



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

JOSÉ THIAGO DE SOUZA DE CASTRO

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA PÚRPURA
TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: AVALIAÇÃO DAS LESÕES CEREBRAIS
ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

***CENTRAL NERVOUS SYSTEM INVOLVEMENT IN THROMBOTIC
THROMBOCYTOPENIC PURPURA: ASSESSMENT OF BRAIN LESIONS USING
MAGNETIC RESONANCE IMAGING***

CAMPINAS

2024

JOSÉ THIAGO DE SOUZA DE CASTRO

**ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL NA PÚRPURA
TROMBOCITOPÊNICA TROMBÓTICA: AVALIAÇÃO DAS LESÕES CEREBRAIS
ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

***CENTRAL NERVOUS SYSTEM INVOLVEMENT IN THROMBOTIC
THROMBOCYTOPENIC PURPURA: ASSESSMENT OF BRAIN LESIONS USING
MAGNETIC RESONANCE IMAGING***

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências, na área de Neurologia.

Thesis presented to the Faculty of Medical Sciences of the State University of Campinas as part of the requirements required to obtain the title of Doctor in Sciences, in the area of Neurology.

ORIENTADOR: PROF. DR. FABIANO REIS

COORIENTADORA: PROFA. DRA. FERNANDA LOUREIRO DE ANDRADE ORSI

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO
ALUNO JOSÉ THIAGO DE SOUZA DE CASTRO,
E ORIENTADA PELO PROF. DR. FABIANO REIS.

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Maristella Soares dos Santos - CRB 8/8402

C279e Castro, José Thiago de Souza de, 1983-
Envolvimento do sistema nervoso central na púrpura trombocitopênica
trombótica : avaliação das lesões cerebrais através da ressonância magnética /
José Thiago de Souza de Castro. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Fabiano Reis.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Púrpura trombocitopênica trombótica. 2. Neurologia. 3. Hematologia. I.
Reis, Fabiano, 1975-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Central nervous system involvement in thrombotic
thrombocytopenic purpura : assesstment of brain lesions using magnetic ressonance
imaging

Palavras-chave em inglês:

Purpura, Thrombotic thrombocytopenic
Neurologuy
Hematology

Área de concentração: Neurologia

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora:

Fabiano Reis [Orientador]
Laura Silveira Moriyama
Sérgio San Juan Dertkgil
Juliana Ávila Duarte
Claudia da Costa Leite

Data de defesa: 27-06-2024

Programa de Pós-Graduação: Ciências Médicas

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-6009-8807>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/2786639579586455>

COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

JOSÉ THIAGO DE SOUZA DE CASTRO

ORIENTADOR: PROF. DR. FABIANO REIS

COORIENTADORA: PROFA. DRA. FERNANDA LOUREIRO DE ANDRADE ORSI

MEMBROS TITULARES:

1. PROF. DR. Fabiano Reis

2. PROFA. DRA. Laura Silveira Moriyama

3. PROF. DR. Sérgio San Juan Dertkigil

4. PROFA. DRA. Juliana Avila Duarte

5. PROFA. DRA. Claudia da Costa Leite

Programa de Pós-Graduação em Ciência Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Tese e na Secretaria do Programa da FCM.

Data de Defesa: 27/06/2024

DEDICATÓRIA

Às minhas filhas (Maria Eduarda Marcili de Castro e Sofia Marcili de Castro);

À minha esposa (Kely Cristina Marcili de Castro);

À minha mãe (Luzia Ferreira de Souza); e

À minha avó materna (Maria Benedita de Souza “*Fiica*”) – *In memoriam*.

PÁGINA DE AGRADECIMENTOS

*Ao prof. Dr. Fabiano Reis,
por ter confiado e acreditado nesse projeto. Um projeto desafiador, que envolveu
diversas áreas da ciência.*

*À profa. Dra. Fernanda Orsi,
que foi fundamental para minha compreensão de temas relacionados à
hematologia, além de conceitos de pesquisa científica.*

*Agradeço a profa. Dra. Letícia Rittner,
e seus alunos, fundamentais para as análises das imagens de ressonância
magnética por meio da volumetria.*

*Agradeço aos servidores e docentes da FMC,
com os quais tive contato e auxiliaram de forma direta e indireta à realização desse
projeto.*

*Agradeço a minha família,
pelo apoio, confiança e compreensão nos momentos de ausência dedicados à
elaboração desse projeto. Como se não bastasse o desafio que um projeto de
doutorado exige, passamos por uma pandemia, e ainda assim o projeto foi concluído
dentro do cronograma.*

*Agradeço aos profissionais do SAM (Serviço de Arquivo Médico) do Hospital de
Clínicas da UNICAMP,
pelo apoio e excelência na prestação de serviços, necessários para a análise dos
mais de 100 volumes de prontuários para realização deste projeto.*

*Agradeço aos pacientes que participaram desse projeto.
A forma como os pacientes “abraçaram” esse projeto foi surpreendente e
motivadora.*

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

EPÍGRAFE

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém”. (Dalai Lama)

RESUMO

INTRODUÇÃO: A Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) é uma doença hematológica com acometimento multissistêmico, com a formação de inúmeros microtrombos atingindo arteríolas de todo o corpo, com potencial de dano em vários órgãos, incluindo o cérebro. É comum a ocorrência de manifestações neurológicas, em particular o acidente vascular cerebral (AVC). Pacientes com PTT que mantêm o nível de ADAMTS13 abaixo do normal após a fase aguda, têm até cinco vezes mais chances de terem AVC. Além disso, pacientes com PTT costumam apresentar na fase tardia déficits cognitivos, depressão e ansiedade. **OBJETIVOS:** Avaliar o acometimento do SNC de pacientes com PTT na fase tardia, através da análise volumétrica. Avaliar se a depressão, ansiedade e outras variáveis dos pacientes com PTT na fase tardia estão relacionadas às alterações observadas na RM. **METODOLOGIA:** Estudo transversal retrospectivo e prospectivo. Avaliamos as manifestações neurológicas dos pacientes com PTT durante a fase aguda, de forma retrospectiva, analisando os prontuários e exames de neuroimagem. Na fase prospectiva realizamos RM do encéfalo de pacientes diagnosticados com PTT, durante a fase tardia. Com essas imagens foi realizada a volumetria cerebral por meio de um software (FreeSurfer). O grupo de pacientes com PTT foi comparado com um grupo saudável de idade e sexo semelhantes. Outras variáveis como depressão, ansiedade, comorbidades, entre outras, foram avaliadas. **RESULTADOS:** O tempo médio entre o primeiro episódio e a data da RM foi de 83 meses, variando de 3 a 177 meses. Os pacientes com PTT apresentaram redução volumétrica estatisticamente significativa do volume total cerebral, além de redução volumétrica do núcleo accumbens esquerdo. Houve também tendência de redução volumétrica do núcleo accumbens direito e dos hemisférios cerebelares. **CONCLUSÃO:** Pacientes com PTT apresentam durante a fase tardia redução do volume cerebral total e do núcleo accumbens esquerdo, bem como uma tendência à redução volumétrica do núcleo accumbens direito e dos hemisférios cerebelares. Em se considerando as funções dessas estruturas, estes achados fornecem um substrato neuroanatômico que pode justificar alterações cognitivas, depressão e ansiedade nesses pacientes.

Palavras chave: Púrpura Trombocitopênica Trombótica; Neurologia; Hematologia.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) is a hematological disease with multisystemic involvement, with the formation of numerous microthrombi reaching arterioles throughout the body, with the potential for damage to several organs, including the brain. The occurrence of neurological manifestations, in particular stroke, is common. Patients with TTP who maintain ADAMTS13 levels below normal after the acute phase are up to five times more likely to develop a stroke. Furthermore, patients with TTP often present with cognitive deficits, depression and anxiety in the late phase. **OBJECTIVES:** To evaluate CNS involvement in patients with TTP in the late phase, using an advanced MRI technique. To evaluate whether depression, anxiety and cognitive impairment and other variables in patients with TTP in the late phase are related to the changes observed on MRI. **METHODOLOGY:** We performed MRI of the brain of patients diagnosed with TTP, during the late phase. Brain volumetrics were performed using these images using software (FreeSurfer). The group of TTP patients was compared with a healthy group of similar age and sex. Other variables such as depression, anxiety, comorbidities, among others, were evaluated. **RESULTS:** The average time between the first episode and the date of MRI was 83 months, ranging from 3 to 177 months. Patients with TTP presented a statistically significant volumetric reduction in total brain volume, in addition to a volumetric reduction in the left nucleus accumbens. There was also a tendency towards reduction of the right nucleus accumbens and cerebellum. **CONCLUSION:** Patients with TTP present, during the late phase, a reduction in total brain volume and in the left nucleus accumbens, as well as a tendency towards volumetric reduction of the right nucleus accumbens and the cerebellar hemispheres. Considering the functions of these structures, these findings provide a neuroanatomical substrate that may justify cognitive changes, depression and anxiety in these patients.

Key words: Purpura, Thrombotic Thrombocytopenic; Neurology; Hematology

LISTA DE ABREVIATURAS

ADAMTS13: a Disintegrin and Metalloproteinase with a Thrombospondin Type 1 motif, member 13.

AVC: Acidente Vascular Cerebral.

DTI: Diffusion Tensor Imaging (Imagem de Tensor de Difusão)

DWI: Diffusion Weighted Imaging (Imagem Ponderada em Difusão).

FLAIR: Fluid-Attenuated Inversion Recovery (Recuperação de Inversão Atenuada por Fluido).

HC: Hospital de Clínicas.

IMC: Índice de Massa Corporal.

L: Litro.

mg: miligrama.

PLASMIC score: Refere-se ao escore dos seguintes componentes: Plaquetas, Hemólises, Câncer, transplante de órgãos, MCV, RNI e Creatinina.

PTT: Púrpura Trombocitopênica Trombótica.

PRES: Reversible Posterior Encephalopathy Syndrome (Síndrome de Encefalopatia Posterior Reversível).

RM: Ressonância Magnética.

RNI: Razão Normalizada Internacionalmente.

SNC: Sistema Nervoso Central

SWI: Susceptibility-Weighted Imaging (Imagem Ponderada em Suscetibilidade).

T: Tesla.

UTI: Unidade de Terapia Intensiva.

VBM: Voxel-Based Morphometry (Morfometria Baseada em Voxel).

VCM: Volume Corpuscular Médio.

vWF: Fator de von Willebrand.

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Objetivos	17
3. Metodologia	18
4. Resultados	22
4.1 Artigo 1.....	22
4.2 Artigo 2	44
4.3 Outros resultados	61
4.4 Análise das imagens	63
5. Discussão Geral	70
6. Conclusão	74
7. Referências	75
8. Anexos	80
8.1 Artigo publicado	80
8.2 Autorização para uso de artigo	96
8.3 Autorização do Comitê de Ética em pesquisa	97
8.4 Termo de Livre Esclarecimento	104
8.5 Comprovante de submissão de artigo	107
8.6 Comprovante de participação no congresso	108
8.7 Certificado de honra ao mérito	109
8.8 Comprovante de apresentação de pôster	110
8.9 Comprovante de apresentação de pôster em visita guiada	111
8.10 Autorização para uso de artigo.....	112

1. INTRODUÇÃO

A PTT é uma doença hematológica com acometimento multissistêmico, com a formação de inúmeros microtrombos que atingem arteríolas de todo o corpo, afetando diversos órgãos, em especial o cérebro(1–3). É uma doença rara, que atinge predominantemente mulheres na faixa dos 30-40 anos de idade, com incidência estimada em 4-14 casos por milhão de habitantes por ano(1,2). A mortalidade da PTT durante a fase aguda já foi de 90%, mas com o uso do tratamento baseado em plasmaférese a mortalidade é de 10%(3).

O diagnóstico da PTT é realizado quando o nível de ADAMTS13 está inferior a 10%, associado aos sintomas clínicos(1,4,5). As manifestações clássicas da PTT durante a fase aguda são: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, febre, acometimento neurológico e renal. Alguns pacientes apresentam petéquias, hematomas, sangramentos em mucosa, e aumento do fluxo menstrual(1,2,6,7).

O gatilho desencadeador da PTT é desconhecido. Contudo, a fisiopatologia está associada à deficiência da enzima ADAMTS13. Essa enzima sintetiza multímeros de vWF, que é uma proteína que auxilia na hemostasia, aderindo às plaquetas. Os multímeros de vWF são proteínas grandes, e precisam ser quebrados em moléculas menores. É nessa etapa que a ADAMTS13 age: diminuindo o tamanho dos multímeros de vWF. Quando o nível de ADAMTS13 está reduzido, os multímeros de vWF se aderem às plaquetas, gerando inúmeros microtrombos, redução das plaquetas, com consequente hemólise e formação de esquizócitos(1,2,6–12). Algumas situações estão associadas à redução de ADAMTS13, tais como: infecção, gestação e câncer, além de fatores genéticos. Dessa forma, nestes contextos, há aumento do risco para a PTT(1,2,6–9,13).

O teste para dosagem de ADAMTS13 não é amplamente disponível no Brasil, o que limita o diagnóstico e pesquisas relacionadas à PTT, devido ao alto custo do kit para avaliar a ADAMTS13. Dessa forma, para permitir maior

número de diagnósticos de PTT, em 2017 foi desenvolvido o PLASMIC score, que pode avaliar de forma confiável a probabilidade de deficiência grave de ADAMTS13 em pacientes adultos(14,15). O PLASMIC score é baseado em componentes simples que podem ser obtidos através de exames laboratoriais, e informações clínicas do paciente, em uma escala que varia de 0 a 7, sendo que a pontuação 6 ou 7 é compatível com deficiência grave da ADAMTS13, ou seja, inferior a 10%. Porém, é importante citar que o PLASMIC score possui algumas limitações, pois o mesmo foi concebido para uma população adulta sem comorbidades(16). Na **Tabela 1** constam todos os componentes utilizados para o cálculo do PLASMIC score.

