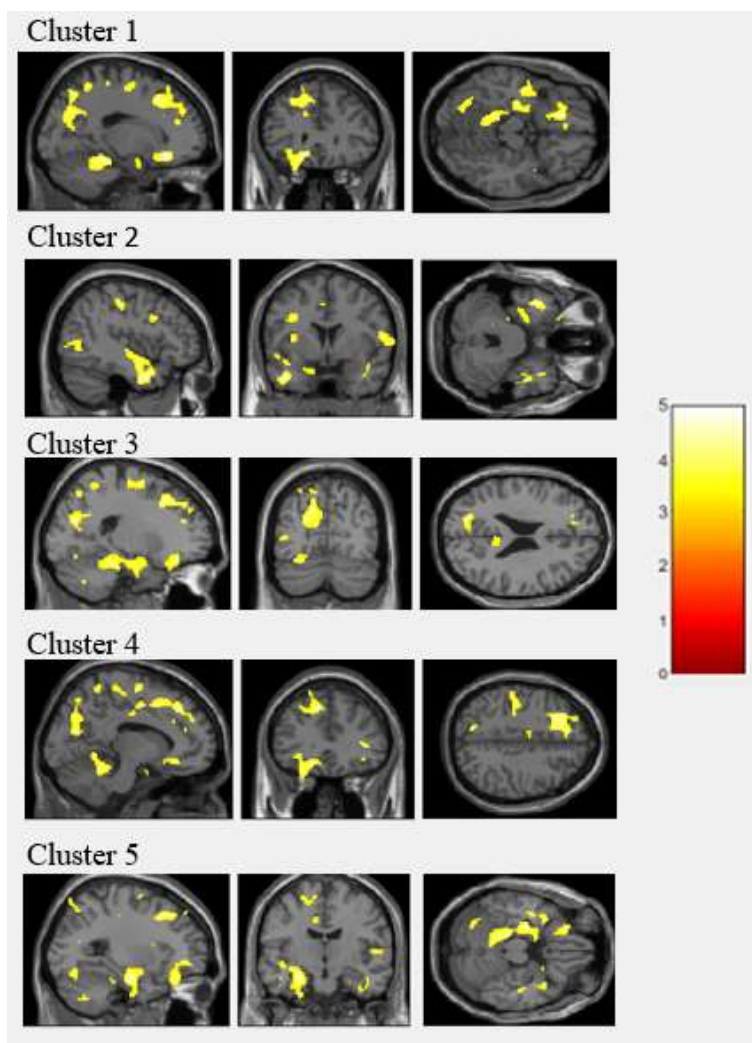


Figura 10 – Regiões encefálicas com diminuição volumétrica (áreas em amarelo) utilizando como efeito a interação EDSS*Idade.

6. DISCUSSÃO

Nossos dados demonstraram que a maioria dos indivíduos com EM foram mulheres, jovens, casadas, com mais de 12 anos de estudo. Com base nos valores da pontuação total da EDSS, a maioria dos indivíduos apresentaram prejuízo funcional na categoria de incapacidade mínima. Houve uma maior prevalência no estudo de pacientes com diagnóstico clínico para o tipo EMRR, entretanto, observou-se uma maior pontuação total da EDSS para os indivíduos com EMSP. Além disso, nossos dados demonstraram

que os indivíduos apresentaram uma correlação positiva entre a quantidade e o tamanho das lesões, e entre a extensão da lesão e a pontuação total da EDSS. Por fim, a partir da análise de VBM, nós observamos regiões com diminuição e aumento volumétrico, totalizando 20 clusters. Destaca-se a presença de dois clusters associados ao efeito da pontuação total da EDSS, quatro clusters associados aos efeitos da extensão da lesão; dois clusters associados aos efeitos do sexo; dois clusters associados aos efeitos da idade, quatro clusters associados aos efeitos da interação entre EDSS*extensão da lesão, um cluster associado aos efeitos da interação entre EDSS*sexo, e cinco clusters associados aos efeitos da interação entre EDSS*idade.

Nossos dados sociodemográficos se assemelharam aos dados da literatura, que confirmam a maior prevalência de indivíduos com diagnóstico clínico para EM do sexo feminino, que se autodeclararam brancos e casados, e com 12 anos ou mais de estudo (2º grau completo) (Rivas-Rodríguez & Amezcua, 2018; Wallin *et al.*, 2019; King, 2020). Além disso, a literatura descreve que a EM é uma doença encontrada comumente em adultos jovens (Carter, 1946), corroborando com os achados em nosso estudo, onde nós observamos uma maior predominância de indivíduos jovens.

