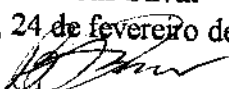


**LEONARDO DE DEUS SILVA**

Este exemplar corresponde à versão final da  
Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso  
de Pós-Graduação Ciências Médicas da  
Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP,  
para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Médicas, área de Neurologia do(a) aluno(a)  
**Leonardo de Deus Silva.**

Campinas, 24 de fevereiro de 2006.

  
Prof(a). Dr(a). Benito Pereira Damasceno  
Orientador(a)

**AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO CEREBRAL DE PACIENTES  
ADULTOS COM DOENÇAS FALCIFORMES ATRAVÉS  
DE SPECT CEREBRAL**

**CAMPINAS**

**2006**

**LEONARDO DE DEUS SILVA**

**AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO CEREBRAL DE PACIENTES  
ADULTOS COM DOENÇAS FALCIFORMES ATRAVÉS  
DE SPECT CEREBRAL**

*Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da  
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de  
Campinas para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas,  
área de concentração em Neurologia.*

**ORIENTADOR: PROF. DR. BENITO PEREIRA DAMASCENO**

**CO-ORIENTADOR: PROF. DR. FERNANDO CENDES**

**CAMPINAS**

**2006**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	JUJUCAMP
	S.38a
V	EX
NUMERO BCI	69649
NUMERO	16.123.06
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
NUMERO	1100
DATA	16.8.06
BIBLIOTECA	384515

Si38a

Silva, Leonardo de Deus  
Avaliação da perfusão cerebral de pacientes adultos com doenças falciformes através de SPECT cerebral / Leonardo de Deus Silva.  
Campinas, SP: [s.n.], 2006.

Orientadores : Benito Pereira Damasceno, Fernando Cendes  
Dissertação ( Mestrado ) Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Anemia falciforme. 2. Diagnóstico por imagem. 3. Medicina nuclear. 4. Perfusão. 5. Doença cerebrovascular. I. Damasceno, Benito Pereira. II. Cendes, Fernando. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Slp/fcm

**Título em inglês : Voxel-based analysis of brain perfusion in adult patients with sickle – cell disease**

**Keywords:** • Sickle cell disease  
• Diagnosis by image  
• Nuclear medicine  
• Perfusion  
• Cerebravascular disease

**Área de concentração : Neurologia**

**Titulação: Mestrado em Ciências Médicas**

**Banca examinadora: Prof Dr Benito Pereira Damasceno  
Prof Dr Ricardo Afonso Teixeira  
Profa. Dra. Carmen Silvia Passos Lima**

**Data da defesa: 24-02-2006**

---

**BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

---

Orientador: Prof. Dr. Benito Pereira Damasceno

**Membros:**

1. Prof. Dr. Benito Pereira Damasceno
2. Prof. Dr. Ricardo Afonso Teixeira
3. Profa. Dra. Carmen Sílvia Passos Lima

Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas, área de concentração em Neurologia da  
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 24/02/06

606 ET 9022

Toda e qualquer realização de um ser humano é fruto de uma infinita interação deste com seus semelhantes, com a natureza e consigo mesmo. É uma soma da participação de todos que de alguma forma fizeram parte da sua Vida. Portanto, seria impossível enumerar todos a quem devo agradecer. Entretanto, nesta empreitada específica, alguns merecem destaque. E a estes o meu muito obrigado!

Aos meus pais Adolpho e Ena por terem me guiado os passos desde meus tenros dias até aqui.

A Janaína pelo companheirismo, pela compreensão e pela paciência.

Ao meu amigo, mestre, guru, psicoterapeuta e orientador, Prof. Benito Damasceno, que sempre acreditou e confiou em mim e que nem sempre respondeu as minhas questões, mas sempre me fez interessantes perguntas!

Aos meus amigos residentes e ex-residentes da UNICAMP, cujo convívio torna meus dias mais interessantes, em especial Erik Chaloult, Marcondes França, Rafael de Castro, Milena, Wagner Avelar, Charles Nascimento, Ruschansky Azevedo, Marcinha e Joseane Longo.

Ao meu grande amigo e professor Mário Andrioli que me ensinou muito sobre doença vascular cerebral e sobre outras navegações que não só as dos cateteres!

Ao Leonardo Bonilha e ao Chris Rorden pela ajuda fundamental no desenvolvimento do projeto.

Ao Paulo André Kimaid e Ricardo Teixeira e todos do laboratório de Neuroimagem, em especial Pablo e Fabrício.

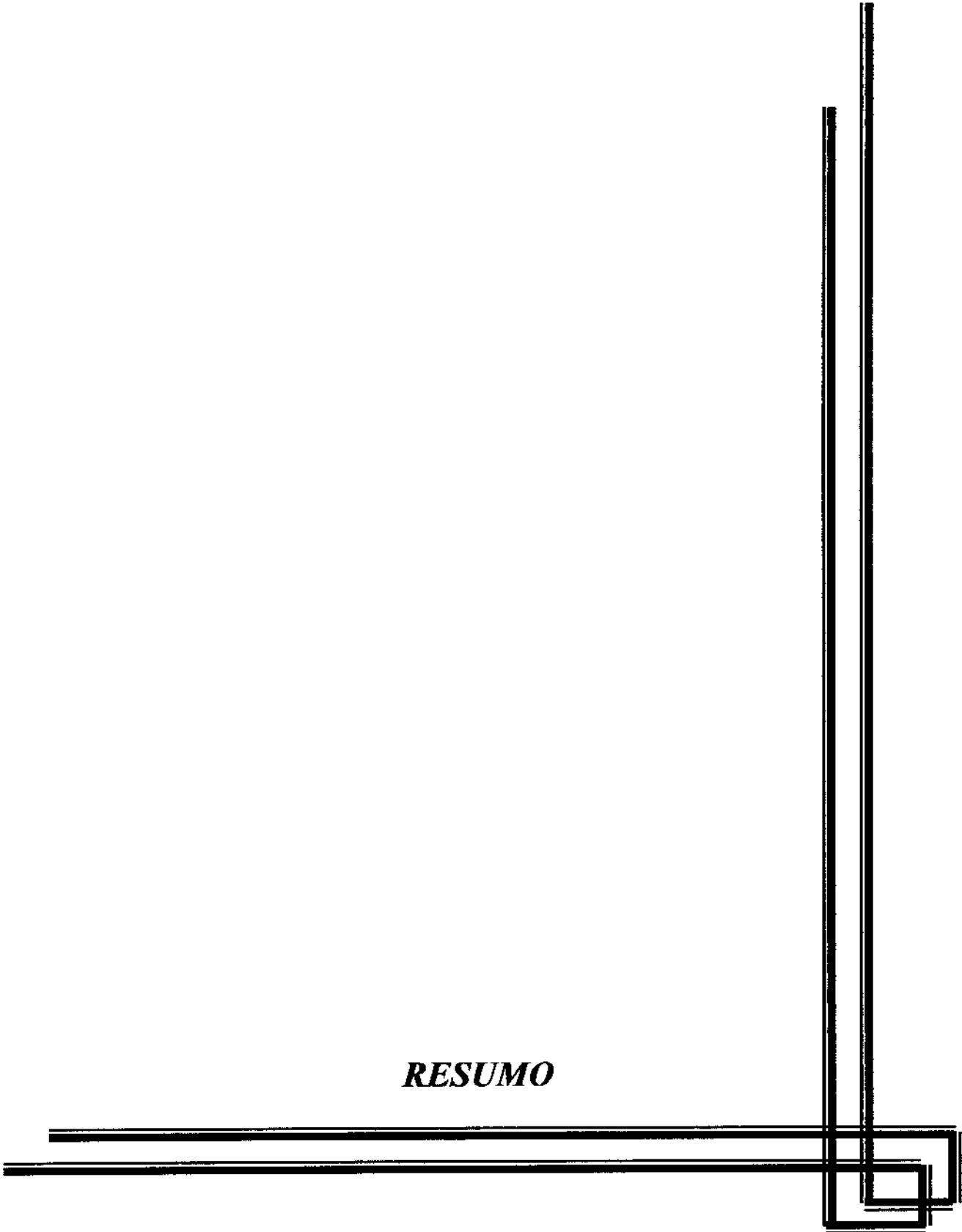
Um muito obrigado especial a Profa. Sara Saad e a todos do Hemocentro.

A todos os meus professores de Medicina e Neurologia, em especial ao Prof. Carlos Augusto Ciarlini Teixeira que me ensinou a pegar no martelo de reflexos, e aos Profs. Carlos Guerreiro, Fernando Cendes, Anamarli Nucci, Elizabeth Quagliato, Jayme Maciel e Li Li Min por me ajudarem a desvendar o mundo mágico da Neurologia.

E finalmente a minha pequenina Sophia que transformou a minha existência numa experiência transcendental.

	<i>PÁG.</i>
<b>RESUMO</b> .....	<i>vii</i>
<b>ABSTRACT</b> .....	<i>ix</i>
<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1- Complicações Neurológicas</b> .....	14
<b>1.2- Infartos Silenciosos</b> .....	15
<b>1.3- Métodos de Avaliação Cerebrovascular em Pacientes com DF</b> .....	17
<b>2- OBJETIVOS</b> .....	21
<b>3- MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
<b>3.1- Aspectos Éticos</b> .....	24
<b>3.2- Identificação e Seleção dos Indivíduos</b> .....	24
<b>3.3- Critérios de Exclusão</b> .....	24
<b>3.4- Avaliação Neurológica</b> .....	25
<b>3.5- Avaliação por SPECT Cerebral</b> .....	25
<b>3.6- Pré-Processamento das Imagens de SPECT</b> .....	26
<b>3.7- Análise Estatística</b> .....	26
<b>4- RESULTADOS</b> .....	28
<b>5- DISCUSSÃO</b> .....	37
<b>6- CONCLUSÃO</b> .....	41
<b>7- CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	43
<b>8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	45
<b>9- ANEXOS</b> .....	52

*RESUMO*

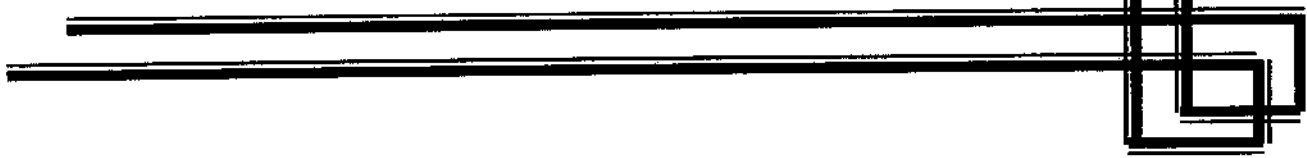




Alterações cerebrovasculares são frequentemente encontradas em pacientes com doenças falciformes (DF) e, na maioria das vezes, são precedidas por alterações insidiosas da perfusão cerebral. O objetivo deste estudo foi o de investigar a perfusão cerebral de pacientes adultos com DF, assintomáticos do ponto de vista neurológico. Foram incluídos 42 pacientes com DF que estavam em acompanhamento regular no Hemocentro da UNICAMP. O grupo foi de 27 mulheres e 15 homens sendo 33 HbSS (14 homens e 19 mulheres), 6 HbSC (1 homem e 5 mulheres) e 3 HbS $\beta$  (3 mulheres). A idade média foi de 33.4 ( $\pm$ 10.55 anos; 18-60). A hemoglobina basal média foi de 8.5 ( $\pm$ 1.73; 5.2-13.5) e o hematócrito médio foi de 25.1 ( $\pm$ 4.85; 15.6-38.5). Pacientes e controles foram submetidos à SPECT cerebral com etilenodicitestina dietil ester marcado com tecnécio-99 (ECD-[<sup>99m</sup>Tc]). As imagens reconstruídas em formato ANALYZE usando o *MRIcro software* foram submetidas à análise baseada em voxel foi realizada utilizando-se o software SPM2 (Wellcome Department of Cognitive Neurology), para estimar a probabilidade de cada voxel apresentar uma captação aumentada ou reduzida. As imagens foram normalizadas para o template anatômico padronizado de Talairach eTournoux. Foi evidenciada redução da captação do traçador nos gânglios da base e tálamos, na região frontal anterior e em zonas de transição da região temporo-parieto-occipital. Concluímos que SPECT cerebral com (ECD-[<sup>99m</sup>Tc]) é um método capaz de detectar anormalidades precoces em pacientes com DF. O predomínio do comprometimento é em áreas cuja perfusão é predominantemente mantida por pequenos vasos e microvasculatura distal.

Palavras chave: Perfusão cerebral; Doença falciforme; SPECT; análise baseada em voxel.

*ABSTRACT*



Cerebrovascular lesions are frequently observed in patients with sickle cell disease (SCD) and these structural lesions are preceded by insidious perfusion deficits. Our aim was to investigate the presence of brain perfusion deficits in neurologically asymptomatic SCD patients. Forty-two SCD patients (33 HbSS, 6 HbSC and 3 HbS $\beta$ ) with mean hematocrit of 25.1 ( $\pm$ 4.85; 15.6-38.5) were submitted to brain perfusion single photon emission tomography (SPECT) using the tracer  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD. Images from SCD patients were compared to images of a healthy control group (29 females and 20 males, mean age  $31 \pm 8$ ; range 25-49 years). Images underwent voxel-wise comparison of regional tracer uptake using paired t-test to estimate the probability of each voxel to have an increased or decreased tracer uptake. When compared to controls, SCD patients had significantly reduced tracer uptake in basal ganglia and thalami, the anterior frontal region and the watershed region of the temporo-parietal-occipital transition. ( $p < 0.05$ ). Our study demonstrates that neurologically asymptomatic adult SCD patients exhibit a pattern of reduced  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD tracer uptake demonstrated by SPECT. Early detection of cerebral hypoperfusion may help in preventing stroke in patients with SCD.

keywords: sickle cell disease; brain perfusion; SPECT; voxel based analysis.

## *1- INTRODUÇÃO*

Doenças falciformes são hemoglobinopatias hereditárias caracterizadas pela presença de uma hemoglobina anormal chamada de hemoglobina S (HbS). A hemoglobina é responsável pelo transporte de oxigênio para todas as células do organismo humano e sua estrutura normal é composta de 2 subunidades (globinas) alfa e duas subunidades beta. A HbS é resultante de uma mutação no códon 6 do gene da globina beta, onde a adenina é substituída pela timina (GAG→GTG), o que culmina com a presença da valina em lugar do ácido glutâmico (ALAVI, 1984).

A denominação “anemia falciforme” (AF) é reservada para a forma da doença que ocorre nos homozigotos SS. Quando o gene da HbS combina-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como hemoglobina C (HbC), hemoglobina D (HbD), beta-talassemia, entre outros, o resultado é um grupo de doenças, também sintomáticas, as quais são denominadas, respectivamente, de doença SC, doença SD e doença S/beta-talassemia. De modo geral, todas essas formas sintomáticas do gene da HbS, em homozigose ou em combinação, são conhecidas como doenças falciformes (DF) (STEINBERG et al., 1994).

A HbS comporta-se como a hemoglobina normal (HbA) em condições normais, entretanto, em condições de redução dos níveis de oxigenação, a estrutura hidrofóbica da valina se polimeriza resultando em um gel. Isso torna o eritrócito alongado, com redução da sua deformabilidade e sobrevida, além de apresentar-se com maior densidade. Essa forma alterada do eritrócito é semelhante a uma foice e daí a denominação *falciforme*. Tal alteração estrutural torna o eritrócito susceptível à hemólise, além de desencadear uma interação entre as células falcizadas, o endotélio e os leucócitos. Esse processo culmina com o fenômeno de vasoclusão o qual se manifesta em praticamente todos os órgãos, comprometendo precocemente o baço, rins, ossos, fígado, pulmões, cérebro, entre outros. Os pacientes apresentam infartos ósseos repetidos, com crises dolorosas frequentes (STEINBERG et al., 1994). A hiper-expressão de moléculas de adesão na superfície das hemácias, endotélio e granulócitos facilita a vaso-oclusão (STEINBERG et al., 2003).