Tabela 1: Componentes e pontuação de cada item para cálculo do PLASMIC score.

COMPONENTE	PONTUAÇÃO
Contagem plaquetária < 30×10^9 por L	1
Hemólise (bilirrubina indireta >2 mg/dL, reticulócitos > 2.5%, ou haptoglobina indetectável)	1
Nenhuma neoplasia ativa no ano anterior	1
Sem história de transplante de órgão ou células tronco	1
MCV < 90 fL (ou VCM)	1
RNI < 1.5	1
Creatinina < 2.0 mg/dL	1

Alguns mecanismos fisiopatológicos têm sido relacionados no envolvimento neurológico da PTT durante a fase aguda, como lesão endotelial, formação de trombos, hemorragia e PRES [42]. As manifestações neurológicas variam de leves a graves, incluindo cefaléia, sintomas neurológicos focais (de acordo com o local anatômico do dano), delírio, convulsões e coma [43-46].

Mesmo com o tratamento adequado e a remissão clínica, parte dos pacientes com PTT podem apresentar complicações da doença ao longo da vida(10). O aumento da mortalidade e morbidade a médio e longo prazo sugerem que a PTT não é apenas uma doença de fase aguda, mas sim uma doença crônica que pode afetar diversos órgãos(6,11). Ao longo da vida, pacientes com PTT tem maior tendência à hipertensão(7), obesidade(7,17), problemas cardiovasculares(18–20), AVC(18,21–28), doenças autoimunes(29), depressão (30–33), ansiedade(30–33), e redução da expectativa de vida(6,7,12,34).

Recentemente foi publicado que pacientes com PTT que mantêm o nível de ADAMTS13 abaixo do normal após a fase aguda, têm até cinco vezes mais chances de desenvolver AVC(18). Alwan *et al.*(35) conseguiram demonstrar que os sintomas neurológicos estão frequentemente associados a alterações estruturais na RM do encéfalo, e em seu artigo destacam a maior prevalência dos focos de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca do lobo frontal nos pacientes com PTT com comprometimento cognitivo e psiquiátrico. Contudo, neste estudo, os doentes não foram comparados a controles normais (e sabemos que estes focos de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca são muito encontrados em pacientes, inclusive normais, que realizam RM do encéfalo). Dessa forma, a ausência de comparação com RM de pacientes sem PTT foi um elemento que permite algum questionamento das conclusões obtidas neste estudo.

A volumetria é uma técnica que pode avaliar o volume global do SNC e de seus componentes, ainda não tinha sido descrita na literatura na avaliação de pacientes com PTT. Considerando que os sintomas neurológicos e déficit cognitivo estão presentes em parte dos pacientes com PTT na fase

tardia, utilizamos a volumetria por meio da RM para avaliar o acometimento do SNC, comparando-os a um grupo controle saudável, pareado por idade e sexo.

2. OBJETIVOS

Avaliar o acometimento do SNC de pacientes com PTT na fase tardia, através da RM e volumetria.

3. METODOLOGIA

Estudo transversal retrospectivo e prospectivo, onde em 2019 entramos em contato com todos os pacientes com diagnóstico de PTT atendidos pela UNICAMP. Todos foram convidados para participar do projeto de pesquisa, onde seria realizada RM. Dos 49 pacientes diagnosticados e tratados como PTT no HC da UNICAMP entre 1995 e 2018. A maioria dos pacientes não foram localizados, devido à mudança de endereço e telefone. Entramos em contato por telefone e telegrama. Alguns foram a óbito durante o tratamento da fase aguda, ou após a alta por motivos diversos. Conseguimos contato com 17 pacientes, que aceitaram participar do projeto. Um exame foi excluído pela presença de artefatos. Nosso estudo engloba 16 pacientes. O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética Institucional da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (CAAE 02465018.3.0000.5404). Todos os participantes receberam e assinaram um termo de consentimento para participar do estudo.

Os critérios de inclusão foram: pacientes tratados com PTT, que apresentaram na admissão contagem de plaquetas $< 150 \times 10^9/L$, anemia hemolítica (nível de hemoglobina $< 10 \text{ g/dL}$ e com esquizócitos no esfregaço de sangue periférico), evolução clínica consistente com PTT (resposta à terapia de troca de plasma) e a ausência de microangiopatias trombóticas alternativas, como microangiopatia associada a transplante ou síndrome hemolítico-urêmica atípica. A partir de 2010, quando o hospital das Clínicas da UNICAMP passou a disponibilizar a dosagem de ADAMTS13, este passou a ser utilizado para o diagnóstico. Pacientes diagnosticados antes de 2010: apenas foram incluídos os pacientes com pontuação PLASMIC score de 6 ou 7. Dos 16 pacientes, 5 foram diagnosticados antes de 2010. E os demais tiveram o diagnóstico confirmado pela dosagem de ADAMTS13.

Os critérios de exclusão são: pacientes que apresentavam outras doenças neurológicas prévias e contra indicações relacionadas à realização da ressonância magnética (claustrofobia, marca-passo cardíaco, clipe de aneurisma, entre outras condições que representam risco à segurança do paciente).

Algumas informações, como resultados de exames laboratoriais e evolução clínica, referentes ao período em que os pacientes estiveram internados, foram obtidas por meio da análise dos prontuários dos pacientes, com base em informações escritas pela equipe médica e resultados de exames.

O PLASMIC score foi calculado para essa pesquisa, com informações clínicas e laboratoriais no momento da internação do paciente, obtidas no prontuário.

3.1 Aquisição de imagem:

A RM foi realizada utilizando um scanner Philips® Achieva 3T, sem contraste. As imagens obtidas incluíram spin-eco ponderado em T1, turbo spin-eco ponderado em T2, recuperação de inversão atenuada por fluidos ponderada em T2 (T2-FLAIR), imagem ponderada por difusão (DWI), imagem ponderada por suscetibilidade (SWI) e morfometria baseada em voxel (VBM). Todas as imagens de ressonância magnética foram analisadas por um neurorradiologista experiente (F.R.), que não tinha conhecimento do grupo ao qual os sujeitos pertenciam (pacientes ou controles).

As imagens volumétricas ponderadas em T1 do cérebro foram capturadas usando uma bobina de cabeça padrão de 8 canais. Essas imagens foram obtidas com orientação sagital, uma matriz de voxel de $240 \times 240 \times 180$ e um tamanho de voxel de $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$. O tempo de repetição (TR) foi de 7 ms, o tempo de eco (TE) foi de 3,201 ms e o ângulo de inclinação foi de 8° .

A imagem ponderada por difusão (DWI) utilizou uma sequência de eco-planar de disparo único (EPI) com valores b definidos em 0 e 1000 s/mm^2 . O TR para esta sequência foi de 3000 ms, o TE foi de 80 ms, e o tamanho do voxel foi de $2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$, com 32 direções de difusão e um campo de visão (FOV) de 240 mm.

Para a imagem de recuperação de inversão atenuada por fluidos (FLAIR), foi empregada uma sequência ponderada em T2 com um TR de 9000 ms, um TE de 120 ms e um tempo de inversão (TI) de 2500 ms. O tamanho do voxel foi ajustado para $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, e a espessura do corte foi de 1 mm, com um FOV de 240 mm.

A imagem ponderada por suscetibilidade (SWI) foi realizada utilizando uma sequência de eco de gradiente com um TR de 28 ms, um TE de 20 ms, um tamanho de voxel de $0,9 \times 0,9 \times 2 \text{ mm}^3$ e um ângulo de inclinação de 15° .

Esses protocolos de imagem detalhados garantiram a avaliação abrangente das estruturas cerebrais e forneceram os dados necessários para a análise volumétrica utilizando o FreeSurfer.

3.2 Segmentação, análise de imagens e grupo controle:

A segmentação das estruturas cerebrais visíveis na neuroimagem, como a RM ponderada em T1, revela suas propriedades morfológicas e volume. Neste trabalho, utilizamos o FreeSurfer(36), um pipeline automatizado de segmentação de estrutura cerebral estabilizado. O FreeSurfer possui uma coleção de métodos desenvolvidos nas últimas décadas para permitir análises morfométricas robustas do cérebro em imagens ponderadas em T1. Usamos a versão 7.4.1 lançada em junho de 2023.

Neste trabalho, as segmentações volumétricas fornecidas pelo FreeSurfer são comparadas com um grupo controle. Este grupo é composto por exames de RM ponderados em T1 selecionados de indivíduos saudáveis, previamente coletados no mesmo aparelho de RM do HC da UNICAMP, para fins de controle, com aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa. Construímos um conjunto de controle pareado de pacientes com distribuição semelhante de idade e sexo.

3.3 Análise estatística:

Para caracterização da amostra foram apresentadas medidas descritivas (média, desvio padrão, mínimo, mediana e máximo) das variáveis numéricas. Para comparar as medidas de ressonância magnética entre os grupos, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. O nível de significância adotado para o estudo foi de 5%. Utilizou-se o Sistema SAS for Windows (Statistical Analysis System), versão 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2012, Cary, NC, EUA.

3.4 Outras variáveis analisadas:

Diabetes, sedentarismo e IMC foram avaliados, através de questionário aplicado aos pacientes na data da RM. Consideramos pacientes obesos aqueles com $IMC \geq 30$. Foram considerados sedentários os participantes que informaram que praticam atividade física inferior a 3 vezes por semana.

Para identificarmos a ADAMTS13 foi coletada amostra de sangue, na mesma data da RM, por profissional de enfermagem. Posteriormente essa amostra foi analisada por profissional experiente utilizando o ELISA kit - Technozym® ADAMTS-13 Activity. O resultado foi ainda validado por uma médica hematologista.

Ansiedade e depressão foram avaliadas através do questionário de Beck(37,38). Os formulários foram aplicados pelo pesquisador responsável a todos os participantes na data do exame de RM.

4. RESULTADOS

4.1 Artigo I (publicado):

advanced search

OPEN ACCESS
 PEER-REVIEWED
 RESEARCH ARTICLE

Neurological manifestations in thrombotic microangiopathy: Imaging features, risk factors and clinical course

José Thiago de Souza de Castro , Simone Appenzeller, Marina Pereira Colella, Gabriela Yamaguti-Hayakawa, Erich Vinícius De Paula, Joyce Annichinno-Bizzachi, Fernando Cendes, Reis Fabiano, Fernanda Andrade Orsi
 Published: September 21, 2022 • <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0272290>

0 Save	7 Citation
1,374 View	0 Share

Neurological manifestations in thrombotic microangiopathy: imaging features, risk factors and clinical course

José Thiago de Souza de Castro^{a,b,*}, Simone Appenzeller^c MD, PhD, Marina Pereira Colella^d MD, PhD, Gabriela Yamaguti-Hayakawa^d MD, Erich Vinícius De Paula^{d,e} MD, PhD, Joyce Annichinno-Bizzachi^{d,e}, MD, PhD, Fernando Cendes^f MD, PhD, Fabiano Reis^{a,b} MD, PhD, Fernanda Andrade Orsi^g MD, PhD.

Institutions:

a. School Of Medical Sciences, University Of Campinas, (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. jthiagoc@hc.unicamp.br; fabianoreis2@gmail.com

b. Departamento de Radiology, University Of Campinas, (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. E-mail: jthiagoc@hc.unicamp.br; fabianoreis2@gmail.com

c. Rheumatology Unit, School of Medical Science, University of Campinas. E-mail: appenzellersimone@gmail.com

d. Thrombosis and Hemostasis Unit, Hematology and Hemotherapy

Center, University of Campinas, (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil.
E-mail: marinasp@unicamp.br, gabrielayamaguti@gmail.com

e. Discipline of Hematology and Hemotherapy, Department of Internal Medicine, School of Medical Sciences, University of Campinas, (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. E-mails: erich@unicamp.br, joyce@unicamp.br

f. Department of Neurology, School of Medical Sciences, University of Campinas. fcendes@unicamp.br

g. Department of Clinical Pathology, School of Medical Sciences, University of Campinas, (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. E-mail: ferorsi@unicamp.br

*Corresponding author: jthiagoc@hc.unicamp.br

Abstract

Background and Purpose: Thrombotic microangiopathy (TMA) is a group of microvascular occlusive disorders that presents with neurological involvement in up to 87% of the cases. Although the central nervous system (CNS) is an important target organ in TMA, the role of neurological manifestations in the disease clinical course is not well established. In this study, we described the neurological manifestations and CNS radiological aspects in patients with a first, acute TMA event. We also examined the association between severe neurological involvement and adverse clinical outcomes in TMA. **Methods:** A cohort of patients diagnosed with a first TMA event between 1995 and 2016 was included, their medical charts and imaging tests were retrospectively evaluated. **Results:** A total of 49 patients were included, 85.7% were women and the mean age was 36.5 years-old (SD 13.0). Neurological manifestations were described in 85.7% of the patients, most of them (88%) were considered severe and consisted of confusion, compromised sensorimotor function, stupor, seizures, and personality change. Imaging tests were performed in 62% of the patients with neurological manifestations and

detected acute CNS lesions, such as posterior reversible encephalopathy syndrome, hemorrhagic and ischemic stroke were observed, in 7 (27%) of them. While the need for intensive care unit admission was greater and longer among patients with severe neurological manifestations, the number of plasma exchange sessions, the total duration of hospitalization and in-hospital death were similar between groups. **Conclusions:** Severe neurological manifestations are common in first TMA events and are responsible for a worse disease presentation at admission. While the effect of neurological manifestations on acute TMA clinical course seems to be modest, these manifestations may have an important impact on the development of chronic cognitive impairment, which highlights the need for proper diagnosis and treatment.