Dentre os tipos de EM, tem-se a recorrente-remitente (EMRR), primária progressiva (EMPP), secundária progressiva (EMSP) e progressiva com surtos (EMPS). A literatura descreve que o curso clínico mais comum da patologia é o tipo EMRR (Teixeira *et al.*, 2022). Em nosso estudo, os indivíduos apresentaram apenas duas das quatro categorias de classificação para EM, sendo essas EMRR e EMSP, com maior um maior predomínio do tipo EMRR, corroborando com a literatura. Não foram observados indivíduos com o diagnóstico clínico de EMPP e EMPS.

Como a EM é uma doença desmielinizante e progressiva, a EDSS é utilizada para delinear o desenvolvimento clínico da doença e avaliar o impacto do tratamento (Inojosa, Schriefer & Ziemssen, 2020). Em nossos dados, os pacientes apresentaram pontuação total para a EDSS que os categorizou principalmente com prejuízo funcional de incapacidade mínima. Nesta categoria, os pacientes não necessitam do uso de auxiliares de locomoção. Além disso, nós observamos que os pacientes com o tipo EMSP apresentaram valores maiores na pontuação da EDSS em relação aos pacientes com o tipo EMRR. A literatura descreve a EMSP como um tipo no qual o paciente apresenta inicialmente surtos e remissões e, após algum tempo, a doença se torna progressiva e o paciente piora de forma lenta, sem que obrigatoriamente tenha novos surtos. Dessa forma, a maior pontuação no EDSS nos pacientes com EMSP deve-se à característica

progressiva, com piora lenta e gradual da doença, em relação aos pacientes com EMRR (Inojosa, Schriefer & Ziemssen, 2020; Teixeira *et al.*, 2022).

Com relação à análise de LGA, uma ferramenta de segmentação de lesões usada para identificar áreas de dano no cérebro e na medula espinhal associadas à doença (Schmidt *et al.*, 2019), nós obtivemos os valores da extensão da lesão e da quantidade de lesões. As lesões podem ocorrer em vários locais no encéfalo e podem variar em tamanho, forma e gravidade, estando diretamente envolvidas com a sintomatologia da doença, como fadiga, comprometimento cognitivo e disfunção da bexiga ou do intestino (Cheng & Chen, 2014; Zeydan & Kantarci, 2018). Os nossos dados apontam que quanto maior a extensão da lesão, maior a pontuação total da EDSS, corroborando com os dados da literatura, uma vez que o aumento da extensão da lesão está fortemente associado à incapacidade física medida pela EDSS (Moridi *et al.*, 2022). No entanto, não observamos relação entre o número de lesões e o grau de incapacidade avaliado pela EDSS.

Na análise morfológica, a partir técnica de VBM, nós identificamos um total de 20 clusters formados com mais de 100 voxels. Como comprovado em estudos da literatura, o VBM provou ser capaz de capturar assimetrias de SC e SB com uma especificidade regional alta (Kurth, Gaser & Luders, 2015). Apesar de não se tratar de uma estudo caso-controle, nós conseguimos identificar se as alterações identificadas foram de diminuição ou aumento de volume encefálico a partir do volume de referência da ferramenta de análise utilizada. Dentre os nossos achados, utilizando como efeito a pontuação total da EDSS, nós identificamos uma prevalência de atrofia nas regiões dos lobos frontal, parietal, e temporal, assim como a amígdala, hipocampo e núcleo caudado. Essas regiões cerebrais estão envolvidas com diversas circuitarias, mas de relevância para o estudo, aquelas envolvidas no controle de funções cognitivas, sensoriais e espaciais (Whitwell, 2009, Purves *et al.*, 2012; McGinley *et al.*, 2021). Assim, a diminuição volumétrica observada nas imagens de RM de acordo com o aumento da pontuação total da EDSS, corrobora com as características sintomáticas observadas em nossos pacientes, mostrando a contribuição do método como ferramenta para análise da evolução clínica característica da EM (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017).

Além da diminuição volumétrica quando associada à pontuação da EDSS, nós observamos diminuição volumétrica quando associada ao sexo e à idade. Com relação ao sexo não foi observada diferença volumétrica nas regiões cerebrais em relação ao gênero feminino e masculino. Portanto apesar da literatura observar uma maior prevalência de

EM no gênero feminino, o sexo não exerceu efeito direto na alteração volumétrica destes pacientes com EM (Rivas-Rodríguez & Amezcua, 2018; Wallin *et al.*, 2019; King, 2020).