Deste modo, além da anemia crônica, as diferentes formas de doenças falciformes caracterizam-se por numerosas complicações que podem afetar quase todos os órgãos e sistemas, com expressiva morbidade, redução da capacidade de trabalho e da

expectativa de vida. Além das manifestações de anemia crônica, o quadro é dominado por episódios de dores ósteo-articulares, dores abdominais, infecções e enfartes pulmonares, retardo do crescimento e maturação sexual, acidente vascular cerebral (AVC) e comprometimento crônico de múltiplos órgãos, sistemas ou aparelhos. A destruição do baço é a principal responsável pela suscetibilidade aumentada a infecções graves (septicemias). Se não diagnosticadas precocemente, estão associadas à alta mortalidade na infância, sendo poucos os afetados que sobrevivem à idade adulta (STEINBERG et al., 1994).

James B. Herrick foi o primeiro a observar eritrócitos com forma de foice, em 1910, (HERRICK, 1910) e, somente em 1922, Verne Mason cunhou o termo *Sickle cell anemia* (anemia falciforme) para descrever a doença (MASON, 1922). Até então, só havia três casos descritos e não era possível atribuir uma causa hereditária para o problema. Em 1923, John Huck conseguiu disseminar a idéia de AF tratar-se de uma doença hereditária com padrão de transmissão mendeliana.

O primeiro a descrever alterações neurológicas em pacientes com AF foi Virgil Sydenstricker, em 1923, sendo este mesmo um grande pesquisador em AF e o qual conseguiu demonstrar uma subdivisão clínica da doença, sendo uma forma latente e outra ativa (SYDENSTRICKER et al., 1923). O primeiro caso neurológico atribuído a AF foi de uma criança com hemiplegia e crises epilépticas, a qual mostrava células falcizadas no sangue.

Em 1949, PAULING e colaboradores demonstraram as significantes diferenças na motilidade eletroforética da hemoglobina normal e da hemoglobina falciforme, sendo esta descrição de extrema importância para a compreensão da AF como doença molecular (PAULING et al., 1949).

Do ponto de vista epidemiológico, a doença originou-se na África e, através da migração dos escravos, chegou às Américas. Por esse motivo, é mais freqüentemente encontrada nas regiões onde a população tem mais antepassados negros. É também encontrada em toda a Europa e em regiões da Ásia. Predomina, no Brasil, em negros e pardos, mas também ocorre em brancos. A estimativa com base na prevalência dessa doença no Brasil é de que existam mais de dois milhões de portadores do gene da HbS.

Numa avaliação neonatal de 605.419 nascidos vivos, 3,2% apresentavam o traço falciforme e 486 apresentaram AF (SERJEANT, 2000; JANUÁRIO, 2002). Estima-se que haja de 700 a 1.000 novos casos anuais de DF no Brasil e, por isso, são um problema de saúde pública (ZAGO, 2002).

### **1.1- Complicações Neurológicas**

O envolvimento do sistema nervoso central (SNC) em pacientes com AF foi inicialmente descrito em 1923 (SYNDESTRICKER et al., 1923), sendo uma criança do sexo masculino de 3 anos de idade com hemiplegia à esquerda. Nessa época, a principal síndrome neurológica descrita em pacientes com AF era hemiplegia, a qual acontecia predominantemente antes dos 10 anos de idade. Os mecanismos envolvidos na gênese da hemiplegia eram ainda obscuros. ARENA (1935) considerava que um processo trombótico semelhante ao encontrado no baço era o responsável pelas lesões nos grandes vasos cerebrais.

As alterações cerebrovasculares foram reconhecidas precocemente como complicações importantes das DF. HUGHES et al. (1940) publicaram a primeira grande revisão do envolvimento neurológico em AF, quando descreveu 6 pacientes com alterações cerebrovasculares e revisou outros 25 casos. Essa primeira revisão foi de extrema importância, pois estabeleceu diferentes padrões de envolvimento cerebrovascular. Nessa série já se notou que o envolvimento é precoce quanto à idade sendo que 70% dos episódios ocorreram antes dos 10 anos de idade e 83% aconteceram até os 15 anos de idade. Foi evidenciado ainda um grande número de recorrências, sendo relatados episódios recorrentes de hemiplegia, torpor, crises epiléticas, entre outros.

Séries seguintes foram publicadas mostrando ausência de um conhecimento mais profundo dos mecanismos causadores das lesões, o que levava os autores a estabelecer classificações arbitrárias. Um exemplo foi a classificação das complicações neurológicas em AF em síndromes cerebrovasculares, convulsões, irritação meníngea, comprometimento da acuidade visual, radiculopatia, síndromes mentais agudas e vertigem (GREER et al., 1962). É evidente que esta classificação, apesar de abrangente, não representava de forma clara as várias possíveis formas de acometimento neurológico em AF.

O estudo mais abrangente sobre doença cerebrovascular em DF foi o *Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD)*, o qual foi realizado durante um período de 10 anos, tendo sido iniciado em 1978 e recrutado mais de 4000 crianças com DF (OHENE-FREMPONG et al., 1998). A prevalência geral de AVC em todas as formas de DF foi de 4% e de 5% na forma homozigota. O primeiro episódio de AVC aconteceu em todas as faixas etárias, exceto no grupo de crianças com menos de 1 ano de idade. A incidência anual do primeiro episódio de AVC foi de 0,6 por 100 pacientes por ano na forma homozigota. Quando analisada em subgrupos, a maior incidência ocorreu no grupo de crianças com 2 a 5 anos, sendo de 1,02 por cento por ano. O risco acumulado de um primeiro episódio de AVC no grupo homozigoto foi de 11% com 20 anos de idade, 15% com 30 anos e 24% com 45 anos.

Dados referentes a incidência e prevalência de AVC em outras populações são escassos. Um estudo jamaicano relatou que 17 pacientes de um grupo de 310 crianças com a forma homozigota tiveram um episódio de AVC até a idade de 14 anos, perfazendo uma incidência relativa de 5,5% (BALKARAN et al., 1992). Em um estudo francês, 6,7% de 299 pacientes homozigotos com idade média de 10,1 anos apresentaram AVC. A maioria desses pacientes era de origem africana. Tais resultados são semelhantes aos encontrados no CSSCD (NEONATO et al., 2000).

É importante salientar que outras DF também se comportam como AF em relação a complicações neurológicas e não devem ser subestimadas quanto a incidência de AVC. No CSSCD, a incidência global de AVC foi de 0,17/100 pacientes/ano no grupo com hemoglobinopatia SC, 0,11/100 pacientes por ano no grupo com hemoglobinopatia  $S\beta^+$  e 0,10/100 pacientes/ano no grupo com hemoglobinopatia  $S\beta^0$  (OHENE-FREMPONG et al., 1998).

## **1.2- Infartos Silenciosos**

Alterações estruturais do SNC atribuídas a lesões de origem vascular detectadas por ressonância magnética (RM), as quais não causam alterações neurológicas agudas ou não apresentam correspondência clínica são chamadas de infartos silenciosos (IS) (ARMSTRONG et al., 1996; MILLER, et al., 2001). Entretanto, mais recentemente,



constatou-se que estas lesões não são realmente silenciosas, mas causam déficit neuropsicométrico, com redução da capacidade intelectual e de funções neuropsicológicas e acadêmicas (ARMSTRONG et al., 1996; MILLER, et al., 2001). Estudos bem controlados demonstraram que crianças com anormalidades à RM apresentam deficiência em testes de aritmética, vocabulário, reação visual-motora e coordenação. IS, acompanhados ou não de alterações cognitivas, são mais freqüentes que AVC clinicamente definido (SCHATZ et al., 2001; PEGELOW et al., 2002).

A prevalência de IS no CSSCD foi inicialmente reportada por MOSER (1996) como sendo de 17%. Entretanto, uma reanálise mais recente encontrou um aumento nessa prevalência, a qual foi publicada como sendo de 21,8% (PEGELOW et al., 2002). Tal aumento foi atribuído a melhores técnicas de análise de imagem utilizadas nessa reanálise. Esse novo valor é o que melhor representa a média de IS encontrada numa análise combinada do CSSCD, da coorte francesa e da coorte de Londres, a qual foi de 20%. (BERNAUDIN, et al., 2000,; KIRKHAM, et al., 2000).

Numa análise diferenciada do CSSCD, MILLER et al. (2001) demonstraram que a presença de IS confere um aumento de 14 vezes no risco de desenvolver AVC clinicamente definido. A incidência de AVC clinicamente definido no grupo de pacientes com IS prévio foi de 1,45/100 pacientes/ano, enquanto no grupo sem IS prévio foi de 0,11/100 pacientes/ano. A freqüência do desenvolvimento de AVC foi de 8,1 % nos pacientes com IS e de 0,5% sem IS. Além disso, pacientes com IS tem maior risco de desenvolver novos e maiores IS (PEGELOW et al., 2002). É, portanto, fundamental a utilização de métodos que detectem precocemente as alterações vasculares em pacientes com AF.

As conseqüências da presença de IS em pacientes com AF podem também ser avaliadas do ponto de vista cognitivo. O primeiro trabalho que relatou o perfil neuropsicológico de pacientes com AF foi em 1963, no qual os autores relataram que o intelecto dos pacientes com AF era preservado (CHODORKOFF et al., 1963). Entretanto, vários outros estudos mais recentes demonstram que o perfil cognitivo dos pacientes com AF é inferior aquele esperado para a idade (FOWLER et al., 1988; SWIFT et al., 1989; WANG et al., 2001).

ARMSTRONG et al (1996) relataram que crianças com antecedente de AVC tiveram desempenho pior que pacientes com IS ou com RM normal. Entretanto, eles relataram também que crianças com IS apresentaram uma performance cognitiva em testes de aritmética, vocabulário, coordenação e habilidades visuoespaciais pior que pacientes sem lesão à RM.

Outros estudos têm demonstrado que uma pior performance escolar e neuropsicológica é indicativa da presença de infartos silenciosos (SCHATZ et al., 2001) e que mesmo em pacientes com AF sem lesões à RM, a performance cognitiva é pior que o esperado para a idade e quando comparado com controles normais. Tais achados sugerem que o mecanismo subjacente a esta pobre performance cognitiva pode estar associado aos efeitos difusos da anemia sobre o cérebro e não somente a localização e/ou ao acúmulo de lesão (WANG et al., 2001; STEEN et al. 2003a).

### **1.3- Métodos de Avaliação Cerebrovascular em Pacientes com DF**

Dos métodos atualmente disponíveis, o doppler transcraniano (DTC) é o que mais precocemente pode detectar alterações do fluxo sanguíneo cerebral. Doppler transcraniano tem sido usado em pacientes com AF desde 1986 e três séries prospectivas, independentes, demonstraram que fluxo com alta velocidade precede e promove lesões estenóticas com evolução para infarto (ADAMS et al., 1992; ADAMS et al., 1998). A velocidade do fluxo é determinada em cm/s. Em crianças normais, a velocidade na artéria cerebral média é em torno de 90 cm/s. Em crianças com AF, esse valor aumenta devido a redução do hematócrito, variando de 130 a 140 cm/s, sem necessariamente apresentar risco elevado. Acima de 170 cm/s o risco de infarto aumenta progressivamente e quando atinge 200 cm/s o risco aumenta de 0.5-1% / ano para 10-13% / ano. Os padrões dopplersonográficos, além de terem valor preditivo significativo em relação ao risco de infarto cerebral, servem como referência comparativa após o uso de alguma terapia, principalmente transfusão sanguínea (ADAMS et al., 1998). O método e o controle de qualidade em relação ao Doppler transcraniano nessa população de pacientes tem sido questão de debate, entretanto um artigo publicado recentemente detalha a técnica e a interpretação deste exame nesse grupo de pacientes (NICHOLS et al., 2001).

O DTC tem um papel fundamental no acompanhamento de pacientes com AF visto que o estudo STOP (ADAMS et al., 1998) demonstrou que velocidades acima de 200 cm/s estão associadas com elevado risco de instalação de AVC e tais pacientes se beneficiam com terapia transfusional.

Outro método de reconhecimento precoce de lesões isquêmicas é a RM cerebral. Trata-se de um método não invasivo e que tem alta sensibilidade em demonstrar tecido cerebral. Se utilizadas combinações de técnicas, essa sensibilidade aumenta muito em relação ao reconhecimento de lesões isquêmicas. Técnicas de RM de rotina, chamadas de pesadas em T1 e em T2, proporcionam imagens anatômicas da substância cinzenta e branca e suas relações, imagem de lesões em áreas “borderzones” (área muito susceptível a lesão em AF), espaços líquóricos, sangue intracraniano, edema e lesões expansivas (PAVLAKIS, et al., 1988).

Uma técnica de RM com grande utilidade na AF é a angiorressonância magnética (ARM) (WIZNITZER, et al., 1990). Tal técnica baseia-se no movimento do sangue através das artérias durante cada seqüência de pulso magnético e é capaz de detectar doença de grandes vasos, como carótida e cerebral média. A ARM tem sido um método de substituição da angiografia convencional por subtração (DSA). Esta última é um exame invasivo e requer o uso de contraste iodado, enquanto a ARM é um método não invasivo e tem obtido resultados comparáveis a DSA (KANDEEL, 1996). O padrão de alteração encontrado à ARM também tem correlação com os achados clínicos. Em um estudo com 22 pacientes com DF, uma anormalidade à ARM maior que 6 mm com redução do fluxo distal correlacionou-se positivamente com a presença de IS. Entretanto, segmentos mais curtos de alteração, especialmente em áreas de bifurcação, não se correlacionou com a presença de lesão estrutural à RM (GILLIAMS et al., 1998). A associação de RM com DTC é o que melhor determina o risco para infarto em pacientes com AF (WANG et al., 2000).

Métodos que avaliam a perfusão cerebral são também muito utilizados. Tomografia por emissão de positrons (PET) tem sido utilizada para detecção das lesões silenciosas em pacientes com AF (RODGERS et al., 1988; HEROLD et al., 1986). O PET é um exame sofisticado em que se avalia tanto perfusão quanto metabolismo cerebral.

Utiliza-se um marcador radioativo conhecido como 2-desoxi-2 [<sup>18</sup>F] fluoro-D-glicose (FDG). Foi usado inicialmente em pacientes com DF em 1988, tendo sido evidenciado neste estudo hipometabolismo nas regiões frontais de pacientes assintomáticos (RODGERS et al., 1988).

HEROLD et al. (1986) encontraram aumento significativo do volume e do fluxo sanguíneo cerebral em pacientes com AF sem aumento da extração celular de oxigênio. Tais achados foram interpretados pelos autores como sugestivos de perda neuronal em pacientes sem uma história prévia de envolvimento do SNC (HEROLD et al., 1986).

Outro estudo com PET curiosamente demonstrou que regiões de hipometabolismo cerebral em pacientes com AF se estendiam além das regiões com lesão evidente à RM, corroborando o que sugeriu STEEN (1998) quando valorizou o uso de métodos quantitativos e de imagem funcional para demonstrar alterações funcionais em regiões aparentemente normais à RM. POWARS (1999) também demonstrou anormalidades de perfusão e metabolismo cerebral em pacientes neurologicamente assintomáticos e com RM normal.

Estudos de perfusão cerebral com RM também foram realizados em pacientes com AF e tiveram conclusões semelhantes aos estudos com PET. KIRKHAM et al. (2001a) demonstraram déficits de perfusão em áreas maiores que as áreas com infarto evidente a RM convencional, déficits de perfusão em pacientes assintomáticos com RM anormal e em pacientes com RM normal. OGUZ et al. (2003) encontraram déficit assimétrico de perfusão e hipoperfusão em áreas sem alteração a ARM

Vários estudos demonstram que, em relação às lesões silenciosas, a ARM se correlaciona melhor com alterações cognitivas do que a RM convencional, DTC ou tomografia computadorizada. Os sintomas neurológicos se correlacionam melhor com anormalidades de perfusão, mesmo com MRI e Doppler normais. Estudos de metabolismo e fluxo cerebral utilizando PET detectam precocemente áreas de hipoperfusão que podem ser revertidas com o uso de transfusões (POWARS et al., 1999).