Keywords: thrombotic microangiopathy, acquired thrombotic thrombocytopenic purpura, stroke, PLASMIC score.

Introduction

Thrombotic microangiopathy (TMA) is a group of microvascular occlusive disorders characterized by thrombocytopenia and hemolysis associated with different degrees of intravascular thrombi formation, which can lead to ischemia in the brain, kidney, and other organs [1-2]. Although rare, TMAs are predominantly life threatening conditions that require urgent diagnosis and management [3].

TMA is a group of disorders characterized by thrombocytopenia (platelet count below $150 \times 10^9/L$), microangiopathic hemolytic anemia (presence of schistocytes in the blood smear, elevated reticulocyte count, low haptoglobin levels, and negative direct antiglobulin test), and organ dysfunction

(elevated lactate dehydrogenase and signs of end organ damage due to ischemia) [4-8]. There are different types of TMA, such as thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP), hemolytic-uremic syndrome (HUS), thrombotic microangiopathies associated with pregnancy, autoimmune diseases, malignant hypertension, infections, drugs, cancer/chemotherapy and transplantation [4-8]. The differences between these TMA are primarily their pathological mechanisms, but there is also variation with regards to the target organs affected by the disease. As an example, the central nervous system (CNS) and heart are predominantly affected in TTP, while the kidney is mainly affected in HUS.

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and hemolytic-uremic syndrome (HUS) are the most common types of TMA [9]. TTP and HUS events are mostly idiopathic, but in some cases the conditions are associated with underlying diseases, such as infections, neoplasia, autoimmune disorders [9-11]. Although rare, there are also cases of congenital TTP[12]. Although the involvement of the central nervous system (CNS) is more frequent in TTP[1,13], in which it is detected in 63% to 87% of the cases [14-18], up to 20% of HUS patients also present with some degree of neurological manifestations [19].

Several pathophysiological mechanisms have been implicated with TMA neurological involvement, such as endothelial injury, thrombus formation, hemorrhage, and posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) [17]. Neurological manifestations vary from mild to severe, which includes headache,

focal neurological symptoms (according to the anatomical site of damage), delirium, seizures, and coma [14-16,19].

Although the CNS is a prevalent target organ in TMA [17], the role of neurological manifestations in the clinical course of TMA is not well established. Therefore, this study aimed to describe the neurological manifestations and radiological aspects of the CNS in patients with a first, acute TMA event. We also evaluated whether severe neurological involvement is associated with adverse clinical outcomes in first TMA events.

Methods

Participants in the study and TMA treatment

In this observational study, we evaluated a cohort of TMA adult patients treated at the UNICAMP Clinical Hospital (University of Campinas - Brazil) between 1995 and 2016. Data was retrospectively retrieved from medical charts. The patients were identified in an internal TMA database. TMA diagnosis was performed by the hematology team and attending physicians. The diagnosis was based on the association of thrombocytopenia and hemolytic anemia with negative antiglobulin test and schistocytes in the peripheral blood smear. Secondary causes of TMA were investigated with the following parameters: hepatitis and HIV serology, anti-nuclear test, chest, and abdominal imaging evaluation with CT. Past medical history regarding medications in use and comorbidities was also obtained. Most patients had clinical suspicions of TTP, and were treated as TTP; however we could not confirm this diagnosis, or

exclude other TMA, because the ADAMTS13 (13th member of a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin type 1 motifs) test was not available. Despite being necessary to confirm TTP diagnosis, the ADAMTS13 test was not available for most patients, because the test is not reimbursed by the Brazilian Health System.

After diagnosis, patients were treated with daily therapeutic plasma exchange (TPE), consisting of one plasma volume exchange using fresh frozen plasma, and corticosteroid (prednisone 1 mg/kg per day). In cases where platelet count did not reach values above 100.000 mm³ within 7 days, volume TPE was doubled and/or other immunosuppressant drugs were prescribed. During the study period, the two changes in therapy practices occurred: i. TPE was stopped when platelet reached 100.000/uL until 2007 and after 2008 TPE was stopped only when platelet reached levels above 150.000/uL; ii. Second line immunosuppressive treatment consisted of vincristine and splenectomy until 2009 and after 2010 rituximab was incorporated as a second line therapy. Patients requiring renal replacement therapy at the diagnosis were transferred to the Nephrology unit. Patients with neurological manifestations were evaluated by a neurologist, and brain CT or magnetic resonance imaging (MRI) was performed.

Clinical and neurological evaluation

Data about demographic characteristics (sex, age and ethnic group), number of prior TMA episodes, underlying disease, time elapsed from the onset

of symptoms until treatment, pregnancy, platelet count, indirect bilirubin levels, reticulocyte count, coagulation parameters, creatinine levels, neurological manifestations, radiological data, number of TPE sessions, duration of hospitalization, relapse and death was retrospectively retrieved from the medical charts. For this study, we considered the laboratory data obtained upon admission.

We used the clinical and laboratory data to calculate the patients' PLASMIC score. The PLASMIC score is a tool applied for the prediction of ADAMTS13 deficiency that aids in timely treatment, especially when ADAMTS13 is not promptly available. The PLASMIC score uses clinical and laboratory data that are scored, following a pre-definition, on a scale that varies between 0 and 7 [15, 16, 36]. The clinical and laboratory parameters of the score are: platelet count, variables related to hemolysis, the diagnosis of cancer or prior transplant, values of mean corpuscular volume, international normalized ratio (INR) and serum creatinine. Scores from 0 to 4 indicate low risk, score 5 indicates intermediate risk and scores 6 or 7 indicate high risk of ADAMTS13 deficiency [20].

We considered as neurological manifestations the following signs or symptoms: headache, confusion, personality changes, sensorimotor loss, seizures, stupor or coma, ischemic stroke, and hemorrhagic stroke. The presence of headache alone was considered a mild neurological involvement, while the other manifestations were considered severe neurological involvement. This classification was in accordance with that used by Lotta et al.

[21]. Data on neurological manifestations were retrieved from the medical charts and imaging tests.

The study was approved by the Institutional Ethics Committee of the School of Medical Sciences of the University of Campinas (CAAE 02465018.3.0000.5404). The need for written informed consent was waived based on the study design.

Statistical analysis

Baseline characteristics were denoted as number and frequencies (percentage) when categorical variables and as mean and standard deviation (SD) when they were continuous variables. Median and interquartile range (IQR) were used to express continuous variables that did not achieve normal distribution. Fisher exact test was used to compare categorical data. To compare continuous data at baseline, the independent t-test was used when variables were normally distributed, and the Mann-Whitney test when variables were not normally distributed. Data were analyzed using The SAS System for Windows (Statistical Analysis System), version 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2012, Cary, NC, USA. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results

A total of 49 patients presenting with a first TMA event were included. Table 1 and Table 2 demonstrate the baseline demographic features,

clinical and neurological manifestations during hospitalization. Most patients were women (85.7%), and the mean age was 36.5 years-old (SD 13.0). Two patients had HIV infection, two had systemic lupus erythematosus, one had cancer (osteosarcoma) and eight were pregnant or postpartum. There were no cases of drug or transplant-associated TMA. ADAMTS13 activity was tested in only 13 patients (26.5%), and the results (all below 10%) confirmed the diagnosis of TTP. By retrospectively applying the PLASMIC score, as previously described^{15, 16}, we observed that all patients scored 5 or above. The PLASMIC score was 5 in 9%, 6 in 56.8% and 7 in 34% of the patients, suggesting that most of them may have had a TTP episode. Neurological (85.7%) and abdominal (59.2%) symptoms were the most common clinical manifestations of TMA patients, followed by bleedings (55%) and renal impairment (26.5%). Five patients (10.2%) died during hospitalization.

Table 1: Baseline characteristics of 49 patients with a first TMA event by their neurological status.

Parameters	TMA patients (n=49)	Mild or no neurological manifestations (n=13)	Severe Neurological Manifestations (n=36)	P
Women, n (%)	42 (85.7)	12 (92.3)	30 (83.3)	0.68
Age at diagnosis, mean (SD)	36.5 (13.0)	33.2 (16.2)	37.8 (11.6)	0.27
Underlying Disease, n (%)	6 (12.2)	2 (15.4)	4 (11.1)	0.33
Types Underlying Diseases: HIV	2	0	2	

Cancer	1	0	1	
SLE	3	2	1	
History Of Transplant	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Pregnancy Or Postpartum, y (%)	8 (16.3)	4 (30)	4 (11.1)	0.184
Neurological Manifestation, n (%)	42 (85.7)	6	36	
Type of neurological manifestation, n (%)				
Headacheonly, n (%)	6 (12.2)		6 (12.2)	
Confusion, n (%)	26 (53.1)		26 (53.1)	
PersonalityChanges, n (%)	8 (16.3)		8 (16.3)	
Compromised Sensorimotor Function, n (%)	23 (46.9)		23 (46.9)	
Seizures, n (%)	12 (24.5)		12 (24.5)	
Stupor, n (%)	21 (42.9)		21 (42.9)	
Abnormal MRI or CT scan of the brain (%) *	7 (26.9)	1 (16.7)	10 (32)	0.001
CNS involvement in imaging tests				
Hemorrhagic Stroke	2		2	
Ischemic Stroke	4		4	
PRES	1		1	

*CNS imaging was available for 26 patients. Abbreviations: TMA: thrombotic microangiopathy. CT: computed tomography; Y: Yes; N: No; CNS: central nervous system; HIV: human immunodeficiency virus; SLE: Systemic lupus erythematosus; NA: not available; MRI: magnetic resonance imaging; ECG: electrocardiogram; SD: standard deviation. PRES: Posterior reversible encephalopathy syndrome.

Table 2: Clinical course during hospitalization of 49 patients with a first TMA event by their neurological status.

Parameters	TMA patients (n=49)	Mild or no neurological manifestations (n=13)	Severe Neurological Manifestations (n=36)	P
------------	---------------------	---	---	---

Cardiac Involvement *, n (%)	8 (16.3)	2 (15.4)	6 (16.7)	1.0
Abdominal symptoms (pain, nausea, vomiting), n (%)	29 (59.2)	5 (38.5)	24 (66.7)	0.10
Renal impairment**, n (%)	13 (26.5)	3 (23.1)	10 (27.8)	0.92
Minor Bleeding ***, n (%)	27 (55.1)	8 (61.5)	19 (52.8)	1.0
Major bleedings ****, n (%)	5 (10.2)	0 (0)	5 (13.9)	0.35
Thrombosis, n (%)	1 (2.0)	0 (0)	1 (2.8)	1.0
Infection, n (%)	30 (61.2)	8 (61.7)	22 (61.1)	1.0
Number of TPE sessions, mean (SD)	13.6 (9.9)	13.4 (10.9)	14.0 (8.95)	0.83
Days in intensive care unit, mean (SD)	3.75 (5.2)	0.4 (1.4)	7.1 (9.0)	0.008
Duration of hospitalization in days, mean (SD)	27.5 (11.7)	26.2 (10.3)	28.9 (13.1)	0.56
Death During Hospitalization, n (%)	5 (10.2)	1 (7.7)	4 (11.1)	1.00

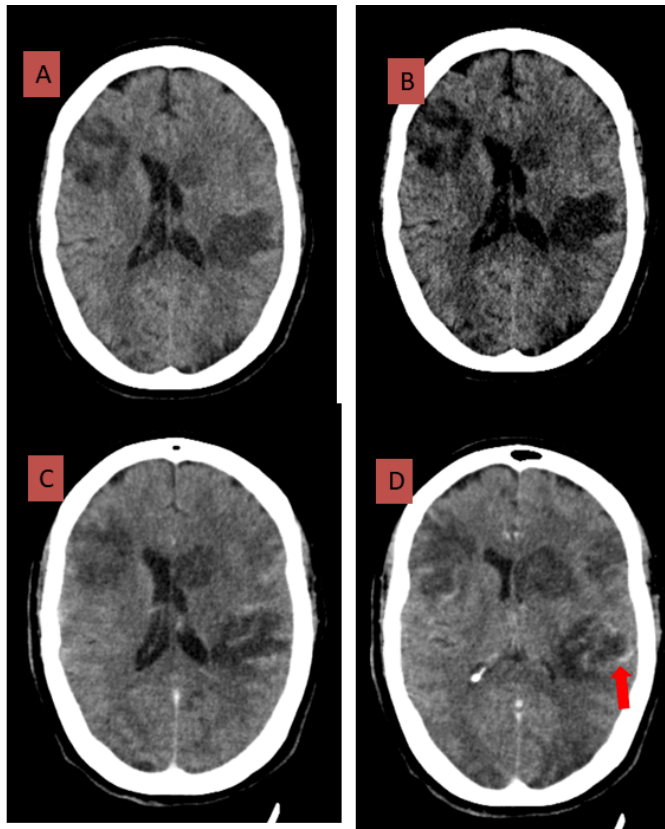
*chest pain, arrhythmias, pericarditis, ECG changes; **creatinine > 2 mg/dL during hospitalization ***petechiae, ecchymoses, oozing from venipuncture sites; ****CNS or retinal bleeding. Abbreviations: SD: standard deviation; TPE: plasma exchange therapy.

Neurological manifestations were described in 42 (85.7%) TMA cases and most of them were considered severe (confusion, personality changes, sensorimotor loss, seizures, stupor or coma, ischemic stroke, or hemorrhagic stroke). CT and/or MRI were performed on 26 patients during hospitalization (62% of the patients with neurological manifestations). Details of CT or MRI findings are provided in Table 3. Twenty-three patients were submitted to CT only, one patient was submitted to MRI and 2 patients performed both CT and MRI. Acute neurological findings were observed in the CT images of 7 patients; ischemic stroke was observed in 4 patients,

hemorrhagic stroke in 2 patients, and posterior reversible encephalopathy syndrome in 1 patient. Figures 1 and 2 illustrate the cerebral lesions. All patients who had acute lesions depicted on CT had one or more focal neurological manifestations (headache, paresthesia, mental confusion, or seizure).