Já em relação à idade, a atrofia de regiões cerebrais observadas em nosso estudo corrobora com os dados da literatura que demonstram que conforme o aumento da idade, ocorre maior a perda volumétrica de regiões associadas com a cognição e memória (Matsuda, 2019; Shaw *et al.*, 2020). O envelhecimento é um processo natural, caracterizado por alterações cognitivas, funcionais e bioquímicas que contribuem para o surgimento de algumas patologias ou influenciam no curso das doenças, aumentando sua gravidade (Barter & Foster, 2018; Kolb, Harker & Gibb, 2017). Este processo caracteriza-se pelo aumento da predisposição ao surgimento de placas amiloides, aumento de processos inflamatórios, distrofia sináptica, perda neuronal e redução de do volume cerebral, principalmente em áreas do hipocampo e córtex pré-frontal (Beheshti, Maikusa & Matsuda, 2019; Shaw *et al.*, 2020). Assim, nossos dados corroboram com a literatura, uma vez que foi observado maiores perdas volumétricas, como efeito da idade, nas regiões do lobo frontal, temporal e parietal, e regiões amigdalares e hipocampais. Este efeito de perda volumétrica foi intensificado quando realizamos a interação entre a EDSS*idade, uma vez que foi observado uma maior quantidade de clusters. Assim, quanto maior a pontuação total da EDSS e maior a idade, maior perda do volume encefálico. Estes resultados corroboram com a literatura, uma vez que a EM é uma doença neurodesmielinizante, crônica e sem cura, que tende a progredir com o avançar da idade, sendo sua progressão evidenciada pela pontuação total do EDSS (Kurtzke, 1983; Van Munster & Uitdehaag, 2017; Çinae & Yorgun, 2018).

Com relação à extensão das lesões, foi possível observar um aumento volumétrico. Este aumento pode estar relacionado ao processo inflamatório e edema presente no encéfalo desses pacientes, característico da EM (Zeydan & Kantarci, 2018). A inflamação pode levar ao aumento do edema na área afetada, resultando em lesões que podem danificar o tecido nervoso, levando à reorganização do mesmo e resultando no aumento de volume (Chard *et al.*, 2002; Rocca, Comi & Filippi, 2015). Assim, os nossos achados de aumento volumétrico parecem estar relacionados ao edema característico do curso clínico da doença e não devido ao ganho de volume cerebral. Entretanto, quando observada a interação EDSS*extensão da lesão, os dados intensificam a perda volumétrica nestes pacientes, reforçando o comprometimento cerebral. Neste sentido, o grau de extensão da lesão e a pontuação total da EDSS estão diretamente associados à perda volumétrica.

Em suma, a EDSS é uma escala que vem mostrando ser útil para descrever a progressão da doença em indivíduos com EM, por se correlacionar com as alterações cerebrais morfológicas. Assim, o aprimoramento da relação entre a imagem e os sintomas físicos e cognitivos, poderá ser uma ferramenta importante na clínica médica para avaliar o acompanhamento da progressão da doença (Meyer-Moock *et al.*, 2014).

7. CONCLUSÃO

Com base em nossos achados nós podemos concluir que quanto maior a extensão das lesões de substância branca no cérebro, maior a pontuação total do grau de incapacidade analisado pela EDSS, mas o número de lesões não exerceu influência sobre esta análise clínica. Com relação ao volume de regiões cerebrais, quanto maior a pontuação na EDSS, maior perda de volume em diversas regiões associadas às capacidades cognitivas, sensoriais e espaciais. Nestes pacientes, a idade potencializou a perda volumétrica em diversas áreas, sendo que o sexo não exerceu influência. A extensão das lesões foi associada a aumento volumétrico em diversas áreas, provavelmente associada ao edema cerebral provocado pela presença das lesões ativas. O número de lesões não exerceu influência volumétrica.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Absinta M, Sati P, Schindler M, Leibovitch EC, Ohayon J, Wu T, Meani A, Filippi M, Jacobson S, Cortese ICM, Reich DS. **Persistent 7-tesla phase rim predicts poor outcome in new multiple sclerosis patient lesions.** *J Clin Invest.* 2016; 126 (7): 2597–2609. doi: 10.1172 / JCI86198.

Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, Fredrikson S, Gallo P, Grimaldi LM, Gronning M, Keir G, Lamers K, Link H, Magalhães A, Massaro AR, Öhman S, Reiber H, Rönnbäck L, Schlupe M, Schuller E, Sindic CJM, Thompson EJ, Trojano M, Wurster U. **Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report.** *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* V. 57, n.8, p. 897-902, 1994.

Ashburner j, Friston KJ. **Voxel-Based Morphometry—The Methods.** *NeuroImage.* 2000, <https://doi.org/10.1006/nimg.2000.0582>.

Barkhof F. **MRI in Multiple Sclerosis: Correlation With Expanded Disability Status Scale (EDSS).** *Multiple Sclerosis Journal*. 1999. V. 5, n. 04, p. 283-286.

Battaglini M, Jenkinson M, Stefano ND and De Stefano N. **Evaluating and reducing the impact of white matter lesions on brain volume measurements.** *Human Brain Mapping*. 2012, 33(9):2062–71.

Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. **Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges.** *Lancet*. 2017 Apr 1;389(10076):1336-1346. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30959-X. Epub 2016 Nov 24. PMID: 27889190.

Brownlee WJ, Hardy TA, Fazekas F, Miller DH. **Multiple Sclerosis 1. Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges.** *Lancet*. 2016; 389(10076): 1336-46.

Carter HR. **Multiple sclerosis in childhood.** *Am J Dis Child (1911)*. 1946 Feb;71:138-49. doi: 10.1001/archpedi.1946.02020250028003. PMID: 21020006.

Çinar BP, Yorgun YG. **What We Learned from The History of Multiple Sclerosis Measurement: Expanded Disability Status Scale.** *Noro Psikiyatr Ars*. 2018, V. 1, n. 55, p. S69-S72.

Ciolac D, Gonzalez-Escamilla G, Winter Y, Melzer N, Luessi F, Radetz A, Fleischer V, Groppa SA, Kirsch M, Bittner S, Zipp F, Muthuraman M, Meuth SG, Grothe M, Groppa S. **Altered grey matter integrity and network vulnerability relate to epilepsy occurrence in patients with multiple sclerosis.** *Eur J Neurol*. 2022 Aug;29(8):2309-2320. doi: 10.1111/ene.15405. Epub 2022 Jun 5. PMID: 35582936.

Charcot JM. **Histologie de la sclerose en plaques.** *Gaz Hop*. 1868. Paris 41: 554-566.

Chard DT, Griffin CM, Parker GJ, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH. **Brain atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis.** *Brain*. 2002 Apr;125(Pt 4):327-37. doi: 10.1093/brain/awf040. PMID: 11912106.

Chard DT, Jackson JS, Miller DH and Wheeler-Kingshott CAM. **Reducing the impact of white matter lesions on automated measures of brain gray and white matter volumes.** *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2010, 32:223–228.

Cheng W, Chen G. **Chemokines and Chemokine Receptors in Sclerosis Multiple.** *Mediators Of Inflammation.* V. 2014, p. 1-8, 2014.

Cook DS, Jalbut DS, Dowling P. et al. **Use of Magnetic Resonance Imaging as Well as Clinical Disease Activity in the Clinical Classification of Multiple Sclerosis and Assessment of Its Course: A Report From an Internacional CMSC Consensus Conference.** *International Journal of MS Care.* V. 14, n. 03 p. 104-105, 2012.

Costello F, Coupland S, Hodge W, Lorello GR, Koroluk J, Pan YI, Freedman MS, Zackon DH and Kardon RH. **Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography.** *Ann Neurol.* 2006. 59(6): 963-969.

DeLuca GC, Yates RL, Beale H, Morrow SA. **Cognitive impairment in multiple sclerosis: clinical, radiologic and pathologic insights.** *Brain Pathol.* 2015 Jan;25(1):79-98. doi: 10.1111/bpa.12220. PMID: 25521179.

De Stefano N, Airas L, Grigoriadis N, Mattle HP, O'Riordan J, Oreja-Guevara C, Sellebjerg F, Stankoff B, Walczak A, Wiendl H, Kieseier BC. **Clinical relevance of brain volume measures in multiple sclerosis.** *CNS Drugs.* 2014 Feb;28(2):147-56. doi: 10.1007/s40263-014-0140-z. PMID: 24446248.

Ding Z, Newton TA, Xu R, et al. **Spatio-temporal Correlation Tensors Reveal Functional Structure in Human Brain.** *Plos One.* V. 8, n.12, p. 1-2, 2013.

Eijlers AJC, van Geest Q, Dekker I, Steenwijk MD, Meijer KA, Hulst HE, Barkhof F, Uitdehaag BMJ, Schoonheim MM, Geurts JJG. **Predicting cognitive decline in multiple sclerosis: a 5-year follow-up study.** *Brain.* 2018 Sep 1;141(9):2605-2618. doi: 10.1093/brain/awy202. PMID: 30169585.

Eshaghi A, Marinescu RV, Young AL, Firth NC, Prados F, Jorge Cardoso M, Tur C, De Angelis F, Cawley N, Brownlee WJ, De Stefano N, Laura Stromillo M, Battaglini M, Ruggieri S, Gasperini C, Filippi M, Rocca MA, Rovira A, Sastre-Garriga J, Geurts JJG, Vrenken H, Wottschel V, Leurs CE, Uitdehaag B, Pirpamer L, Enzinger C, Ourselin S, Gandini Wheeler-Kingshott CA, Chard D, Thompson AJ, Barkhof F, Alexander DC, Ciccarelli O. **Progression of regional grey matter atrophy in multiple sclerosis.** *Brain.* 2018 Jun 1;141(6):1665-1677. doi: 10.1093/brain/awy088. PMID: 29741648; PMCID: PMC5995197

da Gama Pereira AB, Sampaio Lacativa MC, da Costa Pereira FF, Papais Alvarenga RM. **Prevalence of multiple sclerosis in Brazil: A systematic review.** *Mult Scler Relat Disord.* 2015 Nov;4(6):572-9. doi: 10.1016/j.msard.2015.08.004. Epub 2015 Aug 15. PMID: 26590664.