Outro método utilizado na avaliação da perfusão cerebral e que indiretamente estima qualitativamente o metabolismo cerebral, é a tomografia por emissão de fóton único (SPECT). Entretanto não há estudos controlados utilizando SPECT em DF. O PET dedicado é uma tecnologia ainda não disponível no Brasil e os equipamentos similares existentes no Brasil como SPECT colimado com FDG ou câmaras de coincidência FDG-18F, que é o único emissor de pósitrons disponível, são extremamente mais caros e menos disponíveis câmaras capazes de realizar SPECT.

A principal idéia e justificativa da investigação de infartos silenciosos em pacientes com doença falciforme é, além do diagnóstico precoce, estratifica-los quanto ao risco e estabelecer um planejamento terapêutico com o objetivo de protegê-los de lesões isquêmicas maiores e significativamente sintomáticas. Alguns grupos consideram que crianças com infartos silenciosos são candidatas a receber mini-transplante de medula óssea com o objetivo de atingir estado assintomático, visto que a chance destas crianças adquirirem seqüelas por alterações cerebrais é grande. Outros grupos propõem que se faça estudo multicêntricos para se comparar uso de transfusões de hemácias cronicamente para redução da quantidade de hemoglobina S versus observação (REED et al., 2001). Outros grupos propõem a administração de hidroxiuréia (CHARACHE et al., 1995; KINNEY et al., 1999).

## ***2- OBJETIVOS***

1. O objetivo deste estudo foi o de verificar, através da análise de imagens de SPECT cerebral se pacientes adultos com DF e assintomáticos do ponto de vista neurológico apresentam alterações de perfusão cerebral.
2. Determinar se há um padrão específico de déficit de perfusão cerebral em pacientes com DF assintomáticos do ponto de vista neurológico.

### ***3- MATERIAL E MÉTODOS***



### **3.1- Aspectos Éticos**

Este projeto obedece às normas da declaração de Helsinki e da CONEP – CFM tendo sido submetido ao e aprovado em sua íntegra pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (Parecer 590/2002 – ANEXO 5).

Todos os indivíduos participantes deste estudo, ou os seus familiares, foram devidamente esclarecidos quanto às finalidades da pesquisa, através de formulários de consentimento informado.

### **3.2- Identificação e Seleção dos Indivíduos**

Foram analisados 42 pacientes adultos (maiores de 18 anos), atendidos no através de dados clínicos, hemograma, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino e ácido, teste de solubilidade e, sempre que possível, estudo familiar (OLD et al., 2001).

Foram selecionados para o estudo pacientes com diagnóstico de AF, hemoglobinopatia SC, S $\alpha$ -talassemia, que nunca apresentaram qualquer sinal ou sintoma neurológico sugestivo de AVC ou ataque isquêmico transitório e que tenham concordado livremente em participar do estudo.

O grupo controle foi composto por 49 indivíduos saudáveis, sendo 29 mulheres e 20 homens, com idade média de 31  $\pm$ 8 anos (25-49 anos).

### **3.3- Critérios de Exclusão**

Foram excluídos do nosso estudo indivíduos que apresentarem:

- Qualquer outra doença que possa interferir com os achados neurológicos (ex. Diabetes, hipertensão arterial não controlada).
- Alguma condição clínica relevante concomitante (câncer, AIDS).
- Gestação concomitante
- Antecedente de AVC ou AIT
- Crises de falcização ou transfusão de hemáceas nos últimos 3 meses.

### **3.4- Avaliação Neurológica**

Todos os pacientes foram submetidos a avaliação neurológica a fim de se determinar a presença de alterações neurológicas subclínicas. Tal avaliação neurológica incluiu:

1. Exame físico geral e exame neurológico, conforme roteiro utilizado no Ambulatório de Neurologia do HC.
2. Mini exame do estado mental (FOLSTEIN et al., 1975)

### **3.5- Avaliação por SPECT Cerebral**

Todos os pacientes e controles foram submetidos a SPECT cerebral com etilenodicisteína dietil ester marcado com tecnécio-99 (ECD-[99m]Tc). O ECD-[99m]Tc é um composto lipofílico que atravessa a barreira hemato-encefálica, entrando na célula neuronal onde é convertido em um composto hidrofílico, permanecendo preso dentro da célula. A escolha deste traçador é baseada no fato de que é necessário uma reação de desesterificação dentro da célula para que o mesmo fique retido. Tal fato torna a captação desse traçador um marcador indireto do metabolismo celular visto que é necessário que a célula esteja metabolicamente ativa para realizar a captação (CATAFAU, 2001).

Foi utilizado o seguinte protocolo: Após permanecerem em repouso em um ambiente sem estímulos luminosos e sonoros durante 15 minutos, com acesso venoso previamente obtido em veia periférica, os pacientes e os controles foram injetados com 1.110 MBq (30mCi) de etilenodicisteína dietil ester marcado com tecnécio-99 (ECD-[99m]Tc) e permaneceram em repouso por mais 10 minutos. Após o segundo período de repouso, os pacientes foram submetidos à aquisição das imagens tomográficas em uma câmara de cintilação computadorizada equipada com colimador "fan beam", fotópico (APEX SP6 ELSCINT, Haifa, Israel), centrado em 140 KeV, com janela de 20%. Foram adquiridas 60 imagens, em uma matriz 64x64, zoom 1.5, a intervalos de 6 graus, totalizando 360 graus. As imagens foram normalizadas utilizando-se um filtro Metz

(FWHM=14mm) e reconstruídas através de “filtered back projection”. Correção de atenuação foi realizada pelo método de Chang (attenuation coefficient =  $0.115 \text{ cm}^{-1}$ ). As imagens transaxiais reconstruídas foram reformatadas e apresentadas nos planos transversal, coronal e sagital.

### **3.6- Pré-Processamento das Imagens de SPECT**

O conjunto de imagens transaxiais reconstruídas foram transformadas para o formato ANALYZE, utilizando-se o software MRIcro (Chris Rorden, [www.mricro.com](http://www.mricro.com)). As imagens foram então submetidas à análise baseada em voxels com o software SPM2 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, [www.fil.ion.ucl.ac.uk](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk)). As imagens foram transformadas para corresponderem espacialmente a um template anatômico usando-se transformações lineares e regularização média com 16 interações não lineares. Após normalização, as imagens foram submetidas a suavização pelo filtro gaussiano isotrópico de Kernel de 10mm com o objetivo de (1) minimizar a variabilidade interindividual dos sulcos e giros cerebrais, e (2) criar assim imagens que são mais normalmente distribuídas e, portanto, permitindo uma análise a partir de voxels.

As imagens dos grupos de pacientes com DF e dos controles, após normalizadas e suavizadas, foram submetidas a uma comparação utilizando-se teste t pareado com o objetivo de determinar diferença na captação do traçador entre os grupos. Os contrastes foram definidos para estimar a probabilidade de cada voxel apresentar uma captação aumentada ou reduzida do traçador.

### **3.7- Análise Estatística**

As diferenças entre as idades dos grupos de pacientes e controles foram analisadas utilizando-se análise de variância (ANOVA) e a distribuição do sexo foi analisada utilizando-se o teste do chi-quadrado.

As imagens dos pacientes e dos controles foram então analisadas utilizando-se o software SPM2. A captação do traçador (ECD-[99m]Tc) foi padronizada para a captação global média utilizando-se escalas proporcionais. Apenas voxels com intensidade de sinal maior que o limiar para substância cinzenta (0,8) entraram na análise. Os resultados dessa análise são apresentados em forma de um mapa estatístico (SPM(t)) corrigido para uma distribuição normal (SPM(z)). O limiar estatístico utilizado baseou-se na correção para comparações múltiplas através do False Discovery rate (FDR) corrigido para um  $p < 0,05$ .

## ***4- RESULTADOS***

Entre março de 2003 e março de 2005 foram recrutados 42 pacientes que preenchiam os critérios de inclusão e exclusão. A idade média foi de 33,4 ( $\pm 10,5$ ; 18-60), com hemoglobina basal média de 8,5g/dl ( $\pm 1,73$ ; 5,2-13,5) e hematócrito médio 25,1 ( $\pm 4,85$ ; 15,6-38,5). O grupo controle foi composto por 49 indivíduos saudáveis, sendo 29 mulheres e 20 homens, com idade média de 31  $\pm 8$  anos (25-49 anos). As características demográficas estão também apresentadas na Tabela 1 (Anexo 1).

**Tabela 1-** Demonstrando as características demográficas e clínicas dos pacientes com DF

SUJEITO	IDADE	Hb	Ht	Tipo DF	SEXO
1	27	7,1	22,3	SS	M
2	38	10,3	30,2	S $\beta$	F
3	40	10,4	31	SS	M
4	31	10,9	27,8	SS	M
5	40	7,9	23,8	SS	F
6	26	10	27,7	SS	F
7	22	7,3	21,6	SS	F
8	50	7,5	22	SS	M
9	48	8,6	25,8	SS	F
10	23	9,4	27,8	SS	F
11	43	7,3	21,6	SS	M
12	36	11	31,8	SC	F
13	29	8,6	26	SS	F
14	41	10,7	30	SC	F
15	34	5,2	15,6	SS	F
16	34	9	25,4	SS	M
17	18	6,5	18	SS	F
18	28	8,1	24,5	SS	F
19	42	7,8	25,8	SS	M

<b>SUJEITO</b>	<b>IDADE</b>	<b>Hb</b>	<b>Ht</b>	<b>Tipo DF</b>	<b>SEXO</b>
20	59	10,4	32,3	SS	M
21	32	7	21,9	SS	M
22	21	7,9	24,4	SS	M
23	30	8,9	30	Sβ	F
24	21	7,8	22,2	SS	F
25	36	9,2	27,8	SS	F
26	28	12,4	34,8	SC	F
27	22	7,3	21,7	SS	M
28	25	9,9	29,2	SC	M
29	41	13,5	38,5	SC	F
30	52	8,6	24,5	SS	F
31	24	6,7	19,2	SS	F
32	35	7,3	21,4	SS	F
33	60	8,5	25,7	SS	F
34	22	8,4	24,3	SS	F
35	22	8,6	25,8	Sβ	F
36	43	6,8	18,3	SS	F
37	28	5,2	16,4	SS	M
38	32	6,9	20,3	SS	M
39	19	7,2	20,5	SS	F
40	38	9,1	27,3	SS	F
41	27	9,1	26,4	SC	F
42	37	8,7	25,2	SS	M
<b>Média</b>	<b>33,42857</b>	<b>8,547619</b>	<b>25,1619</b>		
<b>Desvio padrão</b>	<b>10,51629</b>	<b>1,73307</b>	<b>4,850846</b>		

A distribuição dos sujeitos foi:

1) Quanto ao sexo

- 27 mulheres e 15 homens.

2) Quanto ao tipo de DF:

- 33 pacientes com AF (SS), sendo 14 homens e 19 mulheres
- 6 pacientes com hemoglobinopatia SC (SC), sendo 1 homem e 5 mulheres
- 3 pacientes com hemoglobinopatia S $\beta$ , sendo os 3 do sexo feminino.

Ao exame neurológico geral não foram evidenciadas alterações. O mini-exame do estado mental foi normal em todos os pacientes, mesmo quando não considerado o grau de escolaridade. Tal exame não se mostrou como uma ferramenta sensível as alterações cognitivas encontradas nesses pacientes.

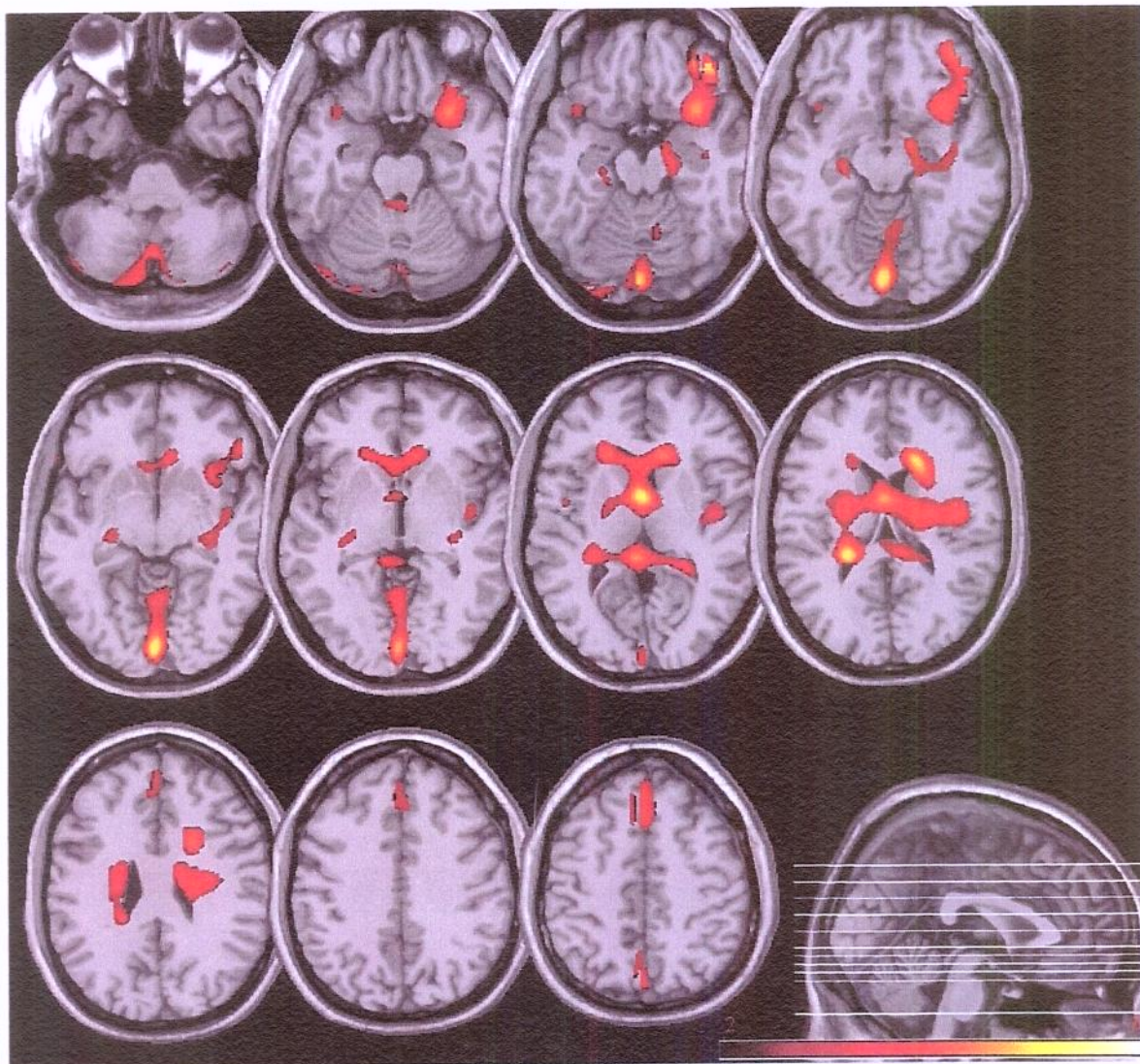
As áreas onde foi observada redução da captação do traçador estão demonstradas na Tabela 2 (Anexo 2) em forma de um mapa estatístico. Não foram observadas áreas de excesso de captação do traçador, o que poderia causar uma falsa interpretação dos achados.