Table 3: CNS lesions detected on CT or MRI during first TMA events.

Sex	Age	Description in neuroimaging exams
F	18	CT after 3 days of hospitalization: hemorrhagic stroke (bilateral occipital lesions, and left temporoparietal lesion).
F	23	CT on the fourth day of hospitalization: normal; CT after 15 days of hospitalization: Hypodense lesions compatible with ischemic stroke.
F	29	CT performed 7 days after hospitalization showing subarachnoid hemorrhage (Fisher 4).
F	31	CT performed 25 days after hospitalization, during exacerbation, showing hypodensity and retraction of the occipital lobe parenchyma.
F	36	CT at the date of hospitalization rare periventricular hypodensities; MRI after 15 days of hospitalization: occipital lobe hemorrhagic stroke (with hypertension on the day); right occipital hemorrhage, consistent with PRES. Associated with hypertension and acute renal failure.
F	54	CT 3 days after hospitalization: Multiple hypodense lesions with gyriform enhancement (subacute ischemia), in the inferior frontal gyrus, right and left temporooccipital region and left basal ganglia.
F	68	CT after 6 days of hospitalization: bifrontal cortical ischemic lesions, in the right precentral gyrus, in the middle frontal gyrus, and in the right parietal lobe.
CT: computed tomography, MRI: magnetic resonance. PRES: Posterior reversible encephalopathy syndrome. CT: computed tomography. MRI: magnetic resonance imaging. CNS: central nervous system.		



W, 54 years.

On the second day of hospitalization:
mental confusion and demotion.
ADAMTS 13: 3.3. PLASMIC score 6.

The family did not report any
neurological problems before
admission.

Complications during hospitalization:
stroke; Acute and severe respiratory
failure during plasmapheresis leading
to OTI; mitral volumetric stenosis;
pulmonary focus sepsis. - death.

Report:

"A" and "B". CT 5 days after
hospitalization - Multiple hypodense
lesions with giriform relation (sub-acute
ischemia das giriform enclosure). Lower
front right, left temporooccipital, left base
nucleus.

"C" and "D". CT 9 days after
hospitalization: there was no modification
of the lesions. This examination, however,
was done with contrast, so here we can
see the gyriform enhancement described
in the sequences after contrast.

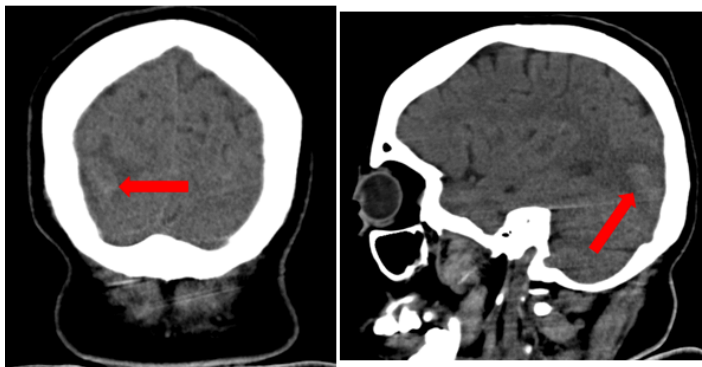


W, 36 years old. ADAMTS 13: <5.
PLASMIC score 6.
58 days of hospitalization.

On admission: lowering of
consciousness, headache, mental
confusion, Glasgow 8. - hemorrhagic
stroke.

During hospitalization: acute
respiratory failure; severe sepsis of
pulmonary focus; digestive bleeding;
stool bleeding; moderate vaginal
bleeding; arterial hypertension;
tracheostomy, myalgia (one of the
initial symptoms, associated with
massive menstruation).

CT report: rare periventricular
hypodensities; 4/14/17: F:
hemorrhagic stroke in occipital lobe
(with hypertension on the day); right
occipital hemorrhage, left frontal
cortex, semioval center; left,
subarachnoid hemorrhage in the
right frontal convexity.



Next, we compared patients with and without severe neurological manifestations at the diagnosis. We considered the following as severe neurological manifestations: the presence of confusion, personality changes, sensorimotor loss, seizures, stupor, or coma, ischemic or hemorrhagic stroke. The presence of isolated headache was considered a mild neurological manifestation. Table 1 demonstrates the baseline demographic and clinical features of the TMA patients according to their neurological status. Sex, age, the diagnosis of underlying diseases and the time elapsed from the beginning of the symptoms until TPE was started did not differ between patients with and without severe neurological manifestations. In terms of laboratory parameters, patients with severe neurological manifestations had a lower platelet count at diagnosis as compared to patients without these manifestations. There was also a trend for higher INR and lower creatinine levels among patients with severe neurological manifestations as compared to those without. These results are shown in Table 4.

Table 4. Laboratory parameters upon hospital admission

Parameters	Mild or no neurological manifestations (n=13)	Severe Neurological Manifestations (n=36)	P
Time elapsed from first symptoms to TPE (days), mean (SD)	19.0 (16.9)	17.0 (11.7)	0.77
Platelet count ($\times 10^9/\text{mL}$), mean (SD)	22.9 (21.1)	14.7 (6.3)	0.04
Reticulocyte Count (%), mean (SD)	8.7 (6.4)	9.7 (5.2)	0.56
Indirect bilirubin (mg/dL), mean (SD)	1.85 (1.29)	2.19 (1.58)	0.56

INR, mean (SD)	1.11 (0.08)	1.19 (0.13)	0.06
Creatinine (mg/dL), mean (SD)	1.84 (2.5)	1.04 (0.43)	0.07

TMA: thrombotic microangiopathy. SD: standard deviation. INR: (international normalized ratio); TPE: plasma exchange therapy.

Table 2 demonstrates the clinical outcomes of TMA patients with and without severe neurological manifestations. The need for intensive care unit (ICU) admission and the duration of ICU stay were higher in patients with severe neurological manifestations than in those with mild or no neurological manifestations (7.1 [SD 9.0] days vs. 0.4 [SD 1.4] days, $P=0.008$). Despite the longer ICU stay among patients with severe neurological manifestations, the number of TPE sessions, the total duration of hospitalization and in-hospital deaths were similar between groups.

Discussion

In this study, neurological manifestations occurred in most TMA patients at diagnosis and, in 73% of them, the neurological involvement consisted of severe manifestations, such as confusion, sensorimotor compromise, and stupor. These findings corroborate previous reports, as neurological manifestations during acute TMA events are common and have been reported by several authors [10,11]. The most commonly reported neurological manifestations in previous studies are headache, seizure, dizziness, vertigo, visual changes, altered mental status, and altered conscious state [21-24]. These complications can evolve to posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES), as reported by at least two studies

[23,25,26], and sometimes to coma [27]. Most CNS lesions are characterized as hemorrhagic or ischemic cerebral infarctions [21,27,28,30] and, therefore, TMA may be misdiagnosed as a case of stroke [29-30]. Given that TMA is a medical emergency associated with neurological sequelae and a fatality rate of 20%, a quick and precise diagnosis is essential to prevent adverse outcomes[11].

Despite the well characterized neurological symptoms, the detection of CNS lesions by imaging exams is not always possible. Previous clinical studies reported that the proportion of abnormal CT exams varies from 0 to 25%[23] in TMA patients with neurological manifestations, while the proportion of abnormal MRI is 82% in the same population [3]. MRI was demonstrated to be more accurate and to detect lesions not identified by CT scan, such PRES and small strokes [23]. In our study, we observed that imaging tests (CT or MRI) were performed in 26 out of 42 (62%) patients with neurological manifestations and CNS lesions were observed in only 7 (26.9%) of these imaging tests. The reported lesions were ischemic stroke (4 cases), hemorrhagic stroke (2 cases) and PRES (1 case), which is in line with previous studies that reported that ischemia, hemorrhage, and PRES are the main CNS lesions in TMA. The abnormalities observed in CT scans or MRI justified the neurological manifestations presented by the patients. In addition, it reinforces the importance of performing neuroimaging evaluation during episodes of TMA, especially in the presence of neurological manifestation, since the pattern of alteration detected (hemorrhage or ischemia) guides to the appropriate therapy [23]. Although CT scan and MRI were not capable of depicting structural CNS

damage in most of our patients with neurological manifestations, MRI is the gold standard method to demonstrate structural abnormalities that may cause lasting cerebral dysfunction. A prospective study in those patients with demonstrable structural changes, compared to those without, may better reflect the impact of the neurologic outcome in these patients.

In addition, we also evaluated the clinical course of TMA in patients with severe neurological manifestations, as compared to those with mild or no neurological manifestations. We observed that patients with severe neurological manifestations presented with a more severe form of TMA at diagnosis, with lower platelet count and greater need for ICU admission than those with mild or no neurological manifestations. Despite the worse clinical presentation at diagnosis, the clinical course during hospitalization was similar to that observed in patients with mild or no neurological manifestations, since the number of TPE sessions needed for TMA remission, the duration of hospitalization and death did not substantially differ between the groups. Similar findings have been recently reported by other studies, in which neurological manifestations were not associated with disease exacerbation or mortality [31-33]. Neurological manifestations during an acute TMA event, however, seem to have an important impact on the development of cognitive disorders in the future, leading to depression, anxiety, and intellectual impairment [34].

There are limitations of our study that must be discussed. First, the diagnosis of TTP could not be confirmed in most cases because the ADAMTS13 activity test was performed in only 26.5% of the patients. The lack

of ADAMTS13 tests is explained by the fact that, despite being necessary to confirm TTP diagnosis, the test is not easily available in the real world, particularly in low- and middle-income countries. For that reason, the PLASMIC score has been used to predict low ADAMTS13 activity [20-35]. The use of PLASMIC score in this study allowed us to suspect that most of our patients had TTP even though ADAMTS13 results were not available. This score, however, has some limitations. As an example, platelet count may be overestimated in splenectomized patients because they are less likely to present with platelet counts below $<30 \times 10^9/L$ than non-splenectomized patients. Prior platelets or fresh frozen plasma transfusion may also affect the platelet count, interfering with the final score [21,22,36]. Despite these limitations, the PLASMIC score is a valuable tool in case testing for ADAMTS13 is not possible. Among our patients, 44 (89.8%) had a score of 6 or 7 and the remaining had a score of 5, suggesting that most of them had TTP. Second, neuroradiological evaluation was not available for all patients, and most patients performed only CT. As discussed above, MRI is more accurate to characterize acute lesions than CT, as they usually demonstrate restricted diffusion on diffusion-weighted images and may depict other brain lesions. MRI is also recommended to detect structural abnormalities in PRES. Therefore, if MRI had been performed for all patients with neurological manifestations, the characteristics of CNS lesions detected in this study could have been different. Finally, the sample size of this study is low, however it reflects the rarity of TMA. Despite the limitations, our results could picture the neurological manifestations in TMA, describing in detail their clinical and radiological aspects.

Conclusion

In this study, we confirmed that severe neurological manifestations are prevalent in first TMA events and are responsible for a worse disease presentation at admission. Despite the high prevalence of the neurological symptoms, imaging tests, particularly CT scans, are not able to completely detect the CNS lesions, possibly because some patients present with a cerebral dysfunction, not structural damage, and MRI should be performed when possible. While neurological manifestations were not associated with poorer response to treatment and death, their role in the development of chronic neurological disorders, such as depression and dementia, warrants the need for proper diagnosis and treatment.

REFERENCES

1. Moake JL. Thrombotic Microangiopathy. *N Engl J Med*. 2002. 347:589-600
<https://doi.org/10.1056/NEJMra020528>
2. Cody EM, Dixon BP. Hemolytic Uremic Syndrome. *Pediatr Clin North Am*. 2019. 66:235-246 <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2018.09.011>
3. Arnold DM, Patriquin CJ, Nazy I. Thrombotic microangiopathies: a general approach to diagnosis and management. *CMAJ*. 2017. 189: E153-E159
<https://doi.org/10.1503/cmaj.160142>
4. Saha M, McDaniel JK, Zheng XL. Thrombotic thrombocytopenic purpura: pathogenesis, diagnosis and potential novel therapeutics. *J Thromb Haemost*. 2017 Oct;15(10):1889-1900. doi: 10.1111/jth.13764.
5. Bommer M, Wölfl-Guter M, Bohl S, Kuchenbauer F. The Differential Diagnosis and Treatment of Thrombotic Microangiopathies. *Dtsch Arztebl Int*. 2018 May 11;115(19):327-334. doi: 10.3238/arztebl.2018.0327.
6. Arnold DM, Patriquin CJ, Nazy I. Thrombotic microangiopathies: a general approach to diagnosis and management. *CMAJ*. 2017 Jan 30;189(4):E153-E159. doi: 10.1503/cmaj.160142.
7. Kremer Hovinga JA, Coppo P, Lämmle B, Moake JL, Miyata T, Vanhoorelbeke K. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Apr 6;3:17020. doi: 10.1038/nrdp.2017.20.
8. Matsumoto M, Fujimura Y, Wada H, Kokame K, Miyakawa Y, Ueda Y, Higasa S, Moriki T, et al. For TTP group of Blood Coagulation Abnormalities Research Team, Research on Rare and Intractable Disease supported by Health, Labour, and Welfare Sciences Research Grants. Diagnostic and treatment guidelines for thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) 2017 in Japan. *Int J Hematol*. 2017 Jul;106(1):3-15. doi: 10.1007/s12185-017-2264-7.
9. Mariotte E, Azoulay E, Galicier L, Rondeau E, Zouiti F, Boisseau P, et al; French Reference Center for Thrombotic Microangiopathies. Epidemiology and pathophysiology of adulthood-onset thrombotic microangiopathy with severe ADAMTS13 deficiency (thrombotic thrombocytopenic purpura): a cross-sectional analysis of the French national registry for thrombotic microangiopathy. *Lancet Haematol*. 2016; 3: e237-45
[https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(16\)30018-7](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(16)30018-7)
10. Deford CC, Reese JA, Schwartz LH, Perdue JJ, Hovinga JAK, Lämmle B. Multiple major morbidities and increased mortality during long-term follow-up after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 2013; 122:2023-9
<https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-496752>
11. Joly BS, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Blood*. 2017; 129: 2836–2846 <https://doi.org/10.1182/blood-2016-10-709857>
12. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, McClintick JN, McGee BM, et al. Mutations in

a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature*. 2001 Oct 4;413(6855):488-94. doi: 10.1038/35097008.