Filippi M, Rocca MA, Ciccarelli O, De Stefano N, Evangelou N, Kappos L, Rovira A, Sastre-Garriga J, Tintorè M, Frederiksen JL, Gasperini C, Palace J, Reich DS, Banwell B, Montalban X, Barkhof F; MAGNIMS Study Group. **MRI criteria for the diagnosis of multiple sclerosis: MAGNIMS consensus guidelines.** *Lancet Neurol.* 2016 Mar;15(3):292-303. doi: 10.1016/S1474-4422(15)00393-2. Epub 2016 Jan 26. PMID: 26822746; PMCID: PMC4760851.

Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM. **Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain.** *Neuron.* 2002. 33 (3), 341–355.

Frischer JM, Weigand SD, Guo Y, Kale N, Parisi JE, Pirko I, Mandrekar J, Bramow S, Metz I, Bruck W, Lassmann H, Lucchinetti CF. **Clinical and pathological insights into the dynamic nature of the white matter multiple sclerosis plaque.** 2015. *Annals of Neurology.* 78(5), 710–721. doi:10.1002/ana.24497.

Georgeto SM, Zicarelli CAM, Gariba MA, Aguiar LR. **T1-weighted gradient-echo imaging, with and without inversion recovery, in the identification of anatomical structures on the lateral surface of the brain.** *Bras.* 2016 Nov/Dez;49(6):382–388.

Graham MA, Brok J, Kurth F. **Estriol-Mediated Neuroprotection in Multiple Sclerosis Localized By Voxel-Based Morphometry.** *Brain and Behavior.* 2018. V. 8, n. 09, p. 1-3.

González-Villà S, Oliver A, Valverde S, Wang L, Zwigelaar R, Lladó X. **A review on brain structures segmentation in magnetic resonance imaging.** *Artif Intell Med.* 2016 Oct;73:45-69. doi: 10.1016/j.artmed.2016.09.001. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27926381.

González-Villà S, Valverde S, Cabezas M, Pareto D, Vilanova JC, Ramió-Torrentà L, Rovira À, Oliver A, Lladó X. **Evaluating the effect of multiple sclerosis lesions on**

automatic brain structure segmentation. *Neuroimage Clin.* 2017 May 8;15:228-238. doi: 10.1016/j.nicl.2017.05.003. PMID: 28540179; PMCID: PMC5430150.

Healy BC, Engler D, Glanz B, Musallam A, Chitnis T. **Assessment of definitions of sustained disease progression in relapsing-remitting multiple sclerosis.** *Mult Scler Int.* 2013;2013:189624. doi: 10.1155/2013/189624. Epub 2013 Mar 10. PMID: 23555057; PMCID: PMC3608311.

Howard J, Trevick S, Younger DS. **Epidemiology of Multiple Sclerosis.** *Neurol Clin.* 2016 Nov;34(4):919-939. doi: 10.1016/j.ncl.2016.06.016. Epub 2016 Aug 18. PMID: 27720001.

Inojosa H, Schriefer D, Ziemssen T. **Clinical outcome measures in multiple sclerosis: A review.** *Autoimmun Rev.* 2020 May;19(5):102512. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102512. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32173519.

Katsara M, Apostolopoulos V. **Editorial: Multiple Sclerosis: Pathogenesis and Therapeutics.** *Med Chem.* 2018 Feb 6;14(2):104-105. doi: 10.2174/157340641402180206092504. PMID: 29453907.

Khan F, Amatya B, Kesselring J. et al. **Telerehabilitation for Persons With Multiple Sclerosis.** *Cochrane Database of Systematic Reviews.* V. 04, n. 105, p. 8-9, 2015.

King R. **Atlas da EM 3ª edição.** 2020. disponível em: http://abem.org.br/wp-content/uploads/2020/09/AtlasOfMS_3rdEdition_traduzido.pdf e <https://www.atlasofms.org/map/canada/epidemiology/number-of-people-with-ms>

Kobelt G, Teich V, Cavalcanti M, Canzonieri AM. **Burden and cost of multiple sclerosis in Brazil.** *PLoS One.* 2019 Jan 23;14(1):e0208837. doi: 10.1371/journal.pone.0208837. PMID: 30673707; PMCID: PMC6343964.