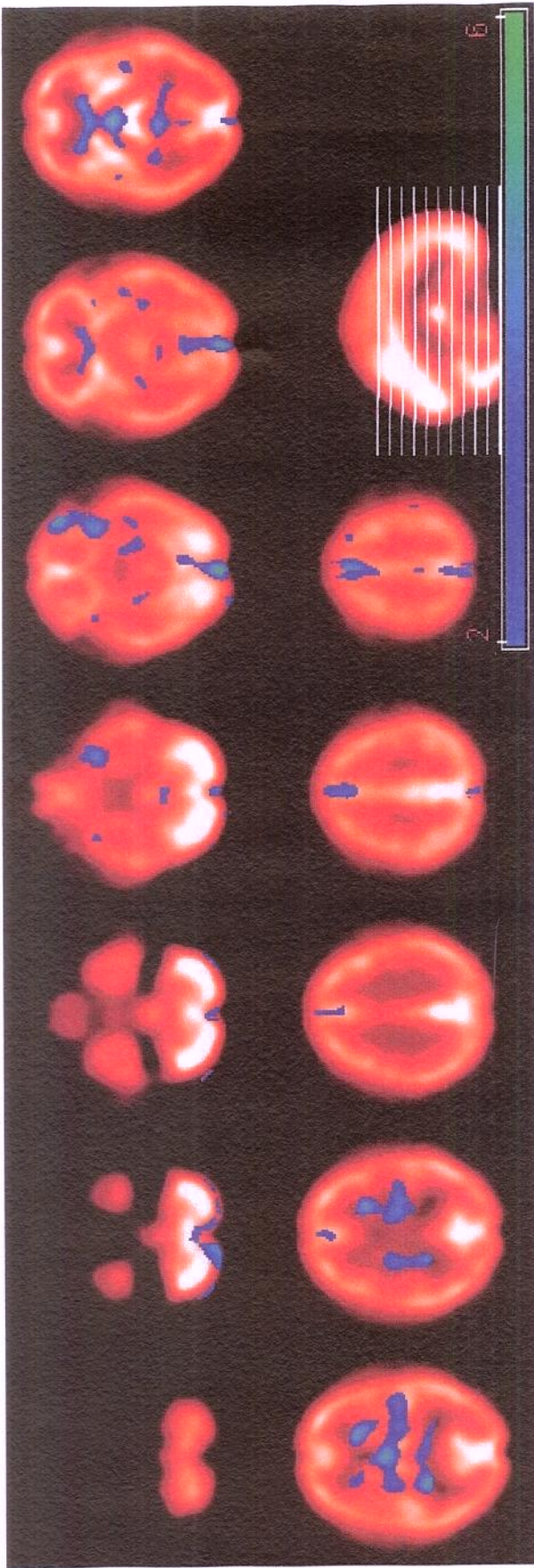
**Tabela 2- Resultados da análise baseada em voxel comparando as imagens de SPECT dos pacientes com as dos controles normais**

Estrutura	Análise de clusters			Análise de voxels			Coordenadas estereotáxicas x, y, z {mm}
	Valor de p (corrigido para múltiplas comparações)	Número de voxels no cluster	Valor de p (não corrigido para múltiplas comparações)	SPM <sub>(0)</sub>	SPM <sub>(z)</sub>	Valor de p (não corrigido para múltiplas comparações)	
Cortex cerebelar rostral direito				6.27	5.69	0	17 -80 -50
Cortex occipital medial	0.045	8485	0.013	5.38	4.99	0	-0 -86 -12
Cortex cerebelar rostral esquerdo				4.71	4.44	0	-18 -80 -50
Polo frontal esquerdo				5.84	5.36	0	-42 47 -17
Cortex pré-frontal ventral esquerdo	0.271	3488	0.092	5.58	5.15	0	-42 39 -20
Cortex pré-frontal anterior ventral esquerdo				5.09	4.75	0	-35 44 -18
Transição fronto-parietal dorsolateral esquerda				5.77	5.3	0	-15 -39 81
Região fronto-parietal superior media	0.021	10899	0.006	5.22	4.86	0	-2 -36 81
Aspecto superior do sulco central esquerdo				5.15	4.8	0	-15 -29 81
Transição temporo-parieto-occipital				5.3	4.93	0	21 -36 20
Fornix/ Diencéfalo central	0.001	21018	0	5.29	4.91	0	-2 0 12
Região frontal anterior esquerda				5.07	4.74	0	-21 18 20
Aspecto supero dorsal do giro precentral esquerdo	0.88	320	0.615	4.03	3.85	0	-44 -18 66
Aspecto dorso-lateral do giro precentral esquerdo	0.954	34	0.897	3.76	3.61	0	-48 -24 63
Giro parietal superior esquerdo	0.861	391	0.574	3.55	3.42	0	-30 -62 68
Parte superior do vermis	0.901	237	0.672	3.14	3.05	0.001	-2 -41 -24
Aspecto superior do cortex temporo polar esquerdo	0.939	89	0.813	3.04	2.95	0.002	36 15 -21
Sulco frontal superior esquerdo	0.938	91	0.811	2.97	2.89	0.002	-27 27 56
Ínsula direita				2.89	2.82	0.002	45 -3 8

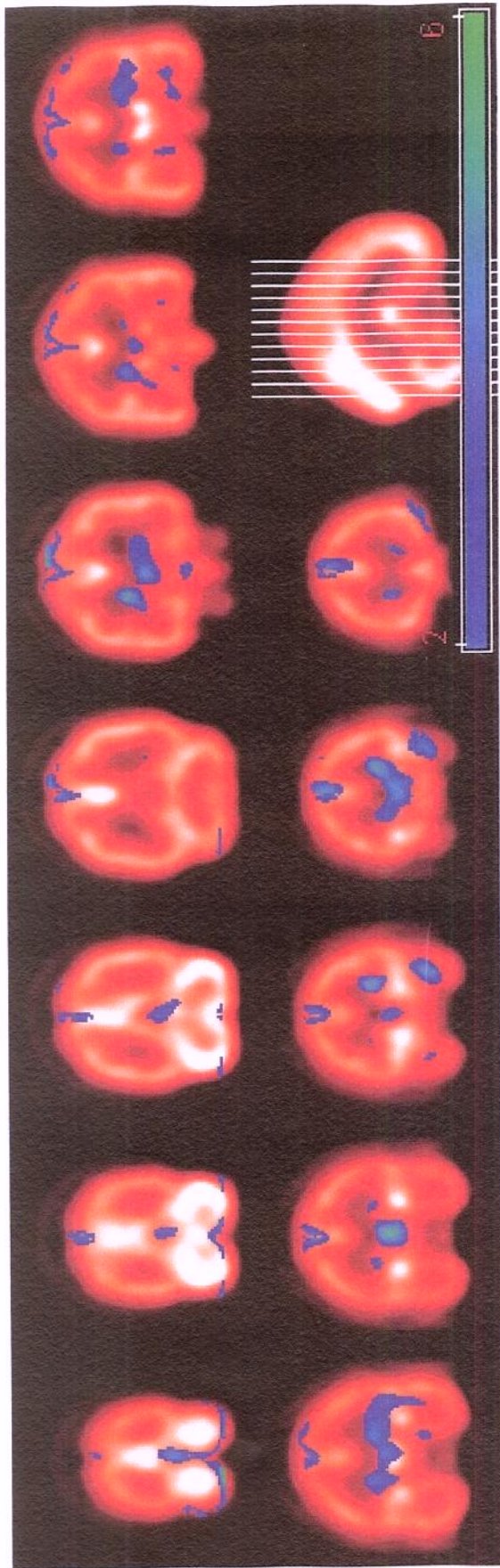
Tais resultados estão também demonstrados em forma tridimensional em um template anatômico de RM (Figura 1 – Anexo 3) e de SPECT (Figuras 2a e 2b – Anexos 4a e 4b, respectivamente).



**Figura 1-** Representação anatômica das regiões de hipoperfusão encontradas em pacientes com DF demonstradas sobre um template de RM.



**Figura 2a** - Representação anatômica das regiões de hipoperfusão encontradas em pacientes com DF demonstradas sobre um template de SPECT em cortes axiais



**Figura 2b-** Representação anatômica das regiões de hipoperfusão encontradas em pacientes com DF demonstradas sobre um template de SPECT em cortes coronais

Houve redução difusa da captação do traçador, o que corresponde a uma redução do fluxo sanguíneo cerebral quando comparado com a captação nos controles normais.

Encontramos áreas de hipoperfusão em hemisférios cerebelares e vermis, córtices frontal e pré-frontal, especialmente no hemisfério esquerdo, na transição temporo-parieto-occipital, no diencéfalo central, nos córtices occipitais mediais e nas regiões ventrais dos gânglios da base e tálamo.

## *5- DISCUSSÃO*

Os resultados deste trabalho demonstram que pacientes adultos com DF e que são neurologicamente assintomáticos apresentam anormalidades de perfusão cerebral em áreas de irrigação sanguínea terminal e em áreas supridas particularmente por pequenos vasos. Foi encontrada redução na captação do traçador no diencéfalo central basal, incluindo os gânglios da base e tálamos, áreas de irrigação fronteira da circulação anterior e nos córtices occipital e cerebelar. Esses achados contribuem para uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes da vasculopatia cerebral de pacientes com DF.

Vasculopatia cerebral silenciosa em pacientes com DF é um tópico de bastante interesse devido a sua relação com aumento do risco de AVC e declínio cognitivo progressivo (ADAMS et al. 2001). WANG et al (2001) demonstraram recentemente um declínio psicométrico progressivo com o envelhecimento em pacientes com DF mesmo quando não havia lesões estruturais evidentes à RM.

Em nosso estudo evidenciam-se hipoperfusão significativa nos gânglios da base e tálamos. Essas áreas já foram descritas como regiões de freqüente acometimento na vasculopatia da DF. PEGELOW et al. (2001) avaliaram 47 crianças neurologicamente normais e encontraram 129 lesões. Destas, 14 eram nos tálamos e gânglios da base. No CSSCD, 27% dos pacientes com anormalidades à RM apresentavam lesões no tálamo e nos gânglios da base (PEGELOW et al., 2001). Nossos resultados também corroboram a idéia proposta por STEEN (1999) de que os gânglios da base, em especial o caudato, o tálamo e o córtex cerebral são áreas de vulnerabilidade a lesão em pacientes com DF.

É também importante salientar que a hipoperfusão aqui observada em gânglios da base e tálamo é um fator de contribuição adicional para o desenvolvimento do declínio cognitivo observado em pacientes com DF. De um modo semelhante ao encontrado nas demências vasculares, a lentificação da atividade cerebral, os déficits de atenção e a disfunção da memória de trabalho encontradas em pacientes com DF podem, em parte, ser decorrentes da disfunção talâmica e da interrupção das conexões talamocorticais (SZIRMAI et al., 2002).

Foi também encontrada hipoperfusão nos lobos frontais, especialmente nas regiões mediais. Tais regiões são também reconhecidas como áreas freqüentemente comprometidas em pacientes com DF. Estudos com PET que avaliaram a perfusão cerebral

em pacientes com DF demonstraram hipometabolismo em regiões frontais, inclusive hipoperfusão em áreas que aparentam ser normais à RM (POWARS et al., 1999; HEROLD et al., 1986; RODGERS et al., 1988).

PEGELOW et al., (2002) observaram em um estudo longitudinal com RM que o lobo frontal foi a região mais acometida por lesões isquêmicas em pacientes com DF, tanto em assintomáticos como em pacientes com antecedente de AVC. Neste estudo citado, foram detectadas lesões nos lobos frontais em 81% das crianças com infartos silenciosos e em 94,4% daqueles com antecedente de AVC. Estes achados sugerem um envolvimento precoce dos lobos frontais na vasculopatia da DF e isto tem implicação prognostica já que pacientes com lesões silenciosas tendem a ter menos comprometimento dos lobos frontais do que pacientes com AVC clinicamente definido.

Outra região em que encontramos evidente hipoperfusão foi o cerebelo e, interessantemente, no hemisfério contralateral ao córtex com menor perfusão. Esta hipoperfusão pode corresponder a desconexão funcional dos neurônios cerebelares com os seus correspondentes corticais. Interrupção das vias cerebropontinas-cerebelares é o provável mecanismo dessa depressão transneuronal remota conhecida como diasquisis (BARON et al., 1980). SPECT é um método com boa sensibilidade para detectar esta hipoperfusão cerebelar cruzada (CAMARGO, 2001).

SPECT é um método com baixa sensibilidade para detectar alterações na perfusão da substância branca. A distribuição do traçador respeita uma proporção estimada de 4:1 em relação ao córtex e, portanto, hipoperfusão cortical é melhor visualizada. Neste estudo observamos áreas de hipoperfusão cerebral em regiões espalhadas sobre a substância branca subcortical, especialmente na região da transição temporo-parieto-occipital. Este achado possivelmente reflete uma redução difusa da perfusão cerebral cortical envolvendo as áreas corticais adjacentes.

Os achados até descritos contribuem para uma melhor compreensão da progressão da vasculopatia cerebral em pacientes com DF. A redução da perfusão observada nesses pacientes reflete isquemia, hipometabolismo ou ambos (CATAFAU, 2001). Estes pacientes são cronicamente anêmicos e esta condição determina



um aumento no fluxo sanguíneo cerebral (FSC), o qual é decorrente da hemodiluição e também uma resposta compensatória a uma reduzida oferta de oxigênio (STEEN et al., 2003). Entretanto, esse estado hiperêmico predispõe a um fluxo sanguíneo turbilhonado com subsequente lesão celular endotelial culminado com lesões mecânicas hemodinâmicas e alteração estrutural da parede do vaso (PRENGLER et al., 2002; MALEK et al., 1999).

Além disso, eritrócitos contendo HbS são muito sensíveis a redução da saturação arterial de oxigênio. Polimerização da HbS desoxigenada é o evento inicial de uma cascata multifatorial, heterocelular, que culmina com a falcização do eritrócito na microvasculatura e subsequente aderência dessas células ao endotélio, levando a uma vasta modificação no microambiente vascular (STEINBERG et al., 2003). Esse fenômeno de vaso-oclusão induzido por células falcizadas é um processo complexo que envolve moléculas de adesão celular, especialmente a VCAM-1, citocinas pro-inflamatórias, leucócitos e outros metabólitos ativos, todos contribuindo para uma aumentada aderência da célula com o endotélio (FRENETTE, 2002).

O acoplamento do fluxo sanguíneo cerebral com o metabolismo é o mais importante controle da circulação cerebral. A ativação neuronal aumenta o consumo de oxigênio e glicose e, portanto, induz um aumento no FSC a fim de corresponder a essa demanda metabólica (VAVILALA et al., 2002). Contudo, em pacientes com DF, estes mecanismos auto-regulatórios podem estar comprometidos devido a danos vasculares progressivos decorrentes de episódios repetitivos de falcização (PRENGLER et al., 2002; STEEN et al., 1999). A falência desses mecanismos é mais exuberante nos pacientes com DF em condições de hipoxemia, visto que a esperada vasodilatação compensatória pode não ocorrer devido a exaustão dos mecanismos envolvidos (KIRKHAM et al., 2001).

A hipoperfusão evidenciada neste estudo é provavelmente decorrente de uma combinação de fenômenos vaso-oclusivos levando a uma isquemia, falência dos mecanismos autoregulatórios e lesão seletiva de áreas de vulnerabilidade isquêmica, secundárias a insuficiência de oferta de oxigênio em regiões com alta demanda metabólica.