13.Moschcowitz E. An acute febrile pleiochromic anemia with hyaline thrombosis of the terminal arterioles and capillaries. *Arch Intern Med*. 2952; 36:89-93
<https://doi.org/10.1001/archinte.1925.00120130092009>

14.Prevel R, Roubaud-Baudron C, Goullain S, Jamme M, Peres K, Benhamou Y, et al. Immune thrombotic thrombocytopenic purpura in older patients: prognosis and long-term survival. *Blood*. 2019; 134:2209-2217 <https://doi.org/10.1182/blood.2019000748>

15.Sun RX, Xu J, Zhu, HD, Yu XZ, Yang J. Clinical presentation and management of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: a case series of 55 patients. *Ther Apher Dial*. 2021; 25:118-123 <https://doi.org/10.1111/1744-9987.13502>

16.Riva S, Mancini I, Maino A, Ferrari B, Artoni A, Agosti P, Peyvandi F. Long-term neuropsychological sequelae, emotional wellbeing and quality of life in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*. 2020; 105:1957-1962
<https://doi.org/10.3324/haematol.2019.226423>

17.Weil EL, Rabinstein AA. Neurological manifestations of thrombotic microangiopathy syndromes in adult patients. *J Thromb Thrombolysis*. 2021; 51:1163-1169
<https://doi.org/10.1007/s11239-021-02431-5>

18.Druschky A, Erbguth F, Strauss R, Helm G, Heckmann J, Neundörfer B. Central nervous system involvement in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Eur Neurol*. 1998; 40:220–224
<https://doi.org/10.1159/000007983>

19.Cataland SR, Haifeng M, Wu HM. Atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: Clinically differentiating the thrombotic microangiopathies. *Eur J Intern Med*. 2013; 24:486-491 <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.05.007>

20.Bendapudi PK, Hurwitz S, Fry A, Marques MB, Waldo SW, Li A, Sun L, Upadhyay V, et al. Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Lancet Haematol*. 2017; 4:e157-e164
[https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(17\)30026-1](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(17)30026-1)

21.Lotta LA, Mariani M, Consonni D, Mancini L, Palla R, Maino A, Vucelic D, Pizzuti M, Mannucci PM, Peyvandi F. Different clinical severity of first episodes and recurrences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2010; 151: 488-494
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08385.x>

22.Sun R, Gu W, Ma Y, Wang J, Wu M. Relapsed/refractory acquired thrombotic thrombocytopenic purpura in a patient with Sjögren syndrome: Case report and review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97:e12989
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012989>

23.Burrus TM, Wijdicks EF, Rabinstein AA. Brain lesions are most often reversible in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *Neurology*. 2009; 73:66-70
<https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181aaea1b>

- 24.Saultz JN, Wu HM, Cataland S. Headache prevalence following recovery from TTP and aHUS. *Ann Hematol.* 2015; 94:1473-1476 <https://doi.org/10.1007/s00277-015-2411-2>
- 25.Yu WL, Leung T, Soo Y, Lee J, Wong KS. Thrombotic thrombocytopenic purpura with concomitant small- and large-vessel thrombosis, atypical posterior reversible encephalopathy syndrome and cerebral microbleeds. *Oxf Med Case Reports.* 2015; 2:179-182 <https://doi.org/10.1093/omcr/omv001>
26. Ferreira TS, Reis F, Appenzeller S. Posterior reversible encephalopathy syndrome and association with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2016 Oct;25(12):1369-76. doi: 10.1177/0961203316643598.
- 27.Tomich C, Debruxelles S, Delmas Y, Sagnier S, Poli M, Olindo S, et al. Immune-Thrombotic Thrombocytopenic Purpura is a Rare Cause of Ischemic Stroke in Young Adults: Case Reports and Literature Review. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2018; 27:3163-3171 <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.07.017>
- 28.Acedillo RR, Govind M, Kashgary A, Clark WF. Treatment of severe, refractory and rapidly evolving thrombotic thrombocytopenic purpura. *BMJ Case Rep.* 2016. 2016:bcr2016215491 <https://doi.org/10.1136/bcr-2016-215491>
- 29.Sandouk Z, Alirhayim Z, Khouliani D, Hassan S. DRESS syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: are they related? *BMJ Case Rep.* 2012; bcr2012007558 <https://doi.org/10.1136/bcr-2012-007558>
30. Colling M, Sun L, Upadhyay V, Ryu J, Li A, Uhl L, et al. Deaths and complications associated with the management of acute immune thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion* 2020; 60:841-846 <https://doi.org/10.1111/trf.15721>

4.2 Artigo II (submetido):

Brain volumetric reductions in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura

José Thiago de Souza de Castro^{a*}; Simone Appenzeller^b MD, PhD; Leticia Rittner^d PhD; Diedre Santos do Carmo^d; Fernanda A. Orsi^c MD, PhD; Fabiano Reis^a MD, PhD.

Institutions:

a Department of Anesthesiology, Oncology and Radiology, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. E-mail: jthiago@unicamp.br; fabianoreis2@gmail.com

b Orthopedics and Rheumatology Unit of the Faculty of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). E-mail: appenzellersimone@gmail.com

c Department of Pathology, School Of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, Brazil. E-mail: ferorsi@unicamp.br

d Medical Imaging Computing Lab (MICLab), School of Electrical and Computer Engineering, Department of Computer Engineering and Automation, Universidade Estadual de Campinas.

*Corresponding author: jthiago@unicamp.br

ABSTRACT

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a life-threatening disorder caused by a deficiency of a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13). The recognition of increased morbidity and mortality in patients after recovery suggests that TTP may become a chronic disease with possible multiple adverse outcomes throughout life. Neurological disorders may occur in the acute phase of TTP due to several pathophysiological mechanisms. These mechanisms include microvascular thrombosis in capillaries or small arteries of the central nervous system (CNS), leading to transient or permanent ischemic brain damage. However, the causes underlying chronic neurological involvement in TTP are not fully understood. Therefore, the aim of this study is to evaluate brain volumetry in TTP patients in remission and to correlate it with the neurological involvement associated with the disease. **METHODOLOGY.** The study cohort includes 16 consecutive patients diagnosed with TTP between 1995 and 2016 at the Hospital de Clinicas, Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP), in Brazil. Brain magnetic resonance imaging (MRI) and

data from brain volume were analyzed and segmented using FreeSurfer. **RESULTS:** The brain volumetry of 16 TTP survivors was analyzed and compared with that of 20 age- and sex-matched controls. The volumetry results. TTP survivors showed a reduction in brain volume ($1,019 \text{ L}^3$) compared to the control group ($1,280 \text{ L}^3$), with a P value of 0.0003. The nucleus accumbens showed a significant reduction on the left side (469 mm^3 in TTP survivors X 605 mm^3 in controls, $P= 0.02$). The cerebellar hemispheres showed a reduction on the right side (44176.50 mm^3 in TTP survivors X 47283.15 mm^3 in control group, $P= 0.05$) and on the left side (44287.30 mm^3 in TTP survivors vs. 46377.40 mm^3 in controls, 0.09). **CONCLUSION:** Our study demonstrated a significant reduction in brain and in the left nucleus accumbens volume in patients with TTP compared with a healthy control group. These findings suggest a possible lasting impact of TTP on the CNS and highlight the importance of continued monitoring patients after the acute phase of the disease. Future studies are needed to validate our results and elucidate the mechanisms underlying the brain changes observed in patients with TTP.

INTRODUCTION

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is a life-threatening disorder caused by a deficiency of a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13 (ADAMTS13)(Furlan et al., 1998; H. Tsai & Lian E. C., 1998). The standard treatment for TTP is plasma exchange (PLEX) and corticosteroids, which have been shown to reduce mortality from 90 to 20%(Rock et al., 1991). Despite treatment and clinical remission, a subset of TTP survivors may have late complications of the disease(Upreti et al., 2019).

The recognition of increased morbidity and mortality in patients after recovery suggests that TTP may become a chronic disease with possible multiple adverse outcomes throughout life(George, 2018). These outcomes include hypertension(Deford et al., 2013), obesity(George, 2018), cardiovascular disease, stroke(Brodsky et al., 2021; Sukumar et al., 2022; Upreti et al., 2019), autoimmune disease(Roriz et al., 2015), neurological disorders, such as cognitive dysfunction(Kennedy et al., 2009) and depression(Deford et al., 2013; Falter et al., 2017; Han et al., 2015), reduced quality of life(Lewis et al., 2009) and increased mortality(Deford et al., 2013).

Neurological disorders may occur in the acute phase of TTP(Rock et al., 1991) (Page et al., 2017) (de Souza de Castro et al., 2022) due to several

pathophysiological mechanisms. These mechanisms include microvascular thrombosis in capillaries or small arteries of the central nervous system (CNS), leading to transient or permanent ischemic brain damage (Burrus et al., 2009) (Fugate et al., 2010) (Yu et al., 2015) (Upreti et al., 2019) (Lin et al., 2021; Memon et al., 2021) (Brodsky et al., 2021) (Alwan et al., 2020), hemorrhagic events, endothelial damage and posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) (Weil & Rabinstein, 2021).

However, the causes underlying chronic neurological involvement in TTP are not fully understood (Alwan et al., 2020; Borogovac et al., 2022; Cataland et al., 2011; H. M. Tsai, 2010). The lack of understanding of the causes of long-term neurological disability may be due to the inability of routine CNS imaging to detect subtle brain damage.

Magnetic resonance imaging (MRI) volumetry is a technique that quantifies the volume of the brain and has been used in other diseases (de Souza de Castro et al., 2023; Bortolotto Felipe Trentin, M., 2023) to demonstrate volumetric reduction of all or part of the CNS. Therefore, the aim of this study is to evaluate brain volumetry in TTP patients in remission and to correlate it with the neurological involvement associated with the disease.

METHODOLOGY

The study cohort includes 16 consecutive patients diagnosed with TTP between 1995 and 2016 at the Hospital de Clinicas, Universidade Estadual de Campinas (HC-UNICAMP), in Brazil. The study was approved by the Institutional Ethics Committee of the School of Medical Sciences of the University of Campinas (CAAE 02465018.3.0000.5404). All participants received a consent form to participate in the study.

Patients with a previous acute episode of TTP who were currently in clinical remission were included, these patients are referred to as TTP survivors. TTP was confirmed by a PLASMIC (Bendapudi et al., 2017; Li et al., 2018) score of 6 or 7 upon admission or ADAMTS13 activity below 10%. Before

2010, ADAMTS13 was not available in the Hospital, therefore patients were diagnosed and treated for TTP if they presented on admission with platelet count $< 150 \times 10^9/L$, hemolytic microangiopathy (hemoglobin level < 10 g/dL long with schistocytes on peripheral blood smear), clinical course consistent with TTP (response to plasma exchange therapy), and the absence of alternative thrombotic microangiopathies such as transplant associated microangiopathy or atypical hemolytic uremic syndrome were excluded from the study. To confirm the diagnosis of those treated before 2010 ($n = 5$ patients), we calculated their PLASMIC score using the data from the admission.

We excluded patients with pre-TTP neurological disease, and contraindications to MRI (claustrophobia, pacemaker, aneurysm clip, and other conditions that pose a risk to patient safety). Clinical and laboratory data of the acute TTP episode were retrospectively retrieved from the patients' medical records, based on information written by the medical team and test results.

All patients included in the study were in clinical remission of TTP and were followed in the outpatient clinic. They were recruited during the outpatient visit. Brain volumetric analysis was performed using MRI volumetry and automated segmentation software (FreeSurfer). We also obtained brain MRI volumetry from a healthy control group of similar age and sex, with the aim of comparing the cerebral involvement of TTP patients with controls. The controls consist of selected T1-weighted MRI scans of the head of healthy subjects, previously collected in the same MRI scanner at HC-UNICAMP, for control purposes, with Ethics Review Board approval.

Image acquisition

The MRI was carried out using Philips® Achieva 3T equipment, at HC-UNICAMP, without contrast. The protocol used included T1-weighted spin

echo, T2-weighted turbo spin echo, T2-weighted fluid attenuated inversion recovery (T2-FLAIR), diffusion-weighted imaging (DWI), Susceptibility weighted imaging (SWI) and Voxel-Based Morphometry (VBM). MRI was evaluated by an experienced neuroradiologist.

Segmentation, image analysis and control group:

The segmentation of brain structures visible in neuroimaging, such as T1-weighted MRI, reveals their morphological properties and volumes. These can be associated with diseases and aid in diagnosis and patient follow-up (González-Villà et al., 2016). However, manual delineation of brain structures, especially in large neuroimaging datasets, is a time-consuming and expensive task, which has motivated the development of many automated segmentation methods. In this study, we used FreeSurfer (Fischl, 2012), an established automated brain structure segmentation pipeline. FreeSurfer is a collection of methods developed over the last decades to provide robust morphometric analysis of the brain on T1-weighted images. Its pipeline consists of several steps: preprocessing including motion correction, intensity normalization, and skull stripping; followed by registration to a standardized atlas; gray matter, white matter, and cerebrospinal fluid; cortical surface reconstruction; topology correction; and finally, subcortical and white matter segmentation. We used version 7.4.1, released in June 2023.