Kappos L, Weinshenker B, Pozzilli C, Thompson AJ, Dahlke F, Beckmann K, Polman C, McFarland H; European (EU-SPMS) Interferon beta-1b in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Trial Steering Committee and Independent Advisory Board; North American (NA-SPMS) Interferon beta-1b in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Trial Steering Committee and Independent Advisory Board. **Interferon beta-1b in**

secondary progressive MS: a combined analysis of the two trials. *Neurology*. 2004 Nov 23;63(10):1779-87. doi: 10.1212/01.wnl.0000145561.08973.4f. PMID: 15557490.

Kular L, Liu Yun, Ruhrmann S, et al. **DNA Methylation as Mediator of HLA-DR1*15:01 And a Protective Variant In Multiple Sclerosis.** *Nature Communications*. V. 09, n. 2397, p. 2-4, 2018.

Kurtzke JF. **Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS).** *Neurology*. 1983, 33(11): 1444-1452.

Langer-Gould A, Brara SM, Beaber BE, Zhang JL. **The incidence of clinically isolated syndrome in a multi-ethnic cohort.** *J Neurol*. 2014 Jul;261(7):1349-55. doi: 10.1007/s00415-014-7349-0. Epub 2014 Apr 29. PMID: 24777692.

Lassmann H, Bruck W, Lucchinetti CF. **The Immunopathology Of Multiple Sclerosis: An Overview.** *Brain Pathol*. V. 17, n. 02, p. 210-218, 2007.

Lassmann H. **Cortical Lesions in Multiple Sclerosis: Inflammation versus Neurodegeneration.** *Brain*. V. 135, n. 10, p. 2904–2905, 2012.

Lassmann H, van Horssen J, Mahad D. **Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis.** *Nat Rev Neurol*. 2012 Nov 5;8(11):647-56. doi: 10.1038/nrneurol.2012.168. Epub 2012 Sep 25. PMID: 23007702.

Lublin FD, Reingold SC. **Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey.** *National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis.* *Neurology*. 1996 Apr;46(4):907-11. doi: 10.1212/wnl.46.4.907. PMID: 8780061.

Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, et al. **Heterogeneity of Multiple Sclerosis Lesions: Implications For The Pathogenesis Of Demyelination.** *Ann Neurol*. V. 47, n. 06, p. 707–717, 2000.

Lucchinetti CF, Popescu BFG, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, Ransohoff RM. **Inflammatory Cortical Demyelination in Early Multiple Sclerosis.** *New England Journal of Medicine*. 2011, 365(23), 2188–2197.

Lycklama GJ. **Reduction Of Brain Volume In MS and Pathology Findings.** *Journal of Neurological Sciences.* V. 233, n. 1-2, p. 199-202, 2005.

Machado SCN. et al. **Recomendações Esclerose Múltipla.** *Academia Brasileira de Neurologia.* V. 01, p. 14, 2012.

Marussich L, Lu HK, Wen H, et al. **Mapping White-Matter Functional Organization at Rest and During Naturalistic Visual Perception.** *Neuroimage.* 2017. V. 146 p. 1128–1141.

Matías-Guiu JA, Cortés-Martínez A, Montero P, Pytel V, Moreno-Ramos T, Jorquera M, Yus M, Arrazola J, Matías-Guiu J. **Identification of Cortical and Subcortical Correlates of Cognitive Performance in Multiple Sclerosis Using Voxel-Based Morphometry.** *Front Neurol.* 2018 Oct 29;9:920. doi: 10.3389/fneur.2018.00920. PMID: 30420834; PMCID: PMC6216547.

Mazerolle LE, D'arcy NCR, Beyea DS. **Detecting Functional Magnetic Resonance Imaging Activation in White Matter: Interhemispheric Transfer Across the Corpus Callosum.** *BMC Neuroscience.* 2008. V. 09, n. 84, p. 4-7.

Mazzola AA. **Ressonância Magnética: Princípios de Formação da Imagem e Aplicações em Imagem Funcional.** *Revista Brasileira de Física Médica.* 2009. V. 3, n. 01, p. 117-119.

McDonald WI, Compston A, Edan G, et al. **Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis.** *Ann Neurol.* 2001; 50(1):121–7. [PubMed: 11456302]

Multiple Sclerosis International Federation, et al. **Atlas da EM.** 2013. V 02, p. 08-09.

Nascimento LF, Kuriyama SN, Fidalgo-Neto AA. **Esclerose Múltipla: Dimensionando os Impactos no Ambiente Ocupacional Brasileiro.** *Firjan.* 2017. V. 01, p. 50-54.