## ***6- CONCLUSÃO***

1. Pacientes adultos com DF e assintomáticos do ponto de vista neurológico apresentam déficits de perfusão cerebral evidenciados por SPECT principalmente nas seguintes regiões:
  - a) Córtex frontal anterior e medial, particularmente a esquerda
  - b) Diencéfalo basal central, incluindo tálamo e núcleos da base
  - c) Transição temporo-parieto-occipital
  - d) Córtex occipital medial
  - e) Córtex cerebelar rostral
  
2. O predomínio do comprometimento é em áreas cuja perfusão é predominantemente mantida por pequenos vasos e microvasculatura distal. Tal achado sugere que o mecanismo fisiopatológico proeminente em adultos com DF seja a lesão de pequenos vasos.
  
3. Neste estudo, as áreas com evidência de hipo representam provavelmente áreas com vulnerabilidade isquêmica, mais susceptíveis as lesões insidiosas e silenciosas encontradas em pacientes com DF.

## ***7- CONSIDERAÇÕES FINAIS***

Os achados desse estudo contribuem para a compreensão dos mecanismos de lesão que precedem os danos estruturais evidenciados em pacientes com DF. Tais achados podem ser de grande utilidade na estratificação de pacientes com DF que estão em risco de desenvolver lesões estruturais.

Este método de investigação pode também contribuir no acompanhamento terapêutico dos pacientes com DF, principalmente se associado a outros métodos de imagem cerebrovascular.

***8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

- ADAMS, R.J.; MCKIE, V.; NICHOLS, F.T. et al. The use of transcranial ultrasonography to predict stroke in sickle cell disease. *N Engl J Med*, 326(7):605-10, 1992.
- ADAMS, R.J.; MCKIE, V.C.; HSU, L. et al. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *N Engl J Med*, 339:5-11, 1998.
- ADAMS, R.J. Lessons from the Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP) study. *J Child Neurol*, 15:344-9, 2000.
- ALAVI, J.B. Sickle cell anemia: Pathophysiology and treatment. *Med Clin North America*, 68: 545-5, 1984.
- ARENA, J.M. Vascular accident and acute hemiplegia in sickle cell anemia. *Am J Dis Child*, 49: 722-3, 1935.
- ARMSTRONG, F.D.; THOMPSON, R.J.; WANG, W. et al. Cognitive functioning and brain magnetic resonance imaging in children with sickle cell disease. Neuropsychology Committee of the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Pediatrics*, 97:864-70, 1996.
- BALKARAN, B.; CHAR, G.; MORRIS, J.S. et al. Stroke in a cohort of patients with homozygous sickle cell disease. *J Pediatr*, 120:360-6, 1992.
- BARON, J.C.; BOUSSER, M.G.; COMAR, D. et al. Crossed cerebellar diaschisis in human supratentorial brain infarction. *Trans Am Neurol Assoc*, 105:459-61, 1980.
- BERNAUDIN, F.; VERLHAC, S.; FREARD, F. et al. Multicenter prospective study of children with sickle cell disease: radiographic and psychometric correlation. *J Child Neurol*, 15:333-43, 2000.
- CAMARGO, E.E. Brain SPECT in neurology and psychiatry. *J Nucl Med*, 42:611-23, 2001.
- CATAFAU, A.M. Brain SPECT in Clinical Practice. Part I: Perfusion. *J Nucl Med*, 42: 259-71, 2001.
- CHARACHE, S.; TERRIN, M.L.; MOORE, R.D. et al, for the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. *N Engl J Med*, 332:1317-22, 1995.

CHODORKOFF, J. WHITTEN, C.F. Intellectual status of children with sickle cell anemia. *J Pediatr*, 63:29-35, 1963.

FOLSTEIN, M.F.; FOLSTEIN, S.E.; MCHUGH, P.R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*, 12:189-98, 1975.

FOWLER, M.G.; WHITT, J.K.; LALLINGER, R.R. et al. Neuropsychologic and academic functioning of children with sickle cell anemia. *J Dev Behav Pediatr*, 9(4):213-20, 1988.

FRENETTE, P.S. Sickle cell vaso-occlusion: multistep and multicellular paradigm. *Curr Opin Hematol*, 9:101-6, 2002.

GILLIAMS, A.R.; MCMAHON, L.; WEINBERG, G.; CARTER, A.P. MRA of the intracranial circulation in asymptomatic patients with sickle cell disease. *Pediatr Radiol*, 28(5):283-7, 1998.

GREER, M.; SCHOTLAND, D. Abnormal hemoglobin as a cause of neurologic disease. *Neurology*, 12:114-23, 1962.

HEROLD, S.; BROZOVIC, M.; GIBBS, J. et al. Measurement of regional cerebral blood flow, blood volume and oxygen metabolism in patients with sickle cell disease using positron emission tomography. *Stroke*, 17: 692-98, 1986.

HERRICK, J.B. Peculiar elongated and sickle-shaped red corpuscles in a case of severe anemia. *Arch Intern Med*, 6:517-24, 1910.

HUGHES, J.G.; DIGGS, L.W.; GILLESPIE, C.E. The involvement of the nervous system in sickle cell anemia. *J Pediatr*, 17:166-84, 1940.

JANUÁRIO, J.N. Incidência de doença falciforme em um milhão de nascidos vivos em Minas Gerais. Dissertação de Mestrado apresentada na Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, 2002

KANDEEL, A.Y.; ZIMMERMAN, R.A.; OHENE-FREMPONG, K. Comparison of magnetic resonance angiography and conventional angiography in sickle cell disease: clinical significance and reliability. *Neuroradiology*, 38:409-16, 1996.



- KINNEY, T.R.; HELMS, R.W.; O' BRANSKI, E.E. et al. Pediatric hydroxyurea Grup: Safety of hydroxyurea in children with sickle cell anemia: Results of the HUG-KIDS study, a phase I/II trial. *Blood*, 94:1550-4, 1999.
- KIRKHAM, F.J.; PRENGLER, M.; HEWES, D.K.; GANESAN, V. Risk factors for arterial ischemic stroke in children. *J Child Neurol*, 15: 299-307, 2000.
- KIRKHAM, F.J.; CALAMANTE, F.; BYNEVELT, M. et al. Perfusion magnetic resonance abnormalities in patients with sickle cell disease. *Ann Neurol*, 49:477-85, 2001a.
- KIRKHAM, F.J.; HEWES, D.K.M.; PRENGLER, M.; WADE, A.; LANE, R.; EVANS, J.P.M. Nocturnal hypoxaemia and central nervous system events in sickle-cell disease. *Lancet*, 357:1656-9, 2001b.
- MALEK, A.M.; ALPER, S.L.; IZUMO, S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *J Am Med Assoc*, 282:2035-42, 1999.
- MASON, V.R. Sickle Cell anemia. *J Am Med Assoc*, 79:1318-20, 1922.
- MILLER, S.T.; MACKLIN, E.A.; PEGELOW, C.H. et al. Silent infarction as a risk factor for overt stroke in children with sickle cell anemia: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr*, 139(3):385-90, 2001.
- MOSER, F.G.; MILLER S.T.; BELLO, J.Á. et al. The spectrum of central nervous system abnormalities in sickle cell disease as defined by magnetic resonance imaging: A report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Am J Neuroradiol*, 17: 965-72, 1996.
- NEONATO, M.G.; GUILLOUD-BATAILLE, M. BEAUVAIS, P. et al. Acute clinical events in 299 homozygous sickle cell patients living in France. French Study Group on Sickle Cell Disease. *Eur J Haematol*, 65:155-64, 2000.
- NICHOLS, F.T.; JONES, A.M.; ADAMS, R.J. Stroke prevention in sickle cell disease (STOP) study guidelines for transcranial Doppler testing. *J Neuroimaging*, 11:354-62, 2001.
- OGUZ, K.K.; GOLAY, X.; PIZZINI, F.B.; FREER, C.A.; WINROW, N.; ICHORD, R. et al. Sickle cell disease: continuous arterial spin-labeling perfusion MR imaging in children. *Radiology*, 227(2):567-74, 2003.

- OHENE-FRENPPONG, K.; WEINER, S.J.; SLEEPER, L.A.; WANG, W.C. et al. Cerebrovascular accidents in sickle disease: Rate and risk factors. *Blood*, 91:288-94, 1998.
- OLD, J.M.; OLIVIERI, N.F.; THEIN, S.L. The laboratory diagnosis of the thalassemias. In Weatherall DJ, Clegg B, eds. *The thalassemia syndromes*, 4th ed. Oxford, Blackwell Science Ltd, 2001.p.597-723.
- PAULING, L.; ITALO, H.A.; SINGER, S.J. et al. Sickle cell anemia: a molecular disease. *Science*, 110: 543-546, 1949.
- PAVLAKIS, S.G.; BELLO, J.; PROHOVNIK, I. et al. Brain infarction in sickle cell anemia: magnetic resonance correlates. *Ann Neurol*, 23:125-30, 1988.
- PEGELOW, C.H.; MACKLIN, E.A.; MOSER, F.G.; et al. Longitudinal changes in brain magnetic resonance imaging findings in children with sickle cell disease. *Blood*, 99:3014-8, 2002.
- PEGELOW, C.H.; WANG, W.; GRANGER, S. ET AL. STOP Trial. Silent infarcts in Children with sickle cell anemia and abnormal cerebral artery velocity. *Arch Neurol*, 58:2017-21, 2001.
- POWARS, D.R.; CONTI, P.S.; WONG, W-Y. et al. Cerebral vasculopathy in sickle cell anemia: diagnostic contribution of positron emission tomography. *Blood*, 93:71-9, 1999.
- PRENGLER, M.; PAVLAKIS, S.G.; PROHOVNIK, I.; ADAMS, R.J. Sickle cell disease: the neurological complications. *Ann Neurol*, 51:543-52, 2002.
- REED, W.; JAGUST, W. AL-MATEEN, M.; VICHINSKY, E. Role of positron emission tomography in determining the extent of CNS ischemia in patients with sickle cell disease. *Am J Hematol*, 60:268-72, 1999.
- REED, W.; VICHINSKY, E. Tranfusion therapy: A coming-of-age treatment for patients with sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol*, 23: 197-202, 2001.
- RODGERS, G.P.; CLARK, C.M.; LARSON, S.M. et al. Brain glucose metabolism in neurologically normal patients with sickle cell disease. *Arch Neurol*, 45:78-82, 1988.

- SCHATZ, J.; BROWN, R.T.; PASCUAL, J.M.; HSU, L.; DEBAUN, M.R. Poor school and cognitive functioning with silent cerebral infarcts and sickle cell disease. *Neurology*, 56:1109-11, 2001.
- SERJEANT, G.R. Screening for sickle-cell disease in Brazil. *Lancet*, 356:168-9, 2000.
- STEEN, R. G.; MILES, M. A.; HELTON, K. J.; STRAWN, S.; WANG, W.; XIONG, X. et al. Cognitive impairment in children with hemoglobin SS sickle cell disease: Relationship to MR imaging findings and hematocrit. *AJNR Am J Neuroradiol*, 24: 382-9, 2003a.
- STEEN, R.G.; LANGSTON, J.W.; OGG, R.J. XIONG, X.; YE, Z.; WANG, W.C. Diffuse T1 reduction in gray matter of sickle cell disease patients: evidence of selective vulnerability to damage? *Magn Reson Imaging*, 17:503-15, 1999.
- STEEN, R.G.; XIONG, X.; LANGSTON, J.W.; HELTON, K.J. Brain Injury in children with sickle cell disease: prevalence and etiology. *Ann Neurol* 54:564-72, 2003b.
- STEINBERG, M.H.; EMBURY, S.H. Natural History: overview. In Embury SH, Heibel RP, Mohandas N, Steinberg M, eds. *Sickle cell disease: Basic principles and practice*. New York, Raven, 1994. p.349-52.
- STEINBERG, M.H.; BRUGNARA, C. Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle cell disease. *Annu Rev Med*, 54:89-112, 2003.
- SWIFT, A.V.; COHEN, M.J.; HYND, G.W. et al. Neuropsychologic impairment in children with sickle cell anemia. *Pediatrics*, 84(6):1077-85, 1989.
- SYDENSTRICKER, V.P.; MULHERIN, W.A.; HOUSEAL, R.W. Sickle cell anemia. *Am J Dis Child*, 26: 132-54, 1923.
- SZIRMAL, I.; VASTAGH, I.; SZOMBATHELYI, E.; KAMONDI, A. Strategic infarcts of the thalamus in vascular dementia. *J Neurol Sci*, 203-204:91-7, 2002.
- VAVILALA, M.S.; LEE, L.A.; LAM, A.M. Cerebral blood flow and vascular physiology. *Anesthesiol Clin North America*, 20:247-64, 2002.
- WANG, W.; ENOS, L.; GALLAGHER, D. et al, for the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Neuropsychological performance in school-aged children with sickle cell disease. A report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr*, 139:391-7, 2001.

WANG, W.C.; GALLAGHER, D.M.; PEGELOW, C.H. et al. Multicenter comparison of magnetic resonance imaging and transcranial doppler ultrasonography in the evaluation of the central nervous system in children with sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol*, 22:335-9, 2000.

WIZNITZER, M.; RUGGIERI, P.; MASARYK, T.; ROSS, J.; MODIC, M.; BERMAN, B. Diagnosis of cerebrovascular disease in sickle cell anemia by magnetic resonance angiography. *J Pediatr*, 117:551-5, 1990.

ZAGO, M.A. Considerações gerais. In *Manual de diagnóstico de tratamento de doenças falciformes*. Brasília, Anvisa, 2002.p.10-2.

***9- ANEXOS***

**ANEXO 1:** Tabela demonstrando as características demográficas e clínicas dos pacientes com DF

**ANEXO 2:** Tabela demonstrando resultados da análise baseada em voxel comparando as imagens de SPECT dos pacientes com as dos controles normais. Cada localização anatômica é associada com o valor de p correspondente a diferença de captação do traçador nas imagens dos pacientes em relação aos controles. O (SPM(t)) é uma representação t-estatística corrigida para a distribuição normal (SPM(z)) da análise realizada em voxels individuais. E a última coluna representa as coordenadas estereotáxicas da localização anatômica em um template (Talairach eTournoux).

**ANEXO 3:** Representação anatômica das regiões de hipoperfusão encontradas em pacientes com DF demonstradas sobre um template de RM.