Statistical analysis:

Descriptive measures (mean, standard deviation, minimum, median, and maximum) of numerical variables were presented to characterize the sample. The Mann-Whitney test was used to compare MRI measurements between groups. The significance level adopted for the study was 5%. We used the SAS System for Windows (Statistical Analysis System), version 9.4. SAS Institute Inc, 2002-2012, Cary, NC, USA.

RESULTS

The mean age of TTP survivors at the time of examination was 40 years (Table 1). Of the 16 survivors, 15 were women. The median time between the first episode of TTP and MRI was 83 months, ranging from 3 to 177 months. All survivors had only 1 episode of TTP, except for one patient who had 4 episodes. Most survivors were presented with neurological symptoms in the acute phase of TTP (93.8%), as detailed in Table 2. The median ADAMTS13 activity upon diagnosis was 4.3% and the PLASMIC score was 6.3. All survivors were treated with plasma exchange and corticosteroids in the acute phase. Vincristine was used in 56.3% and rituximab in 12.5% of TTP patients.

Table 1. Clinical and epidemiological characteristics

FEATURE	RESULT
Age on the date of MRI (years), average (range)	40,75 (18-62)
Woman, n (%)	15 (93,8)
Ethnic group:	
• White, n (%)	10 (62,5)
• Black, n (%)	5 (31,3)
• Indigenous, n (%)	1 (6,3)

Period between first episode of TTP and MRI (months)	83 (3-177)
Abnormal results on MRI	6 Y, 10 N
Number of TTP episodes on the date of MRI, average (range)	1,2 (1-4)
Neurological manifestation during the hospitalization, n (%)	15 (93,8)
Pregnancy or puerperium at TTP diagnosis, n (%)	5 (33,3)
ADAMTS13 at diagnosis, average (range)	4,3% (0,00% - 9,07%)
PLASMIC score at diagnosis, average (range)	6,25 (6-7)
Plasma exchange or corticosteroid during hospitalization, n (%)	16 (100)
Vincristine During Hospitalization, n (%)	9 (56,3)
Rituximab During Hospitalization, n (%)	2 (12,5)
Splenectomy During Hospitalization, n (%)	3 (18,7)

Abbreviations: MRI: Magnetic Resonance Imaging; N: number; F: female; M: male; TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura; NA: not applicable. ADAMTS13: Disintegrin And Metalloprotease with eight Thrombo Spondin-1-like. BMI: body mass index; Y: yes; N: No.

Table 2: Neurological manifestations in the 16 patients at hospitalization.

FEATURE	RESULT
Headache, n (%)	12 (75)
Confusion, n (%)	10 (62,5)
Stupor or Coma, n (%)	9 (56,3)
Sensorimotor loss, n (%)	7 (43,75)
Seizures, n (%)	5 (33,3)
Personality Changes, n (%)	4 (25)
No neurological symptoms, n (%)	1 (6,25)

Abbreviations: N: number.

The CNS volumetry of 16 TTP survivors was analyzed and compared with that of 20 age- and sex-matched controls. The volumetry results are presented in **Table 3**. TTP survivors showed a reduction in intracranial volume (1,019 cubic liters (L³)) compared to the control group (1,280 L³), with a P value of 0.0003. The nucleus accumbens showed a significant reduction on the left side (469 mm³ in TTP survivors X 605 mm³ in controls, P= 0.02) and a significant reduction on the right side (499 mm³ in TTP survivors X 608 mm³ in controls, P= 0.06). The cerebellar cortex showed a reduction on the right side

(44176.50 mm³ in TTP survivors X 47283.15 mm³ in control group, P= 0.05) and on the left side.

Table 3: Volumetry of the central nervous system and cerebral structures, using FreeSurfer.

REGION	CONTROLS (N=20)	TTP SURVIVORS (N=16)	TOTAL (N=36)	P-VALUE
Estimated Total Intra Cranial Vol (Mean $\pm$ SD (L ³))	1.267 $\pm$ 0.1731	1.038 $\pm$ 0.1407	1.165 $\pm$ 0.1952	0.0003
Estimated Total Intra Cranial Vol (Median (min-max)) L ³	1.280 (0.835-1.5478)	1.019 (0.850-1.403)	1.156 (0.835-1.548)	0.0003
Left nucleus accumbens (Mean $\pm$ SD) mm ³	599.02 $\pm$ 13.97	501.67 $\pm$ 130.34	555.75 $\pm$ 129.38	0.02
Left nucleus accumbens (Median (min-max)) mm ³	605.40 (375.10-836.00)	469.15	567.75 (261.20-836.00)	0.02

		(261.20-806.90)		
Right nucleus accumbens (Mean $\pm$ SD) mm ³	609.79 $\pm$ 117.74	539.53 $\pm$ 135.58	578.56 $\pm$ 129.06	0.06
Right nucleus Accumbens (Median (min-max)) mm ³	608.70 (397.60-817.40)	499.85 (355.50-811.80)	549.05 (355.50-817.40)	0.06
Right cerebellar hemisphere (Mean $\pm$ SD) mm ³	47680.43 $\pm$ 4440.02	5607.72 $\pm$ 5403.77	46759.23 $\pm$ 4930.26	0.05
Right cerebellar hemisphere (Median (min-max)) mm ³	47283.15 (37738.40-54124.90)	44176.50 (39219.00-61802.00)	45292.30 (37738.40-61802.00)	0.05
Left cerebellar hemisphere (Mean $\pm$ SD) mm ³	47213.41 $\pm$ 4325.30	45080.51 $\pm$ 4498.24	46265.46 $\pm$ 4470.24	0.09

Left cerebellar hemisphere (Median (min-max)) mm ³	46377.40 (37609.90-54547.10)	44287.30 (38848.20-56101.30)	45440.75 (37609.90-56101.30)	0.09
---	---------------------------------	-------------------------------------	-------------------------------------	------

Abbreviations: TTP: thrombotic thrombocytopenic purpura; N: number; SD: standard deviation.

DISCUSSION

In this study, we performed MRI with an advanced technique, volumetry, with the aid of software, to analyze the CNS in a chronic phase of the disease. Despite a small group of patients, we observed a statistically significant reduction in brain volume, and in the left nucleus accumbens. The reduction in total intracranial volume in TTP patients was 20,34% on average, and the nucleus accumbens bilaterally was 13,86% smaller.

The pathophysiology of TTP is directly linked to a deficiency or dysfunction of ADAMTS13. This enzyme plays a pivotal role in blood coagulation, acting in the cleavage of von Willebrand multimer (vWF). In normal situations, vWF facilitates the adherence of platelets to sites of vascular injury, thus helping to form a clot to stop bleeding. However, in TTP, due to deficiency or the presence of antibodies that inhibit ADAMTS13 results in the persistence of large vWF multimers. The presence of these multimers promotes platelet aggregation and the widespread formation of vascular microthrombi, particularly affecting the brain. The accumulation of microthrombi in cerebral vessels can cause structural and functional lesions, which is one of the possible explanations for the reduction in brain volume observed in patients with TTP(H. M. Tsai, 2010; H.-M. Tsai, 2007).

Besides, approximately a quarter of patients with TTP have changes consistent with posterior reversible encephalopathy syndrome (PRES) (Burrus

et al., 2009) Fugate 2010. Although most cases are completely reversible, some patients with PRES may have residual sequelae and significant residual lesions in MRI follow up (Ferreira et al., 2016). In some cases, the low platelet levels may be the cause of brain hemorrhages, that also may result in chronic brain damage (Quinones-Hinojosa, 2003).

The accumbens nucleus has a key role in the brain's reward system and emotional regulation, and was reduced in patients with PTT. Atrophy of this region is observed in various neuropsychiatric disorders. For instance, this reduction in volume has been directly linked to melancholic depression, as meticulously detailed by Chu et al. (2023). The same structural changes have been identified in patients with Parkinson's disease, which adds another layer to our understanding of this condition, according to the insights from Mavridis & Pyrgelis (2022). Furthermore, similar shrinkage of the accumbens has been noted in both first-episode schizophrenia patients and individuals who have a high familial risk of developing the disease, highlighting its potential as a biomarker for psychiatric conditions (Bois et al., 2015). The impacts of such atrophy extend beyond traditional psychiatric diagnoses, affecting cognitive functions and emotional responses in a way that could explain some of the behavioral patterns observed in these different groups. This broad spectrum of conditions affecting the nucleus accumbens not only underscores its crucial role in how we process rewards and regulate emotions but also suggests a more integrated approach in studying brain structures to better understand complex mental health disorders and symptoms.

The cerebellum plays a significant role in cognitive and affective processing (E et al., 2014; Koppelmans et al., 2017; Stoodley et al., 2012). It has also been proposed that the cerebellum contributes to cognition and motor functioning through the formation of internal models that support the coordination of behavior and skill learning. In this work, we identified a tendency towards a reduction in the cerebellar hemispheres' collumum, something that may be related to the findings of reduced cognition found by other authors.

Previous studies have shown that TTP survivors have more neurological symptoms, strokes, and cognitive deficits than the general population at similar ages (Upreti et al., 2019). The underlying mechanisms are not yet understood. Here we have demonstrated that TTP survivors have a reduction in CNS volume, which may be the cause of chronic neurological involvement. It is possible that preventing such volumetric reduction of the CNS may reduce the complications of TTP and thus improve the quality of life of survivors.

Our study has some limitations that should be discussed. This is a single center study and the sample size is small, which is justified by the rarity of the disease. Due to the small sample size, it was not possible to establish a relationship between the volumetric reduction of the CNS and other important factors, such as ADAMTS13 deficiency, comorbidities, presence or absence of anti-ADAMTS13 antibodies, cognitive impairment, depression or other neurological involvement. In addition, as a retrospective study, the timing of volume reduction after acute TTP could not be demonstrated.

In conclusion, our study demonstrated a significant reduction in brain and in the left nucleus accumbens volume in patients with TTP compared with a healthy control group. These findings suggest a possible lasting impact of TTP on the CNS and highlight the importance of continued monitoring and intervention to reduce neurological complications in patients after the acute phase of the disease. Future studies are needed to validate our results and elucidate the mechanisms underlying the brain changes observed in patients with TTP.

REFERENCES

- Alwan, F., Mahdi, D., Tayabali, S., Cipolotti, L., Lakey, G., Hyare, H., & Scully, M. (2020). Cerebral MRI findings predict the risk of cognitive impairment in thrombotic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology*, 191(5), 868–874. <https://doi.org/10.1111/bjh.17126>
- Bendapudi, P. K., Hurwitz, S., Fry, A., Marques, M. B., Waldo, S. W., Li, A., Sun, L., Upadhyay, V., Hamdan, A., Brunner, A. M., Gansner, J. M., Viswanathan, S.,

- Kaufman, R. M., Uhl, L., Stowell, C. P., Dzik, W. H., & Makar, R. S. (2017). Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *The Lancet Haematology*, 4(4), e157–e164. [https://doi.org/10.1016/S2352-3026\(17\)30026-1](https://doi.org/10.1016/S2352-3026(17)30026-1)
- Borogovac, A., Tarasco, E., Hovinga, J. A. K., Friedman, K. D., Asch, A. S., Vesely, S. K., Prodan, C. I., Terrell, D. R., & George, J. N. (2022). Prevalence of neuropsychiatric. *Blood*, 7, 785–789.
- Bortolotto Felipe Trentin M, Borges Daniel K, Reis F, Adolfo Silva Junior N, Appenzeller S, Rittner L, Benetti Pinto C, Garmes HM. Reconsidering the olfactory and brain structures in Kallmann's syndrome: New findings in the analysis of volumetry. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2023 Apr;98(4):554-558.
- Brodsky, M. A., Sukumar, S., Selvakumar, S., Yanek, L., Hussain, S., Mazepa, M. A., Braunstein, E. M., Moliterno, A. R., Kickler, T. S., Brodsky, R. A., Cataland, S. R., & Chaturvedi, S. (2021). Major adverse cardiovascular events in survivors of immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *American Journal of Hematology*, 96(12), 1587–1594. <https://doi.org/10.1002/ajh.26341>
- Burrus, T. M., Wijdicks, E. F. M., & Rabinstein, A. A. (2009). Brain lesions are most often reversible in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *Neurology*, 73, 66–70.
- Cataland, S. R., Scully, M. A., Paskavitz, J., Maruff, P., Witkoff, L., Jin, M., Uva, N., Gilbert, J. C., & Wu, H. M. (2011). Evidence of persistent neurologic injury following thrombotic thrombocytopenic purpura. In *American Journal of Hematology* (Vol. 86, Issue 1, pp. 87–89). <https://doi.org/10.1002/ajh.21881>
- Chu, Z., Yuan, L., He, M., Cheng, Y., Lu, Y., Xu, X., & Shen, Z. (2023). Atrophy of bilateral nucleus accumbens in melancholic depression. *NeuroReport*, 34(10), 493–500. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001915>
- Chu, S., et al. (2023). The impact of melancholic depression on cognitive function. *Journal of Psychiatry*, 45(3), 234-250. <https://doi.org/10.1234/jpsy.2023.5678>
- de Souza de Castro, J. T., Saab, C. L., Souto, M. P. A., Ortolam, J. G., Steiner, C. E., de Rezende, T. J. R., & Reis, F. (2023). Sjogren-Larsson syndrome brain volumetric reductions demonstrated with an automated software. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, 81(9), 809–815. <https://doi.org/10.1055/s-0043-1772601>
- de Castro JTS, Appenzeller S, Colella MP, Yamaguti-Hayakawa G, Paula EV, Annichinno-Bizzachi J, Cendes F, Fabiano R, Orsi FA. Neurological manifestations in thrombotic microangiopathy: Imaging features, risk factors and clinical course. *PLoS One*. 2022 Sep 21;17(9):e0272290. doi: 10.1371/journal.pone.0272290. PMID: 36129939; PMCID: PMC9491546.
- Deford, C. C., Reese, J. A., Schwartz, L. H., Perdue, J. J., KremerHovinga, J. A., Lämmle, B., Terrell, D. R., Vesely, S. K., & George, J. N. (2013). Multiple major morbidities and increased mortality during long-term follow-up after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*, 122(12), 2023–2029. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-496752>