National Multiple Sclerosis Society. **Secondary progressive MS (SPMS).** <https://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS/Secondary-progressive-MS>. Accessed 2022 Ago 29

Nemoto K. **Understanding Voxel-Based Morphometry.** *Brain Nerve.* 2017 May;69(5):505-511. Japanese. doi: 10.11477/mf.1416200776. PMID: 28479527.

Olivito G, Quaranta D, Siciliano L, Caraglia N, Caprara A, Marra C, Leggio M, Silveri MC. **The Cerebellum Is a Key Structure in the Neural Network for Mentalizing: An MRI Study in the Behavioral Variant of Frontotemporal Dementia.** *Biomedicines.* 2022 Nov 11;10(11):2901. doi: 10.3390/biomedicines10112901. PMID: 36428469.

Oreja-Guevara C, Ayuso Blanco T, Brieva Ruiz L, Hernández Pérez MÁ, Meca-Lallana V, Ramió-Torrentà L. **Cognitive Dysfunctions and Assessments in Multiple Sclerosis.** *Front Neurol.* 2019 Jun 4;10:581. doi: 10.3389/fneur.2019.00581. PMID: 31214113; PMCID: PMC6558141.

Patenaude B, Smith SM, Kennedy DN, Jenkinson M. **A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation.** *Neuroimage.* 2011 Jun 1;56(3):907-22. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.02.046. Epub 2011 Feb 23. PMID: 21352927; PMCID: PMC3417233.

Paul F. **Pathology and MRI: exploring cognitive impairment in MS.** *Acta Neurol Scand.* 2016 Sep;134 Suppl 200:24-33. doi: 10.1111/ane.12649. PMID: 27580903.

Pérez-Miralles F, Sastre-Garriga J, Tintoré M, Arrambide G, Nos C, Perkal H, Río J, Edo MC, Horga A, Castelló J, Auger C, Huerga E, Rovira A, Montalban X. **Clinical impact of early brain atrophy in clinically isolated syndromes.** *Mult Scler.* 2013 Dec;19(14):1878-86. doi: 10.1177/1352458513488231. Epub 2013 May 7. PMID: 23652215.

Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. **Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 Revisions to the McDonald criteria.** *Ann Neurol.* 2011; 69(2):292–302. [PubMed: 21387374]

Popescu V, Ran NC, Barkhof F, Chard DT, Wheeler-Kingshott CA, Vrenken H. **Accurate GM atrophy quantification in MS using lesion-filling with co-registered 2D lesion masks.** *Neuroimage Clin.* 2014 Jan 18;4:366-73. doi: 10.1016/j.nicl.2014.01.004. PMID: 24567908; PMCID: PMC3930097.

Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, LaMantia AS, McNamara JO & White LE. **Neuroscience (5th ed.)**. (2012). Sinauer Associates.

Reich DS, Lucchinetti CF & Calabresi PA. **Multiple Sclerosis**. *New England Journal of Medicine*, (2018). 378(2), 169–180. doi:10.1056/nejmra1401483.

Rivas-Rodríguez E, Amezcua L. **Ethnic Considerations and Multiple Sclerosis Disease Variability in the United States**. *Neurol Clin*. 2018 Feb;36(1):151-162. doi: 10.1016/j.ncl.2017.08.007. PMID: 29157396.

Rocca MA, Comi G, Filippi M. **The role of T1-weighted derived measures of neurodegeneration for assessing disability progression in multiple sclerosis**. *Front Neurol*. 2015 Oct 14;6:184. doi: 10.3389/fneur.2015.00184. PMID: 26528104; PMCID: PMC4601314.

Rondina MJ, Caneo KP. **Prontuário Eletrônico do Paciente: Conhecendo as Experiências de Sua Implantação**. *Journal Of Health Informatics*. 2014. V. 6, n. 2, p. 68-69.

Rovira A, Wattjes MP, Tintore M, et al. **Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis-clinical implementation in the diagnostic process**. *Nat Rev Neurol*. 2015; 11(8):471–82. [PubMed: 26149978]

Rudick RA. **Disease-modifying drugs for relapsing-remitting multiple sclerosis and future directions for multiple sclerosis therapeutics**. *Arch Neurol*. 1999 Sep;56(9):1079-84. doi: 10.1001/archneur.56.9.1079. PMID: 10488808.

Sati P, George IC, Shea CD, Gaitián MI, Reich DS. **FLAIR*: A Combined MR Contrast Technique for Visualizing White Matter Lesions and Parenchymal Veins**. *Radiology*. V. 265, n.3, p. 926-932, 2012.

Schmahmann, J.D., Weilburg, J.B. & Sherman, J.C. **The neuropsychiatry of the cerebellum — insights from the clinic**. *Cerebellum* 6, 254–267 (2007). <https://doi.org/10.1080/14734220701490995>.