**ANEXOS 4a e 4b** Representação anatômica das regiões de hipoperfusão encontradas em pacientes com DF demonstradas sobre um template de SPECT em cortes axiais (a) e coronais (b)

**ANEXO 5:** Aprovação do projeto pelo comitê de ética em pesquisa da FCM-UNICAMP

**ANEXO 6:** Termo de consentimento informado utilizado na pesquisa

**ANEXO 7:** Artigo com os resultados da pesquisa submetido a *Neurology* journal.

*ANEXO 1*

<b>SUJEITO</b>	<b>IDADE</b>	<b>Hb</b>	<b>Ht</b>	<b>Tipo DF</b>	<b>SEXO</b>
1	27	7,1	22,3	SS	M
2	38	10,3	30,2	Sβ	F
3	40	10,4	31	SS	M
4	31	10,9	27,8	SS	M
5	40	7,9	23,8	SS	F
6	26	10	27,7	SS	F
7	22	7,3	21,6	SS	F
8	50	7,5	22	SS	M
9	48	8,6	25,8	SS	F
10	23	9,4	27,8	SS	F
11	43	7,3	21,6	SS	M
12	36	11	31,8	SC	F
13	29	8,6	26	SS	F
14	41	10,7	30	SC	F
15	34	5,2	15,6	SS	F
16	34	9	25,4	SS	M
17	18	6,5	18	SS	F
18	28	8,1	24,5	SS	F
19	42	7,8	25,8	SS	M
20	59	10,4	32,3	SS	M
21	32	7	21,9	SS	M
22	21	7,9	24,4	SS	M
23	30	8,9	30	Sβ	F
24	21	7,8	22,2	SS	F
25	36	9,2	27,8	SS	F
26	28	12,4	34,8	SC	F

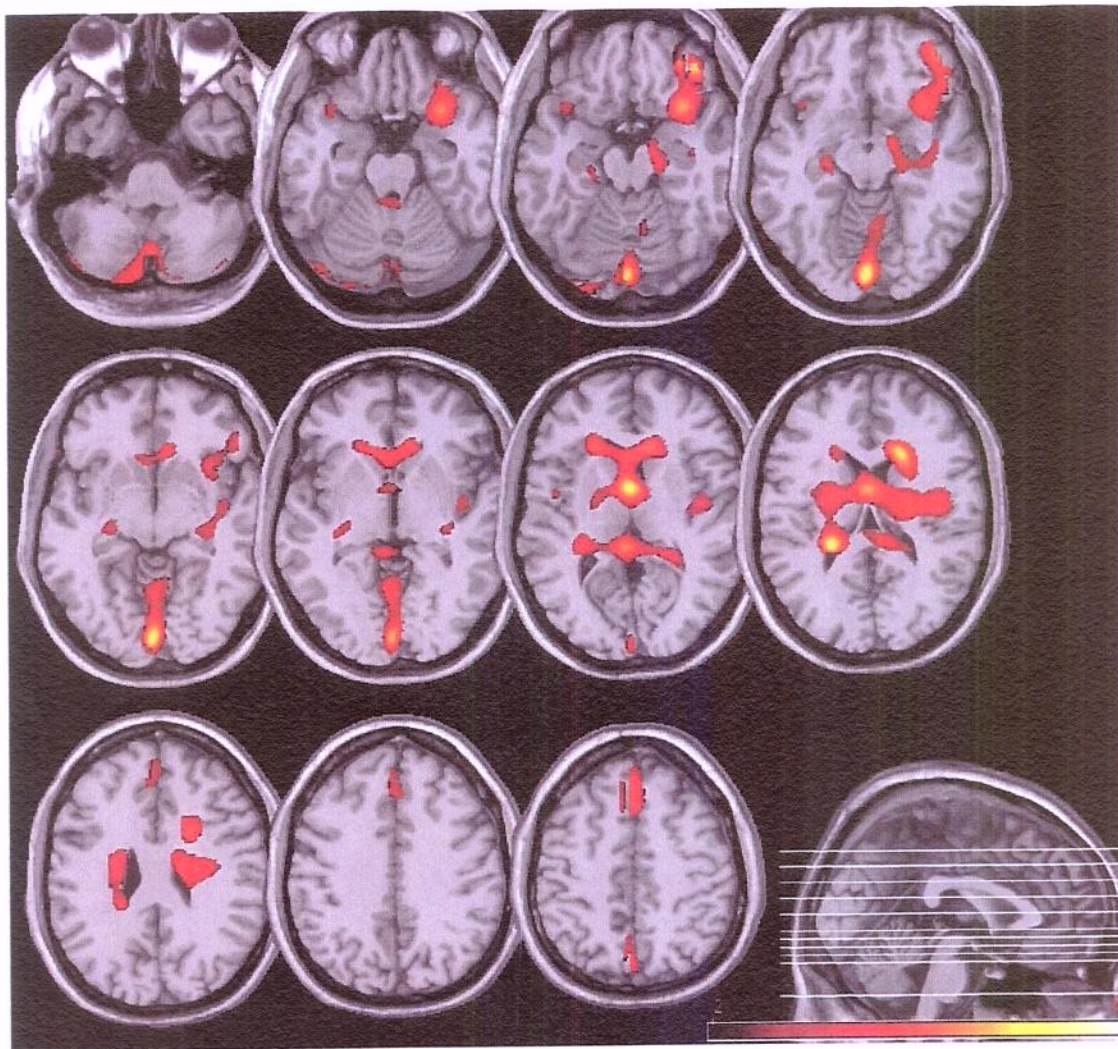
<b>SUJEITO</b>	<b>IDADE</b>	<b>Hb</b>	<b>Ht</b>	<b>Tipo DF</b>	<b>SEXO</b>
27	22	7,3	21,7	SS	M
28	25	9,9	29,2	SC	M
29	41	13,5	38,5	SC	F
30	52	8,6	24,5	SS	F
31	24	6,7	19,2	SS	F
32	35	7,3	21,4	SS	F
33	60	8,5	25,7	SS	F
34	22	8,4	24,3	SS	F
35	22	8,6	25,8	Sβ	F
36	43	6,8	18,3	SS	F
37	28	5,2	16,4	SS	M
38	32	6,9	20,3	SS	M
39	19	7,2	20,5	SS	F
40	38	9,1	27,3	SS	F
41	27	9,1	26,4	SC	F
42	37	8,7	25,2	SS	M
<b>Média</b>	<b>33,42857</b>	<b>8,547619</b>	<b>25,1619</b>		
<b>Desvio padrão</b>	<b>10,51629</b>	<b>1,73307</b>	<b>4,850846</b>		



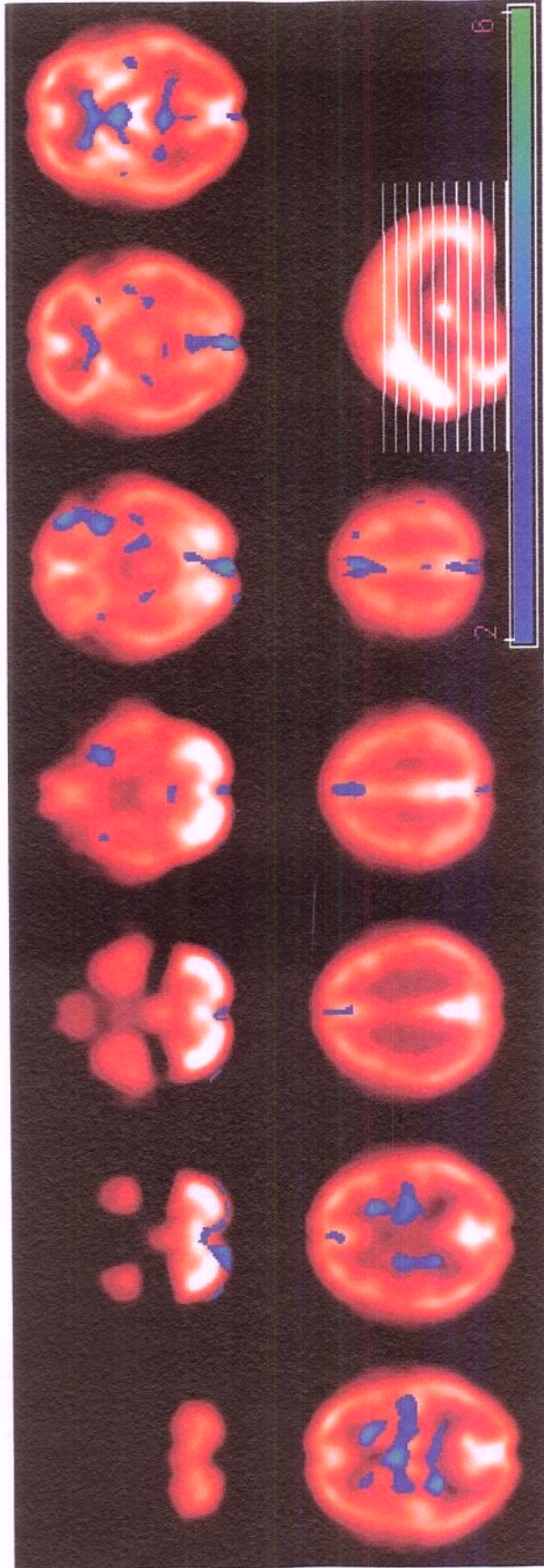
ANEXO 2

Estrutura	Análise de clusters			Análise de voxels				Coordenadas estereotaxicas x, y, z {mm}
	Valor de p (corrigido para múltiplas comparações)	Número de voxels no cluster	Valor de p (não corrigido para múltiplas comparações)	Valor de p (FDR - corrigido para múltiplas comparações)	SPM <sub>(0)</sub>	SPM <sub>(z)</sub>	Valor de p (não corrigido para múltiplas comparações)	
Cortex cerebelar rostral direito				0	6.27	5.69	0	17 -80 -50
Cortex occipital medial	0.045	8485	0.013	0.001	5.38	4.99	0	-0 -86 -12
Cortex cerebelar rostral esquerdo				0.002	4.71	4.44	0	-18 -80 -50
Polo frontal esquerdo				0	5.84	5.36	0	-42 47 -17
Cortex pré-frontal ventral esquerdo	0.271	3488	0.092	0.001	5.58	5.15	0	-42 39 -20
Cortex pré-frontal anterior ventral esquerdo				0.001	5.09	4.75	0	-35 44 -18
Transição fronto-parietal dorsolateral esquerda				0	5.77	5.3	0	-15 -39 81
Região fronto-parietal superior media	0.021	10899	0.006	0.001	5.22	4.86	0	-2 -36 81
Aspecto superior do sulco central esquerdo				0.001	5.15	4.8	0	-15 -29 81
Transição temporo-parieto-occipital	0.001	21018	0	0.001	5.3	4.93	0	21 -36 20
Fornix/ Diencéfalo central				0.001	5.29	4.91	0	-2 0 12
Região frontal anterior esquerda				0.001	5.07	4.74	0	-21 18 20
Aspecto súpero dorsal do giro precentral esquerdo	0.88	320	0.615	0.007	4.03	3.85	0	-44 -18 66
Aspecto dorso-lateral do giro precentral esquerdo				0.01	3.76	3.61	0	-48 -24 63
Giro parietal superior esquerdo	0.954	34	0.897	0.013	3.55	3.42	0	-30 -62 68
Parte superior do vermis	0.861	391	0.574	0.025	3.14	3.05	0.001	-2 -41 -24
Aspecto superior do cortex temporo polar esquerdo	0.901	237	0.672	0.029	3.04	2.95	0.002	36 15 -21
Sulco frontal superior esquerdo	0.939	89	0.813	0.033	2.97	2.89	0.002	-27 27 56
Ínsula direita	0.938	91	0.811	0.037	2.89	2.82	0.002	45 -3 8

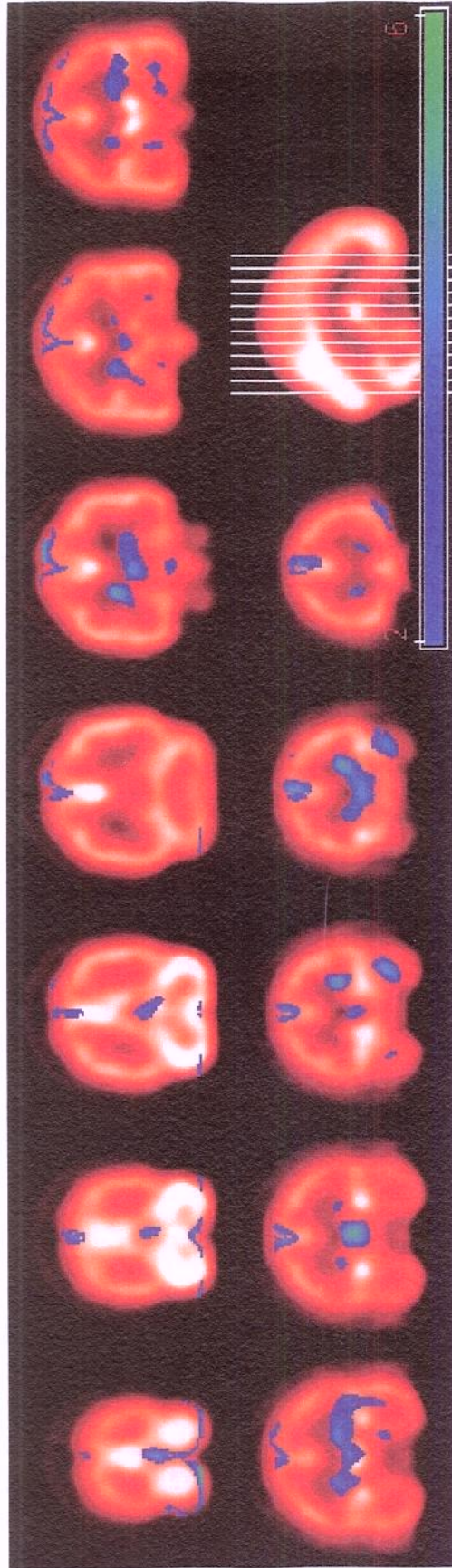
*ANEXO 3*



ANEXO 4a



ANEXO 4b



## ANEXO 5



### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Caixa Postal 6111  
13063-970 Campinas, SP  
☎ (0\_\_19) 3788-8936  
fax (0\_\_19) 3788-8925  
✉ [cep@head.fcm.unicamp.br](mailto:cep@head.fcm.unicamp.br)

CEP, 21/10/03  
(PARECER PROJETO 590/02)

### PARECER

#### I-IDENTIFICAÇÃO:

**PROJETO: "ALTERAÇÕES CEREBROVASCULARES DE PACIENTES ADULTOS COM DOENÇAS FALCIFORMES: AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA E DA NEUROIMAGEM COM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA, DOPPLER TRANSCRANIANO E SPECT CEREBRAL"**

**PESQUISADOR RESPONSÁVEL:** Sara Terezinha Olalla Saad

#### II - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP tomou ciência e aprovou a Emenda que acrescenta o Doppler transcraniano, bem como a alteração do título "DISTÚRBIOS COGNITIVOS E ALTERAÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL EM PACIENTES ADULTOS COM DOENÇAS FALCIFORMES" para "ALTERAÇÕES CEREBROVASCULARES DE PACIENTES ADULTOS COM DOENÇAS FALCIFORMES: AVALIAÇÃO NEUROPSICOLÓGICA E DA NEUROIMAGEM COM RESSONÂNCIA MAGNÉTICA, DOPPLER TRANSCRANIANO E SPECT CEREBRAL", referente ao protocolo de pesquisa supracitado.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

  
Prof. Dra. Carmen Sílvia Bertuzzo  
PRESIDENTE DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
FCM / UNICAMP

## ANEXO 6



Universidade Estadual de Campinas  
Departamento de Neurologia

---

**Projeto: "Alterações cerebrovasculares de pacientes adultos com doenças falciformes: avaliação da neuroimagem com ressonância magnética, doppler transcraniano e SPECT cerebral"**

### Consentimento informado

Você está sendo convidado a participar de um estudo no Hemocentro e Hospital das Clínicas da UNICAMP. Esta pesquisa tem o objetivo de verificar se a doença falciforme causou alguma lesão em seu cérebro que possa estar interferindo com suas atividades do dia a dia. Se comprovarmos pelo nosso estudo que há alterações e que os testes utilizados são bons para detectar estas alterações, então poderemos propor tratamentos para prevenir que as lesões progridam ou novas lesões apareçam.

Para tal estudo, nós gostaríamos de fazer testes para avaliação neurológica, neuropsicológica e neuropsiquiátrica e correlacionar estes testes com exames de sistema nervoso de ressonância magnética, medicina nuclear (SPECT cerebral) e Doppler transcraniano. Para a realização do teste de medicina nuclear será necessária a utilização de uma pequena quantidade de material radioativo: ECD-tecnécio-99m. Este material é utilizado há muito tempo em medicina nuclear e é desprovido de toxicidade. A meia vida deste radiofármaco é de apenas 6 horas, ou seja, após 6 horas, pelo menos metade da radioatividade já desapareceu do seu organismo. O teste consiste em injetar na veia 30mCi de ECD-Tecnécio-99m e então realizar imagens tomográficas em uma câmara de cintilação computadorizada. Esta cintilografia do cérebro permitirá avaliar se há alguma área de sofrimento e será comparada com a ressonância magnética.

A ressonância magnética é um exame em que você fica em repouso, deitado dentro de um aparelho que faz barulho (parece mar bravo batendo em pedras) e este aparelho registra imagens do seu cérebro.