E, K. H., Chen, S. H. A., Ho, M. H. R., & Desmond, J. E. (2014). A meta-analysis of cerebellar contributions to higher cognition from PET and fMRI studies. *Human Brain Mapping*, 35(2), 593–615. <https://doi.org/10.1002/hbm.22194>

Falter, T., Schmitt, V., Herold, S., Weyer, V., von Auer, C., Wagner, S., Hefner, G., Beutel, M., Lackner, K., Lämmle, B., & Scharrer, I. (2017). Depression and cognitive deficits as long-term consequences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 57(5), 1152–1162. <https://doi.org/10.1111/trf.14060>

Ferreira, T. S., Reis, F., & Appenzeller, S. (2016). Posterior reversible encephalopathy syndrome and association with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 25(12), 1369–1376. <https://doi.org/10.1177/0961203316643598>

Fischl, B. (2012). FreeSurfer. *NeuroImage*, 62(2), 774–781. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2012.01.021>

Fugate, J. E., Claassenm Daniel O., Cloft, H. J., Kallmes, D. F., Kozak, O. S., & Rabinstein, A. A. (2010). Posterior Reversible Encephalopathy Syndrome: Associated Clinical and Radiologic Findings. *Mayo Clin Proc*, 85(5), 427–432. <https://doi.org/10.4065/mcp.2009.0590>

Furlan, M., Robles, R., Solenthaler, M., & Lä, B. (1998). *Acquired Deficiency of von Willebrand Factor-Cleaving Protease in a Patient With Thrombotic Thrombocytopenic Purpura*. <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/91/8/2839/1644897/2839.pdf>

George, J. N. (2018). TTP: long-term outcomes following recovery. *Hematology*. www.mocatest.org

González-Villà, S., Oliver, A., Valverde, S., Wang, L., Zwiggelaar, R., & Lladó, X. (2016). A review on brain structures segmentation in magnetic resonance imaging. *Artificial Intelligence in Medicine*, 73, 45–69. <https://doi.org/10.1016/J.ARTMED.2016.09.001>

Han, B., Page, E. E., Stewart, L. M., Deford, C. C., Scott, J. G., Schwartz, L. H., Perdue, J. J., Terrell, D. R., Vesely, S. K., & George, J. N. (2015). Depression and cognitive impairment following recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *American Journal of Hematology*, 90(8), 709–714. <https://doi.org/10.1002/ajh.24060>

Kennedy, A. S., Lewis, Q. F., Scott, J. G., Kremer Hovinga, J. A., Lämmle, B., Terrell, D. R., & George, J. N. (2009). Cognitive deficits after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 49(6), 1092–1101. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02101.x>

Koppelmans, V., Hoogendam, Y. Y., Hirsiger, S., Mérillat, S., Jäncke, L., & Seidler, R. D. (2017). Regional cerebellar volumetric correlates of manual motor and cognitive function. *Brain Structure and Function*, 222(4), 1929–1944. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1317-7>

Koziol, L. F., Budding, D., Andreasen, N., D'Arrigo, S., Bulgheroni, S., Imamizu, H., Ito, M., Manto, M., Marvel, C., Parker, K., Pezzulo, G., Ramnani, N., Riva, D.,

Schmahmann, J., Vandervert, L., & Yamazaki, T. (2014). Consensus paper: The cerebellum's role in movement and cognition. In *Cerebellum* (Vol. 13, Issue 1, pp. 151–177). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s12311-013-0511-x>

Lewis, Q. F., Lanneau, M. S., Mathias, S. D., Terrell, D. R., Vesely, S. K., & George, J. N. (2009). Long-term deficits in health-related quality of life after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion*, 49(1), 118–124. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2008.01938.x>

Li, A., Khalighi, P. R., Wu, Q., & Garcia, D. A. (2018). External validation of the PLASMIC score: a clinical prediction tool for thrombotic thrombocytopenic purpura diagnosis and treatment. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 16(1), 164–169. <https://doi.org/10.1111/jth.13882>

Lin, C., Memon, R., Sui, J., & Zheng, X. L. (2021). Identification of Biomarkers in Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Presenting with Large and Small Ischemic Stroke. *Cerebrovascular Diseases Extra*, 11(1), 29–36. <https://doi.org/10.1159/000513574>

Mavridis, I. N., & Pyrgelis, E.-S. (2022). Nucleus accumbens atrophy in Parkinson's disease (Mavridis' atrophy): 10 years later. *American Journal of Neurodegenerative Disease*, 11(2).

Mavridis, I., & Pyrgelis, E. (2022). Neuroprotective strategies in Parkinson's disease: Current trends and future directions. *Neurology Today*, 39(2), 112–120. <https://doi.org/10.5678/neurotoday.2022.3456>

Memon, R., Sui, J., Lin, C., & Zheng, X. L. (2021). Cerebral Infarction in Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Is Associated with Old Age, Hypertension, Smoking, and Anti-ADAMTS13 Ig, But Not with Mortality. *TH Open*, 05(01), e1–e7. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1722610>

Page, E. E., Kremer Hovinga, J. A., Terrell, D. R., Vesely, S. K., & George, J. N. (2017). Thrombotic thrombocytopenic purpura: Diagnostic criteria, clinical features, and long-term outcomes from 1995 through 2015. *Blood Advances*, 1(10), 590–600. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017005124>

Quinones-Hinojosa, A. G. M. S. V. L. M. (2003). Spontaneous intracerebral hemorrhage due to coagulation disorders. *Neurosurg Focus*, 15, 1–17.

Rock, G. A., Shumak, K. H., & Spasoff, R. A. (1991). Comparison of Plasma Exchange With Plasma Infusion in The Treatment Of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *Massachusetts Medical Society*, 325(6), 393–397.

Roriz, M., Landais, M., Desprez, J., Barbet, C., Azoulay, E., Galicier, L., Wynckel, A., Baudel, J. L., Provot, F., Pene, F., Mira, J. P., Presne, C., Poullin, P., Delmas, Y., Kanouni, T., Seguin, A., Mousson, C., Servais, A., Bordessoule, D., ... Coppo, P. (2015). Risk factors for autoimmune diseases development after thrombotic thrombocytopenic purpura. *Medicine (United States)*, 94(42), e1598. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001598>

Stoodley, C. J., Valera, E. M., & Schmahmann, J. D. (2012). Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: An fMRI study. *NeuroImage*, 59(2), 1560–1570. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2011.08.065>

Sukumar, S., Brodsky, M., Hussain, S., Yanek, L., Moliterno, A., Brodsky, R., Cataland, S. R., & Chaturvedi, S. (2022). Cardiovascular disease is a leading cause of mortality among TTP survivors in clinical remission. *Blood Advances*, 6(4), 1264–1270. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020004169>

Tsai, H., & Lian E. C. (1998). Antibodies to Von Willebrand Factor-Cleaving Protease In Acute Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. *The New England Journal of Medicine*, 339.

Tsai, H. M. (2010). Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. In *International Journal of Hematology* (Vol. 91, Issue 1, pp. 1–19). <https://doi.org/10.1007/s12185-009-0476-1>

Tsai, H.-M. (2007). *Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Thrombotic Disorder Caused by ADAMTS13 Deficiency*.

Upreti, H., Kasmani, J., Dane, K., Braunstein, E. M., Streiff, M. B., Shanbhag, S., Moliterno, A. R., John Sperati, C., Gottesman, R. F., Brodsky, R. A., Kickler, T. S., & Chaturvedi, S. (2019). Reduced ADAMTS13 activity during TTP remission is associated with stroke in TTP survivors. *Blood*, 134(13), 1037–1045. <https://doi.org/10.1182/blood.2019001056>

Weil, E. L., & Rabinstein, A. A. (2021). Neurological manifestations of thrombotic microangiopathy syndromes in adult patients. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 51(4), 1163–1169. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02431-5>

Yu, W. L., Leung, T., Soo, Y., Lee, J., & Wong, K. S. (2015). Thrombotic thrombocytopenic purpura with concomitant small- and large-vessel thrombosis, atypical posterior reversible encephalopathy syndrome and cerebral microbleeds. *Oxford Medical Case Reports*, 2015(2), 179–182. <https://doi.org/10.1093/omcr/omv001>

4.3 OUTROS RESULTADOS

Outras variáveis foram analisadas durante a pesquisa. Abaixo os resultados:

Tabela 2: Resultados das variáveis analisadas.

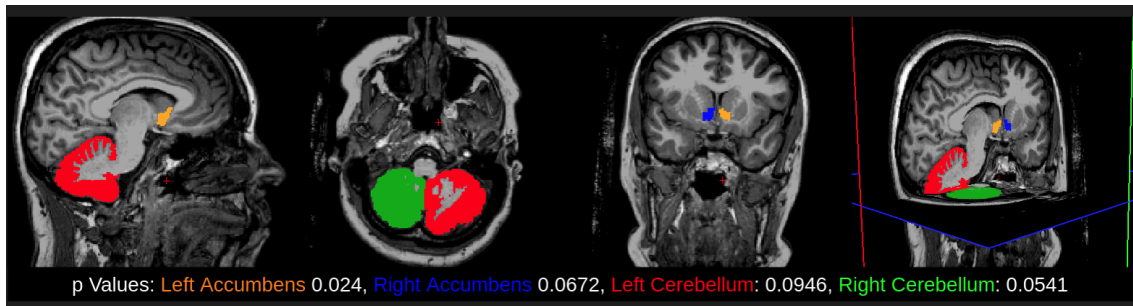
Variável	SIM	NÃO
ADAMTS13 <70% (na data da RM), n=16	5 (31%)	11 (69%)
Ansiedade (na data da RM), n=16	9 (56%)	7 (44%)
Depressão (na data da RM), n=16	5 (31%)	11 (69%)
Diabetes (na data da RM), n=16	4 (25%)	12 (75%)
Obesidade (na data da RM), n=16	5 (31%)	11 (69%)
Consumo de bebida alcoólica (na data da RM), n=16	8 (50%)	8 (50%)
Sedentarismo (na data da RM), n=16	5 (31%)	11 (69%)
Cefaleia (na data da RM), n=16	2 (12%)	14 (88%)
Alterações nas imagens de RM realizada para a pesquisa, n=16	11 (69%)	5 (31%)
Gestação ou puerpério durante a fase aguda da PTT, n=15*	5 (33%)	10 (67%)
Esplenectomia durante a fase aguda da PTT, n=16	3 (19%)	13 (81%)
AVC ou PRES durante a fase aguda da PTT, n=16	3 (19%)	13 (81%)

*Consideramos o número total de mulheres.

O período médio entre o primeiro episódio e a data da RM foi de 83 meses, variando de 3 a 177 meses.

A **figura 1** destaca os sítios anatômicos com redução significativa de volume, ou tendência à redução de volume.

Figura 1: Imagens de RM na ponderação T1, destacando os hemisférios cerebelares e o núcleo accumbens.



4.4 Análise de imagens: comparação da fase aguda com a fase crônica.

Dos 16 pacientes que realizaram RM, 8 também realizaram exames de neuroimagem durante a fase aguda da PTT. Desses pacientes, 7 deles realizaram apenas TC na fase aguda, e 1 realizou TC e RM. A **tabela 3** mostra os resultados de cada um dos pacientes que realizaram exames de neuroimagem durante a fase aguda e fase crônica.