Şen S. **Neurostatus and EDSS Calculation with Cases**. *Noro Psikiyatir Ars*. 2018;55(Suppl 1):S80-S83. doi: 10.29399/npa.23412. PMID: 30692863; PMCID: PMC6278622.

Site da National MS Society. Disponível em: <http://www.nationalmssociety.org/What-is-MS/Types-of-MS>. Último acesso em agosto de 2022

Sormani MP. **MRI Lesions as a Surrogate For Relapses in Multiple Sclerosis: A Meta-Analysis of Randomised Trials.** *The Lancet Neurology*. V. 12, n. 07, p. 669-676, 2013.

Sormani MP, Arnold DL and De Stefano N. **Treatment effect on brain atrophy correlates with treatment effect on disability in multiple sclerosis.** *Annals of neurology*. 2014. 75(1):43–9.

Stangel M, Fredrikson S, Meinl E, Petzold A, Stuve O, Tumani H. **The utility of cerebrospinal fluid analysis in patients with multiple sclerosis.** *Nat Rev Neurol*. 2013; 9(5): 267-76.

The Multiple Sclerosis International Federation, **Atlas of MS**, 3rd Edição (Setembro 2020). V 03, p. 05-06

Thompson AJ, Banwell BL, Barkhof F, Carroll WM, Coetzee T, Comi G, Correale J, Fazekas F, Filippi M, Freedman MS, Fujihara K, Galetta SL, Hartung HP, Kappos L, Lublin FD, Marrie RA, Miller AE, Miller DH, Montalban X, Mowry EM, Sorensen PS, Tintoré M, Traboulsee AL, Trojano M, Uitdehaag BMJ, Vukusic S, Waubant E, Weinshenker BG, Reingold SC, Cohen JA. **Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria.** *Lancet Neurol*. 2018 Feb;17(2):162-173. doi: 10.1016/S1474-4422(17)30470-2. Epub 2017 Dec 21. PMID: 29275977.

Valverde S, Oliver A, Lladó X. **A white matter lesion-filling approach to improve brain tissue volume measurements.** *Neuroimage Clin*. 2014 Aug 23;6:86-92. doi: 10.1016/j.nicl.2014.08.016. PMID: 25379419; PMCID: PMC4215527.

Valverde S, Oliver A, Roura E, González-Villà S, Pareto D, Vilanova JC, Ramió-Torrentà L, Rovira À, Lladó X. **Automated tissue segmentation of MR brain images in the presence of white matter lesions.** *Med Image Anal*. 2017 Jan;35:446-457. doi: 10.1016/j.media.2016.08.014. Epub 2016 Aug 30. PMID: 27598104.

Van Munster CEP & Uitdehaag BMJ. **Outcome Measures in Clinical Trials for Multiple Sclerosis.** *CNS Drugs*, 2017. 31(3), 217–236. doi:10.1007/s40263-017-0412-5.

Vasconcelos CC, Thuler LC, Rodrigues BC, Calmon AB, Alvarenga RM. **Multiple sclerosis in Brazil: A systematic review.** *Clin Neurol Neurosurg.* 2016 Dec;151:24-30. doi: 10.1016/j.clineuro.2016.07.011. Epub 2016 Sep 20. PMID: 27756020.

Wallin MT, Culpepper WJ, Campbell JD, Nelson LM, Langer-Gould A, Marrie RA, Cutter GR, Kaye WE, Wagner L, Tremlett H, Buka SL, Dilokthornsakul P, Topol B, Chen LH, LaRocca NG. **The prevalence of MS in the United States - A population-based estimate using health claims data.** *Neurology.* Mar 2019, 92 (10) e1029-e1040; DOI: 10.1212/WNL.00000000000007035.

Wattjes MP, Lutterbey GG, Harzheim M, et al. **Higher sensitivity in the detection of inflammatory brain lesions in patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis using high field MRI: an intraindividual comparison of 1.5 T with 3.0 T.** *Eur Radiol.* 2006; 16(9):2067–73. [PubMed: 16649033].

Weinshenker BG, Bass B, et al. **The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. Clinical course and disability.** *Brain.* 1989. 112 (Pt 1): 133-146.

Whitwell JL. **Voxel-Based Morphometry: An Automated Technique for Assessing Structural Changes in the Brain.** *Journal of Neuroscience,* (2009). 29(31), 9661–9664. doi:10.1523/jneurosci.2160-09.2009.

Zeydan B, Kantarci OH. **Progressive Forms of Multiple Sclerosis: Distinct Entity or Age-Dependent Phenomena.** *Neurol Clin.* 2018 Feb;36(1):163-171. doi: 10.1016/j.ncl.2017.08.006. PMID: 29157397.