O exame de Doppler transcraniano é como se fosse um ultra-som comum (ecografia), entretanto a sonda é colocada sobre a cabeça nos locais onde passam as artérias. Você ouvirá um barulho semelhante a uma cachoeira. Esse exame é importante para se avaliar os vasos sanguíneos do cérebro e se eles estão obstruídos. Nesse exame não se usa qualquer substância e o mesmo é inócuo, não causando qualquer dano a sua saúde.

A avaliação neurológica é realizada através de uma consulta médica comum, quando você será solicitado a responder a algumas perguntas específicas, desenhar algumas figuras, olhar e descrever algumas outras, verificar cores e outras coisas afins.

Se você não quiser participar do trabalho não haverá nenhum prejuízo ao seu atendimento no nosso hospital e você tem a liberdade de abandonar a pesquisa em qualquer tempo sem ter sua assistência médica comprometida.

Você tem garantia de privacidade, sigilo e anonimato pela sua participação na pesquisa e os resultados obtidos serão utilizados para divulgação científica apenas.



Formulário de Consentimento Após Informação

Carta de consentimento após informação para participação no estudo *"Alterações cerebrovasculares de pacientes adultos com doenças falciformes: avaliação da neuroimagem com ressonância magnética, doppler transcraniano e SPECT cerebral"*.

Nome do paciente: .....

Idade: ..... anos      R.G: ..... H.C: .....

Endereço: .....

.....

Aceito participar do estudo proposto, no qual me submeterei a testes de avaliação neurológica, neuropsicológica e neuropsiquiátrica. Farei também ressonância magnética do meu cérebro, teste de medicina nuclear (SPECT cerebral) utilizando material radioativo e Doppler transcraniano. Estou ciente de que este material será utilizado para um projeto que estuda se as doenças falciformes causam pequenas lesões cerebrais que causam comprometimento das minhas atividades do dia a dia. Sei que posso sair do estudo a qualquer momento e que isto não vai prejudicar o meu tratamento na UNICAMP. Sei ainda que meus dados pessoais serão mantidos em sigilo pelo pesquisador. Se tiver qualquer dúvida sobre o estudo poderei procurar as Dra. Sara Saad, Dra Camem Sílvia Lima, Dr. André Fattori (HEMOCENTRO F: 3788 8734), ou Dr. Leonardo de Deus Silva ou Dr. Benito Pereira Damasceno (NEUROLOGIA F: 37887507/ 37887754), médicos responsáveis pelo estudo, UNICAMP. Se tiver reclamações sobre qualquer procedimento do estudo, poderei procurar a secretaria do Comitê de Ética do FCM, UNICAMP, F: 3788 8936.



**Universidade Estadual de Campinas  
Departamento de Neurologia**

**Eu li/ouvi o conteúdo deste termo e recebi esclarecimentos sobre as minhas dúvidas oralmente.**

.....  
**Assinatura do paciente**

.....  
**Assinatura do pesquisador**

**Campinas, ...../...../.....**



**VOXEL-BASED ANALYSIS OF SPECT SHOWS BRAIN  
HYPOPERFUSION IN NEUROLOGICALLY ASYMPTOMATIC  
PATIENTS WITH SICKLE-CELL DISEASE**

*Leonardo Deus-Silva<sup>1,2</sup>, MD; Leonardo Bonilha<sup>2</sup>, MD, PhD; Benito P Damasceno<sup>1</sup>, MD, PhD; Fernando F Costa<sup>3</sup>, MD, PhD; Alan O Santos<sup>4</sup>, MD; Elba C S C Etchebehere<sup>4</sup>, MD, PhD; Regis Oquendo-Nogueira<sup>4</sup>, MD; Renata Fockink<sup>4</sup>; Edwaldo E Camargo<sup>4</sup>, MD, PhD; Li M Li<sup>1,2</sup>, MD, PhD; Fernando Cendes<sup>1,2</sup>, MD, PhD; Sara T Saad<sup>3</sup>, MD, PhD*

Disclosure: The authors have reported no conflicts of interest.

Word Count Abstract: 188

Word Count Text: 2620

Supplemental Data: color version of figure 1 to be published online (color\_version.ppt)

<sup>1</sup> Department of Neurology – State University of Campinas – Campinas – Brazil

<sup>2</sup> Laboratory of Neuroimaging - State University of Campinas – Campinas – Brazil

<sup>3</sup> Hematology and Hemotherapy Center - State University of Campinas – Campinas – Brazil

<sup>4</sup> Division of Nuclear Medicine – Department of Radiology – State University of Campinas – Campinas/SP – Brazil

## Abstract

**Background:** Cerebrovascular lesions are frequently observed in patients with sickle cell disease (SCD) and these structural lesions are preceded by insidious perfusion deficits.

**Objectives:** Our aim was to investigate the presence of brain perfusion deficits in neurologically asymptomatic SCD patients.

**Methods:** Forty-two SCD patients (33 HbSS, 6 HbSC and 3 HbS $\beta$ ) with mean hematocrit of 25.1 ( $\pm$ 4.85; 15.6-38.5) were submitted to brain perfusion single photon emission tomography (SPECT) using the tracer  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD. Images from SCD patients were compared to images of a healthy control group (29 females and 20 males, mean age 31  $\pm$ 8; range 25-49 years). Images underwent voxel-wise comparison of regional tracer uptake using paired t-test to estimate the probability of each voxel to have an increased or decreased tracer uptake.

**Results:** When compared to controls, SCD patients had significantly reduced tracer uptake in basal ganglia and thalami, the anterior frontal region and the watershed region of the temporo-parietal-occipital transition. ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions:** Our study demonstrates that neurologically asymptomatic adult SCD patients exhibit a pattern of reduced  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD tracer uptake demonstrated by SPECT. Early detection of cerebral hypoperfusion may help in preventing stroke in patients with SCD.

keywords: sickle cell disease; brain perfusion; SPECT; voxel based analysis.

## 1-Introduction

Severe hemolytic anemia, vascular occlusions and cumulative organ damage secondary to infarcts are frequently found among the clinical manifestations of patients with sickle cell disease (SCD). Neurological dysfunction is a well known complication in patients with SCD. It is usually manifested as an acute cerebrovascular accident, or alternatively as a headache, seizure or cognitive decline.<sup>1</sup> Children and teenagers are particularly vulnerable to overt cerebrovascular complications of SCD.<sup>2</sup> Steen et al have shown that at an average age of 10 years, the estimated prevalence of vasculopathy in the homozygous for hemoglobin S (SS) patients detected by magnetic resonance imaging (MRI) was 64%.<sup>3</sup>

The Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD) demonstrated that the incidence rate of a first stroke by the age of 20 is 11% in SS patients.<sup>4,5</sup> While young patients tended to have occlusive strokes, hemorrhagic strokes were more common in the 20-29 year old patients. The CSSCD also analyzed structural magnetic resonance imaging (MRI) from 312 patients, and reported that ischemic lesions were present in 13% of all SCD patients without a clinical history of overt stroke. These “silent infarcts” have been shown to be associated with neuropsychological decline, progressive brain injury and are a significant risk factor for overt stroke in SCD patients.<sup>6,7</sup>

Currently, the screening for silent cerebrovascular disease in patients with SCD is performed by a combination of techniques including visual inspection of structural MRI, transcranial Doppler (TCD) and MR angiography (MRA).<sup>8</sup> A follow-up study by Seibert et al<sup>9</sup> demonstrated that an abnormal MRA is highly predictive of stroke in asymptomatic patients with SCD, and suggested that screening for cerebrovascular disease should be performed first with TCD and followed by MRA if the TCD reveals any abnormality. However, this combination of techniques may occasionally fail to detect cerebrovascular abnormalities, especially at the microvascular level. Wang et al<sup>10</sup> examined 78 asymptomatic children with SCD and observed that the structural MRI and TCD are often discordant, suggesting the need for a more sensitive and specific indicator of early cerebrovascular dysfunction. Indeed, TCD is not a reliable method to screen for silent

infarcts. It is limited to the evaluation of cerebral blood flow velocity of large arteries while silent infarcts are routinely found in patients with normal cerebral blood flow velocity.<sup>10</sup> Likewise, structural MRI may not be able to assess the status of the microcirculation where the sickled red blood cells obstruct the blood flow leading to regional ischemia and progressive organ injury without necessarily causing detectable structural abnormalities at the scale measured by this tool.<sup>11</sup>

Perfusion and metabolic imaging techniques such as positron emission tomography (PET) have been used to investigate the microvascular blood flow in patients with SCD. Powars et al<sup>12</sup> used PET to detect abnormalities missed out by structural MRI in patients with SCD and a history of stroke and Reed et al found a metabolic compromise that extended beyond any corresponding anatomic abnormality demonstrated on MRI.<sup>13</sup> Perfusion MRI has also been used to assess cerebral blood flow (CBF) in asymptomatic SCD children with results depicting reduced perfusion in areas shown to be normal on conventional MRI.<sup>14</sup>

It is conceivable that the neurological complications due to microvascular compromise in SCD are still underestimated. Since microvascular damage is prevalent in patients with SCD and structural lesions are preceded by insidious perfusion deficits,<sup>15</sup> an abnormal pattern of perfusion in adult patients with SCD should be expected. Of particular interest, this measure should detect abnormalities in patients with SCD who have not suffered any overt brain injury. If SCD specifically leads to reduced microvascular compliance, reduced perfusion particularly in regions that are anatomically perfused by perforating or terminal branches of cerebral arteries should be observed.

Single photon emission tomography (SPECT) is a functional neuroimaging technique that allows a noninvasive evaluation of the physiological and pathophysiological status of the brain<sup>16</sup>. Ethyl-cysteinate-dimer labeled with technetium-99m (<sup>99m</sup>Tc-ECD) is a lipophilic compound that crosses the blood brain barrier, entering the neuronal cell where it is converted to a hydrophilic form, remaining trapped inside the cell. The distribution of this tracer in the brain is proportional to regional cerebral blood flow (rCBF). However, <sup>99m</sup>Tc-ECD is a perfusion agent that demands a metabolic process of desterification inside the cell and is therefore an indirect indication of metabolism.<sup>15</sup> PET imaging is

characterized by a higher resolution, sensitivity and can be quantified in absolute units. However, SPECT is easier to perform as a routine procedure due to its lower cost, simplicity and availability.

To investigate the hypothesis of an insidious brain perfusion compromise in SCD patients, a voxel-based analysis of  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD SPECT images of the whole brain of neurologically asymptomatic adult patients with SCD was performed. Tracer uptake of SCD patients and tracer uptake in a group of neurologically healthy controls that did not suffer from SCD were compared to identify areas with abnormal perfusion.

## **2-Methods**

### **2.1- Subjects and clinical assessment**

Forty two patients with SCD from the hemoglobinopathy outpatient clinics of the State University of Campinas Hematology and Hemotherapy Center (Hemocentro - Unicamp), distributed as 27 females and 15 males with mean age of 33.4 years ( $\pm 10.55$ , range 18-60) were included in this study. The inclusion criteria were to be at least 18 years old, a clear clinical and laboratory diagnosis of any SCD and being available for regular follow-up. The laboratory diagnosis of SCD was based on hemoglobin electrophoresis and genetic testing. The 42 patients had no neurological symptoms during the time of investigation. They were thoroughly examined by a neurologist upon their enrollment to exclude any unsuspected neurological disorder. They were submitted to a structural MRI of the brain to exclude any gross intracranial pathology. Systemic arterial hypertension, cancer, diabetes, vasculitis, pregnancy, AIDS, or any other relevant medical condition were exclusion criteria for this study.

The SCD types were distributed as follows: 33 HbSS (14 males and 19 females), 6 HbSC (1 male and 5 females) and 3 HbS $\beta$  (3 females). The mean steady state hemoglobin level measured in the period of up to 2 weeks before or after imaging acquisition was 8.5 ( $\pm 1.73$ ; 5.2-13.5) and the mean hematocrit was 25.1 ( $\pm 4.85$ ; 15.6-38.5).

The group of patients with SCD was compared to a group of healthy control subjects (29 females and 20 males, mean age  $31 \pm 8$ ; range 25-49 years) recruited within the local community, who were submitted to the same imaging protocol used in the SCD patients.

This study was approved by the Ethical Committee of our institution and informed consent was obtained from all patients.

## **2.2-SPECT imaging**

To perform brain perfusion SPECT, the patients rested supine in a dark, quiet room for 30 minutes before injection. To reduce brain stimuli, the patients had an intravenous catheter placed prior to tracer injection for the infusion of 0.9% saline solution at a slow rate. They were then injected with 1100 MBq of the rCBF SPECT tracer  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD intravenously and remained at rest for 15-20 additional minutes. Image acquisition started 30 minutes post injection with a single headed scintillation camera (APEX SP6 ELSCINT, Haifa, Israel), equipped with a fan-beam collimator. Sixty views were acquired every 6 degrees in a 360 degrees fixed circular orbit around the patients' heads ( $64 \times 64$  matrix, 30 seconds per view). Images were reconstructed by filtered backprojection and Metz filtering (FWHM = 14 mm). Attenuation correction was performed by Chang first order method (attenuation coefficient =  $0.115 \text{ cm}^{-1}$ ). Reconstructed transaxial images were reformatted and displayed as sagittal, axial and coronal sections.

## **2.3- Preprocessing of SPECT images**

Reconstructed transaxial datasets were transformed into ANALYZE using MRIcro software (Chris Rorden, [www.mricro.com](http://www.mricro.com)). Voxel based analysis was performed using SPM2 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, [www.fil.ion.ucl.ac.uk](http://www.fil.ion.ucl.ac.uk)). Images were spatially normalized to a standard anatomical template using linear transforms followed by 16 nonlinear iterations with medium regularization. After normalization, the

images were convolved with an Isotropic Gaussian Kernel (FWHM) of 10 mm to minimize gyral inter-individual variability and create images that are more normally distributed thus permitting voxel-wise analysis. The normalized smoothed images underwent between group comparisons of regional tracer uptake by using paired t-tests. Contrasts were defined to estimate the probability of each voxel to have an increased or decreased tracer uptake in images from patients with SCD compared to images from the control group.

## 2.4 -Statistical Analysis

Group differences for age were assessed using one-way ANOVA, and the gender distribution was evaluated with the Chi square test.

The normalized and smoothed data was analyzed using SPM2. SPECT images from patients with SCD were compared to the SPECT images of normal controls using two-sample t-test. The  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD uptake was standardized to the mean global uptake using proportional scaling. Only voxels with signal intensities above a gray matter threshold of 0.8 were entered in each analysis. The results from the analysis are a parametric map of t-statistic ( $\text{SPM}_{(t)}$ ) corrected for normal distribution ( $\text{SPM}_{(z)}$ ). The statistical threshold was a false discovery rate (FDR) corrected  $p < 0.05^{17}$  with an extent threshold looking for clusters with at least 32 contiguous voxels (Height threshold:  $T = 2.67$ ).

## 3- Results

The values of the t-statistic ( $\text{SPM}_{(t)}$ ) and ( $\text{SPM}_{(z)}$ ) are displayed in Table1, showing the regions of reduced tracer uptake in patients with SCD. Regions of tracer uptake excess in patients with SCD were not observed in comparison to controls. The three dimensional rendering of the parametric map of t-statistic was overlaid in a normal brain perfusion SPECT template as shown in Figure1.

A widespread reduced tracer uptake, corresponding to reduced blood flow was found in patients with SCD when compared to normal controls. In summary we observed hypoperfusion involving the cerebellar hemispheres and vermis, the frontal and prefrontal cortex, especially the left, the fronto-parietal transition, the posterior periventricular region, the temporo-parietal-occipital transition, the central forebrain and the ventral aspect of basal ganglia and thalami.

#### **4-Discussion**

Our results demonstrate that neurologically asymptomatic adult SCD patients exhibit brain perfusion abnormalities in areas primarily supplied by small and terminal branches of arterial blood vessels. Specifically, we observed a decreased tracer uptake in the basal central forebrain, including the basal ganglia and thalami, watershed areas of the anterior circulation and cerebellar and occipital cortex. These findings may contribute to the understanding of mechanisms underlying the evolution of cerebral vasculopathy of SCD patients.

Silent cerebral vasculopathy in SCD patients is a major topic of research because it is strongly associated with increased stroke risk and progressive cognitive decline.<sup>18</sup> Wang et al<sup>19</sup> have recently demonstrated psychometric decline in performance with age in SCD patients with normal MRI, indicating brain dysfunction in SCD patients even when no structural damage is detected by MRI.<sup>19</sup>

Significant hypoperfusion in the basal ganglia and thalami was found in the present study. These areas have already been described as frequent sites of ischemic damage in SCD patients. Pegelow et al<sup>20</sup> evaluated 47 neurologically normal SCD children with MRI and found a total of 129 lesions; of these, 14 lesions were in the thalami and basal ganglia. In the CSSCD 27% of the patients with MRI abnormalities were found to have lesions in the thalamus and basal ganglia.<sup>20</sup> Our results complement research showing the caudate, thalamus and cortex as areas of selective vulnerability to damage in SCD patients.<sup>21</sup> The hypoperfusion we observed in the thalamus and basal ganglia is possibly an additional factor accounting for the development of cognitive decline in SCD patients.



Similar to vascular dementia,<sup>22</sup> the slowness of mental labor, attention deficits and dysfunction of working memory found in SCD patients could be attributed in part to disruption of thalamic function and interruption of thalamocortical connections.

We observed hypoperfusion in the frontal lobes, especially in medial areas. These regions are also recognized as frequently damaged in SCD patients. Studies using PET to evaluate brain perfusion in SCD patients have previously demonstrated hypometabolism in frontal areas and hypoperfusion in areas that appear to be normal on structural MRI.<sup>12, 23, 24</sup> Pegelow et al<sup>25</sup> performed a longitudinal assessment of MRI changes on the brains of SCD patients and observed that the frontal lobe was the most frequent location of ischemic damage in both neurologically asymptomatic and patients with a previous stroke.<sup>25</sup> Frontal lobe lesions were detected in 81% of the children with silent infarcts and in 94.4% of those with a history of prior stroke. This finding suggests an early involvement of the frontal lobes in SCD brain vasculopathy and this may be an important predictive factor for overt stroke, since children with silent infarcts were significantly less likely to have lesions in the frontal cortex, as compared to patients with a history of a previous stroke.

We observed low tracer uptake in cerebellum, interestingly affecting the cerebellar hemisphere contralateral to the most hypoperfused cortical hemisphere more. This hypoperfusion may result from functional disconnection of the contralateral cerebellar neurons from their correspondent cerebral neurons. Interruption of the cerebropontine-cerebellar pathway is thought to be the most likely mechanism of this remote transneuronal metabolic depression known as diaschisis<sup>26</sup> and SPECT is a sensitive method for detecting this crossed cerebellar hypoperfusion.<sup>27</sup>

SPECT imaging is a low-sensitivity method to white matter perfusion. The SPECT tracer distribution has a gray matter to white matter 4:1 ratio, and as a consequence cortical hypoperfusion is more accurately visualized. In this study we observed clusters of hypoperfused areas in patients with SCD that spanned over subcortical white matter, especially in the temporo-parietal-occipital transition. These findings are possibly a reflection of a widespread reduction of perfusion affecting the surrounding gray matter. These findings may improve our understanding of the progression of SCD brain

vasculopathy. The observed reduction of tracer uptake may reflect ischemia, hypometabolism or both.<sup>15</sup> Patients with SCD are chronically anemic and this condition increases the CBF due to hemodilution and as a compensatory response to decreased oxygen delivery.<sup>3</sup> However, this hyperemic status predisposes to turbulent blood flow and subsequent endothelial cell injury, leading to hemodynamic shear stress and vessel wall damage.<sup>1, 28</sup> Besides that, erythrocytes having HbS are very sensitive to oxygen saturation reduction. Polymerization of deoxygenated HbS is the initial step of a multifactorial, heterocellular event, causing erythrocyte sickling in the microvasculature and subsequent adhesion of these cells to endothelium which triggers a vast array of vascular microenvironmental modifications.<sup>29</sup> This sickle cell-induced vaso-occlusion is a very complex process and involves the participation of vascular cell adhesion molecules, especially VCAM-1, proinflammatory cytokines, leukocytes and other active metabolites, all contributing to the enhanced cell-endothelium adherence.<sup>30</sup>

Coupling of blood flow and metabolism is the most important control of the cerebral circulation. Neuronal activation increases the consumption of glucose and oxygen and therefore induces an increase in CBF in order to accommodate this metabolic demand.<sup>31</sup> However, in SCD patients, these auto-regulatory mechanisms might be compromised due to progressive vascular damage secondary to repetitive sickling.<sup>1, 21</sup> This auto-regulatory failure is even more significant in hypoxemic conditions, in which the expected cerebral vasodilation response may not occur as it might already be exhausted.<sup>32</sup> The observed hypoperfusion could result from a combination of vaso-occlusion leading to ischemia, vascular auto-regulatory failure and selective tissue damage secondary to an insufficient oxygen delivery in high metabolic states. The hypoperfusion detected in the occipital lobes is an important illustration of damage in a region of high metabolism since visual stimuli are important determinants of neuronal activation.

In conclusion, we observed an anatomical pattern of regional decreased brain perfusion in asymptomatic patients with SCD using <sup>99m</sup>Tc-ECD SPECT. Specifically, we observed hypoperfusion in regions supplied by microvessels. We suggest that these brain areas may be more susceptible to insidious and silent brain injury due to SCD vasculopathy. These findings could have a prognostic application and offer a reliable

measure for evaluating treatments designed to reduce the incidence of brain lesions and cognitive dysfunction in SCD patients.

Acknowledgements:

This research was supported by FAPESP grants # 03/11490-7 and 00/04710-2.

The authors thank Dr. Chris Rorden for thoughtful comments and helpful suggestions.

Legends

**Table1 –Results of the voxel based comparison of SPECT images between controls and SCD patients.** It The table outlines the anatomical locations where reduced  $^{99m}\text{Tc}$ -ECD tracer uptake was observed in patients with SCD. Each anatomical location is followed by the display of the corresponding p-values and the cluster size in voxels of the cluster of contiguous voxels that was observed to show reduced perfusion. Each location is also followed by the t-statistic (SPM(t)) corrected for normal distribution (SPM(z)) of the analysis performed with individual voxels. Finally, the stereotaxic coordinates for the anatomical locations is displayed. A Height threshold:  $T = 2.67$ ,  $p = 0.004$  (0.968), was used, with p-values adjusted for the number of voxels contained within the entire volume. We restricted the analysis to voxels that belonged to clusters with at least 32 voxels.

**Figure1 – Parametric map of the t-statistic (SPM<sub>(t)</sub>) depicts the location and the statistical significance of voxels with a significant probability of decreased tracer uptake and therefore reduced blood flow in patients with SCD compared to controls.** The map is illustrated in a “glass brain template” in radiological convention (i.e., the left side of the brain is displayed in the right side of the image). The statistical threshold was set at  $p < 0.05$  looking for clusters with at least 32 contiguous voxels, corrected by multiple comparisons using FDR.

**Table 1:**

Structure	Cluster level analysis			Voxel level analysis				Stereotaxic Coordinates x,y,z {mm}
	p-value (Bonferroni corrected for multiple comparisons)	Number of voxels within cluster	p-value (uncorrected for multiple comparisons)	p-value (FDR-corrected for multiple comparisons)	SPM <sub>(t)</sub>	SPM <sub>(z)</sub>	p-value (uncorrected for multiple comparisons)	
Right rostral cerebellar cortex	0.045	8485	0.013	0	6.27	5.69	0	17 -80 -50
Medial occipital cortex				0.001	5.38	4.99	0	-0 -86 -12
Left rostral cerebellar cortex				0.002	4.71	4.44	0	-18 -80 -50
Left frontal pole	0.271	3488	0.092	0	5.84	5.36	0	-42 47 -17
Left ventral prefrontal cortex				0.001	5.58	5.15	0	-42 39 -20
Left anterior ventral prefrontal cortex				0.001	5.09	4.75	0	-35 44 -18
Left upper dorsolateral fronto-parietal transition	0.021	10899	0.006	0	5.77	5.3	0	-15 -39 81
Upper medial fronto-parietal region				0.001	5.22	4.86	0	-2 -36 81
Left upper aspect of central sulcus				0.001	5.15	4.8	0	-15 -29 81
Posterior horn of right lateral ventricle/ temporo-parietal-occipital transition	0.001	21018	0	0.001	5.3	4.93	0	21 -36 20
Fornix/ Central Forebrain				0.001	5.29	4.91	0	-2 0 12
Left anterior frontal region				0.001	5.07	4.74	0	-21 18 20
Upper dorsal aspect of left precentral gyrus	0.88	320	0.615	0.007	4.03	3.85	0	-44 -18 66
Upper dorso-lateral aspect of left precentral gyrus				0.01	3.76	3.61	0	-48 -24 63
Left superior parietal gyrus	0.954	34	0.897	0.013	3.55	3.42	0	-30 -62 68
Fourth ventricle/ Upper aspect of vermis	0.861	391	0.574	0.025	3.14	3.05	0.001	-2 -41 -24
Upper aspect of right temporopolar cortex	0.901	237	0.672	0.029	3.04	2.95	0.002	36 15 -21
Left superior frontal sulcus	0.939	89	0.813	0.033	2.97	2.89	0.002	-27 27 56
Right insula	0.938	91	0.811	0.037	2.89	2.82	0.002	45 -3 8

## REFERENCES:

- 1- Prengler M, Pavlakis SG, Prohovnik I, Adams RJ. Sickle cell disease: the neurological complications. *Ann Neurol* 2002;51:543-552.
- 2- Adams RJ. Lessons from the Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP) study. *J Child Neurol* 2000;15:344-349.
- 3- Steen RG, Xiong X, Langston JW, Helton KJ. Brain Injury in children with sickle cell disease: prevalence and etiology. *Ann Neurol* 2003;54:564-572.
- 4- Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998;91:288-294
- 5- Moser FG, Miller ST, Bello JA, et al. The spectrum of brain MR abnormalities in sickle-cell disease: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17:965-972.
- 6- Armstrong FD, Thompson RJ Jr, Wang W, et al. Cognitive functioning and brain magnetic resonance imaging in children with sickle Cell disease. *Neuropsychology Committee of the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Pediatrics* 1996;97:864-870.
- 7- Miller ST, Macklin EA, Pegelow CH, et al. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Silent infarction as a risk factor for overt stroke in children with sickle cell anemia: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr* 2001;139:385-390.
- 8- Adams RJ, McKie VC, Hsu L, et al. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography. *N Engl J Med* 1998;339:5-11.
- 9- Seibert JJ, Glasier CM, Kirb RS, et al. Transcranial doppler, MRA, and MRI as a screening examination for cerebrovascular disease in patients with sickle cell anemia: an 8-year study. *Pediatr Radiol* 1998;28:138-142

- 10- Wang WC, Gallagher DM, Pegelow CH, et al. Multicenter comparison of magnetic resonance imaging and transcranial Doppler ultrasonography in the evaluation of the central nervous system in children with sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000;22:335-339.
- 11- Winrow N, Melhem ER. Sickle cell disease and stroke in a pediatric population. Evidence-based diagnostic evaluation. *Neuroimaging Clin N Am* 2003;13:185-196.
- 12- Powars DR, Conti PS, Wong W-Y et al. Cerebral vasculopathy in sickle cell anemia, diagnostic contribution of positron emission tomography. *Blood* 1999;93:71-79.
- 13- Reed W, Jagust W, Al-Mateen M, Vichinsky E. Role of positron emission tomography in determining the extent of CNS ischemia in patients with sickle cell disease. *Am J Hematol* 1999;60:268-272.
- 14- Oguz KK, Golay X, Pizzini FB, et al. Sickle cell disease: continuous arterial spin-labeling perfusion MR imaging in children. *Radiology* 2003;227:567-574
- 15- Catafau AM. Brain SPECT in Clinical Practice. Part I: Perfusion. *J Nucl Med* 2001;42:259-271.
- 16- Daube-Witherspoon ME, Zubal IG, Karp JS. Developments in instrumentation for emission computed tomography. *Semin Nucl Med* 2003;33:28-41
- 17- Christopher R. Genovese, Nicole A. Lazar, Thomas E. Nichols. Thresholding of Statistical Maps in Functional Neuroimaging Using the False Discovery Rate. *NeuroImage* 2002;15:870-878.
- 18- Adams RJ, Ohene-Frempong K, Wang W. Sickle cell and the brain. *Hematology* 2001;:31-46.
- 19- Wang W, Enos L, Gallagher D, et al. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Neuropsychologic performance in school-aged children with sickle cell disease: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr* 2001;139:391-397.
- 20- Pegelow CH, Wang W, Granger S, et al. STOP Trial. Silent infarcts in Children with sickle cell anemia and abnormal cerebral artery velocity. *Arch Neurol* 2001;58:2017-2021.

- 21- Steen RG, Langston JW, Ogg RJ, Xiong X, Ye Z, Wang WC. Diffuse T1 reduction in gray matter of sickle cell disease patients: evidence of selective vulnerability to damage? *Magn Reson Imaging* 1999;17:503-515.
- 22- Szirmai I, Vastagh I, Szombathelyi E, Kamondi A. Strategic infarcts of the thalamus in vascular dementia. *J Neurol Sci* 2002;203-204:91-97.
- 23- Herold S, Brozovic M, Gibbs J et al. Measurement of regional cerebral blood flow, blood volume and oxygen metabolism in patients with sickle cell disease using positron emission tomography. *Stroke* 1986;17:692-698.
- 24- Rodgers GP, Clark CM, Larson SM, Rapoport SI, Nienhuis AW, Schechter AN. Brain glucose metabolism in neurologically normal patients with sickle cell disease. Regional alterations. *Arch Neurol* 1988;45:78-82.
- 25- Pegelow CH, Macklin EA, Moser FG, et al. Longitudinal changes in brain magnetic resonance imaging findings in children with sickle cell disease. *Blood* 2002;99:3014-3018.
- 26- Baron JC, Bousser MG, Comar D, et al. Crossed cerebellar diaschisis in human supratentorial brain infarction. *Trans Am Neurol Assoc* 1980;105:459-461.
- 27- Camargo EE. Brain SPECT in neurology and psychiatry. *J Nucl Med* 2001;42:611-623.
- 28- Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *J Am Med Assoc* 1999;282:2035-2042.
- 29- Steinberg MH, Brugnara C. Pathophysiological-based approaches to treatment of sickle cell disease. *Annu Rev Med* 2003;54:89-112.
- 30- Frenette PS. Sickle cell vaso-occlusion: multistep and multicellular paradigm. *Curr Opin Hematol* 2002;9:101-106.
- 31- Vavilala MS, Lee LA, Lam AM. Cerebral blood flow and vascular physiology. *Anesthesiol Clin North America* 2002;20:247-264.
- 32- Kirkham FJ, Hewes DKM, Prengler M, Wade A, Lane R, Evans JPM. Nocturnal hypoxaemia and central nervous system events in sickle-cell disease. *Lancet* 2001;357:1656-1659.

Supplemental data legend (to be published online only)

**Figure 1** – Parametric map of the t-statistic ( $SPM_{(t)}$ ) depicts the location and the statistical significance of voxels with a significant probability of decreased tracer uptake and therefore reduced blood flow in patients with SCD compared to controls. The map is illustrated in a magnetic resonance template.

Corresponding author:

Fernando Cendes, MD, PhD

Department of Neurology

State University of Campinas - Unicamp

Cidade Universitária Zeferino Vaz

Campinas, SP – Brazil

13083-888

E-mail: fcendes@unicamp.br