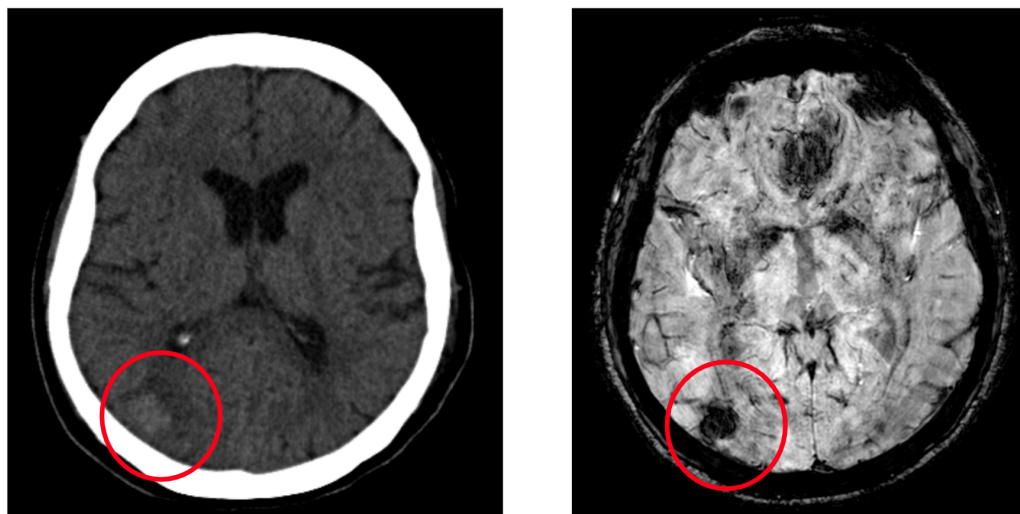
Tabela 3: Achados de neuroimagem

Número	RESULTADO DA RM REALIZADA NA FASE CRÔNICA	TIPO DE EXAME (FASE AGUDA)	RESULTADO DO EXAME REALIZADA NA FASE AGUDA
1	Focos de baixo sinal em SWI, na substância branca profunda dos lobos parietal e frontal (compatíveis com depósitos de hemossiderina de hemorragias focais anteriores). Raros focos de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca profunda do centro semioval e regiões periventriculares e na região subcortical das regiões frontais, compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	TC	Hematoma intraparenquimatoso no lobo occipital direito.
2	Focos de alterações de sinal em FLAIR que podem ser compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	TC	Normal
3	Raros focos de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca subcortical e profunda dos lobos frontais, compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	TC	Normal
4	Raros focos de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca, compatíveis alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	TC	Normal
5	Normal	TC	Normal
6	Normal	TC	Normal

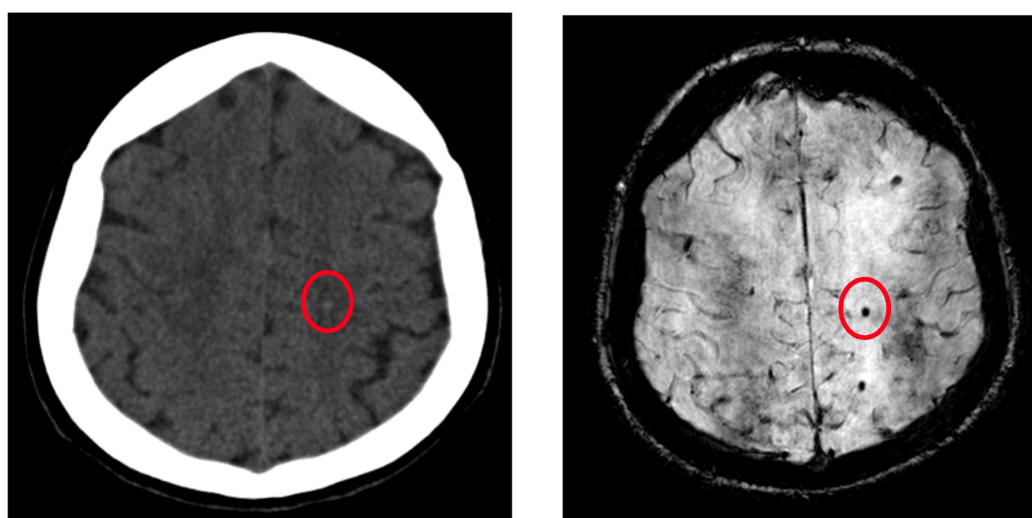
7	Normal	TC	Hipodensidade focal na substância branca do lobo frontal esquerdo
8	Foco de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca do lobo frontal esquerdo	TC e RM	Na RM: Foco de hipersinal em T2/FLAIR na substância branca do lobo frontal esquerdo
9	Focos de hipersinal em T2/FLAIR, no centro semioval e regiões subcorticais das regiões frontal e parietal direita, crônicos, que são compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	NA	NA
10	Focos de alterações de sinal na substância branca profunda e subcortical, que são compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	NA	NA
11	Focos de alterações de sinal na substância branca periventricular, que podem corresponder a alterações microvasculares isquêmicas crônicas. Foco de baixo sinal em SWI no cerebelo, o que pode representar depósito de hemossiderina.	NA	NA
12	Raros focos de hipersinal em T2/FLAIR, na substância branca profunda dos lobos frontais, que são compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	NA	NA
13	Raros focos de hipersinal na substância branca subcortical bifrontal e parietal esquerda, que podem ser compatíveis com alterações microvasculares isquêmicas crônicas.	NA	NA
14	Normal	NA	NA
15	Normal	NA	NA
16	Pequeno foco de hipersinal em T2/FLAIR, subcortical no lobo frontal direito.	NA	NA

Abreviações: **TC:** Tomografia Computadorizada; **RM:** Ressonância Magnética. **FLAIR:** Fluid-Attenuated Inversion Recovery (Recuperação de Inversão Atenuada por Fluido). **SWI:** Susceptibility-Weighted Imaging (Imagem Ponderada em Suscetibilidade). **NA:** Não Avaliado.

As **figuras 2 a 5** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 1 na **tabela 3**.

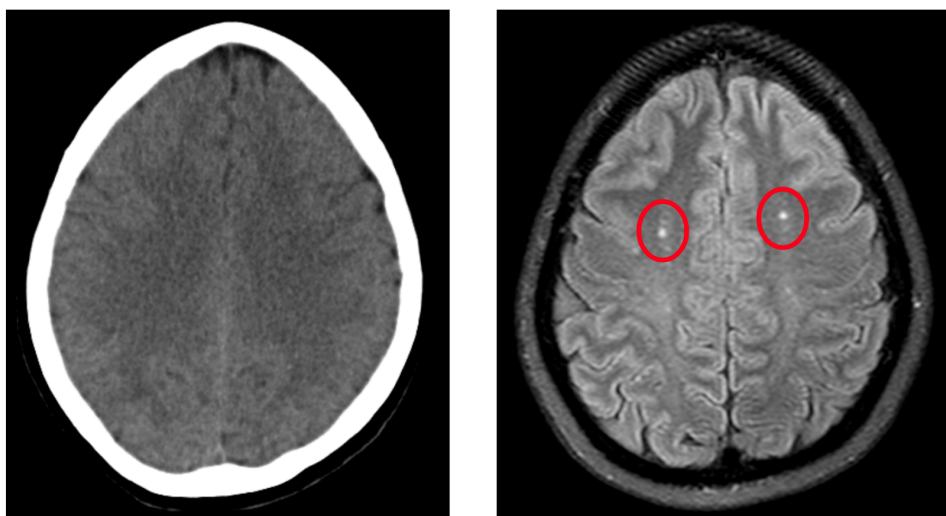


Imagens 2 e 3: Paciente 1. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação SWI) foi realizada durante a fase crônica da PTT. Ambas demonstram alterações descritas na **tabela 3**.

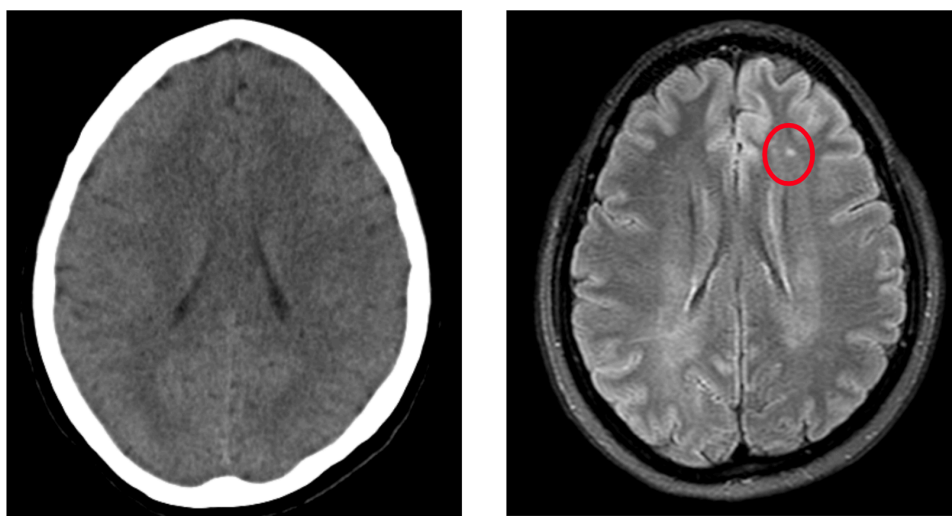


Imagens 4 e 5: Paciente 1. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação SWI) foi realizada durante a fase crônica da PTT. Ambas demonstram alterações descritas na **tabela 3**.

As **figuras 6 a 9** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 2 na **tabela 3**.

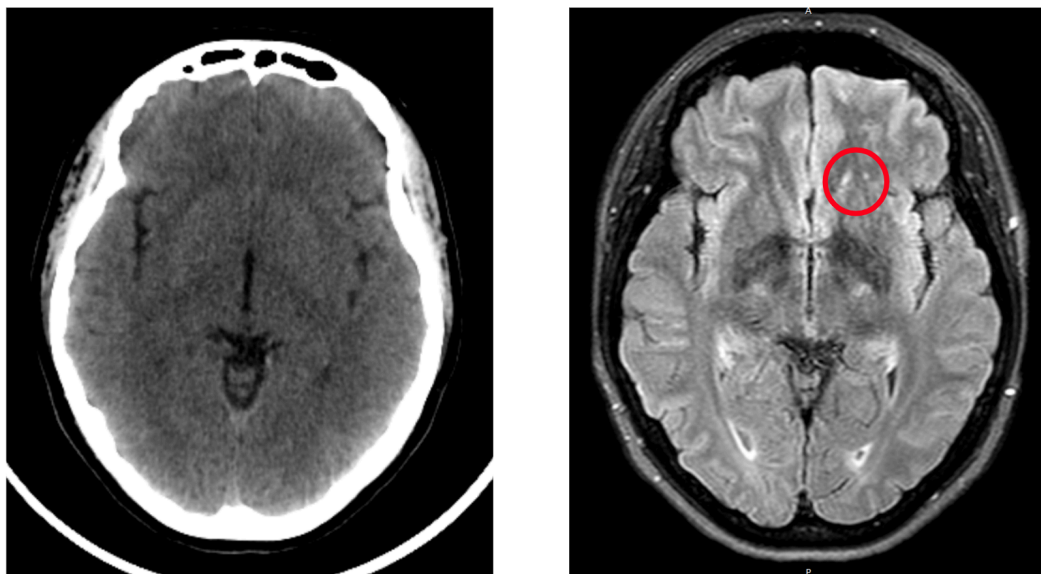


Imagens 6 e 7: Paciente 2. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação FLAIR) foi realizada durante a fase crônica da PTT. A RM demonstra alterações descritas na **tabela 3**.



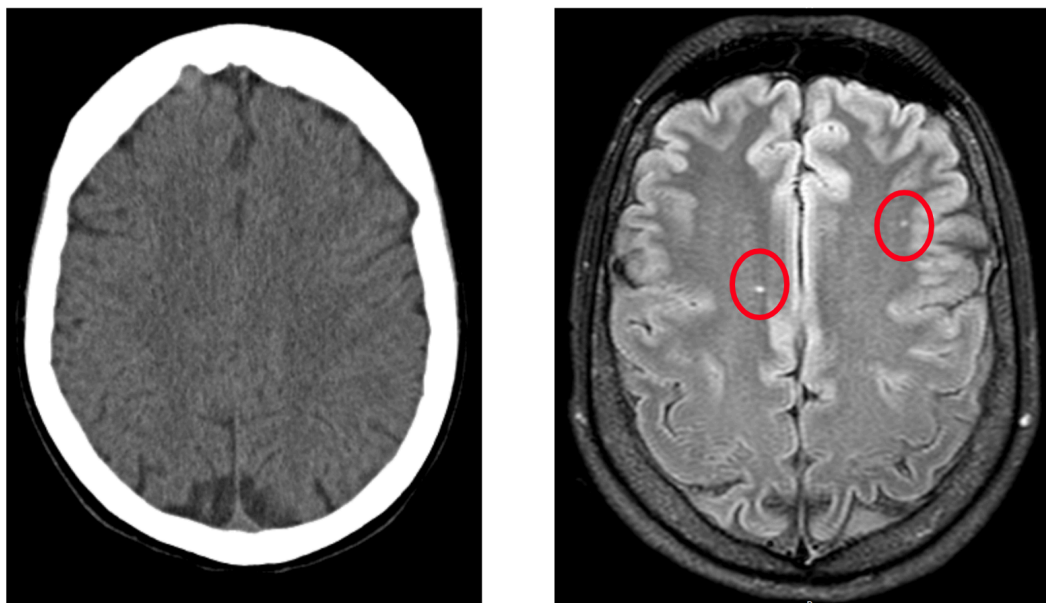
Imagens 8 e 9: Paciente 2. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação FLAIR) foi realizada durante a fase crônica da PTT. A RM demonstra alterações descritas na **tabela 3**.

As **figuras 10 e 11** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 3 na **tabela 3**.



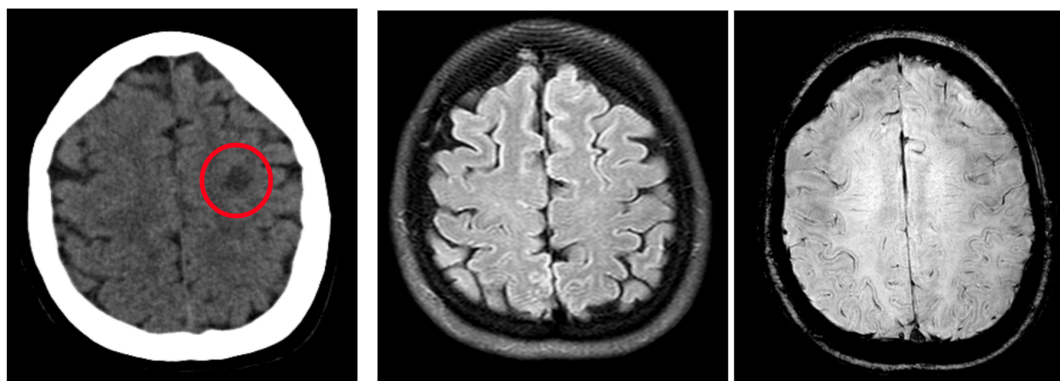
Imagens 10 e 11: Paciente 3. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação FLAIR) foi realizada durante a fase crônica da PTT. A RM demonstra alterações descritas na **tabela 3**.

As **figuras 12 e 13** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 4 na **tabela 3**.



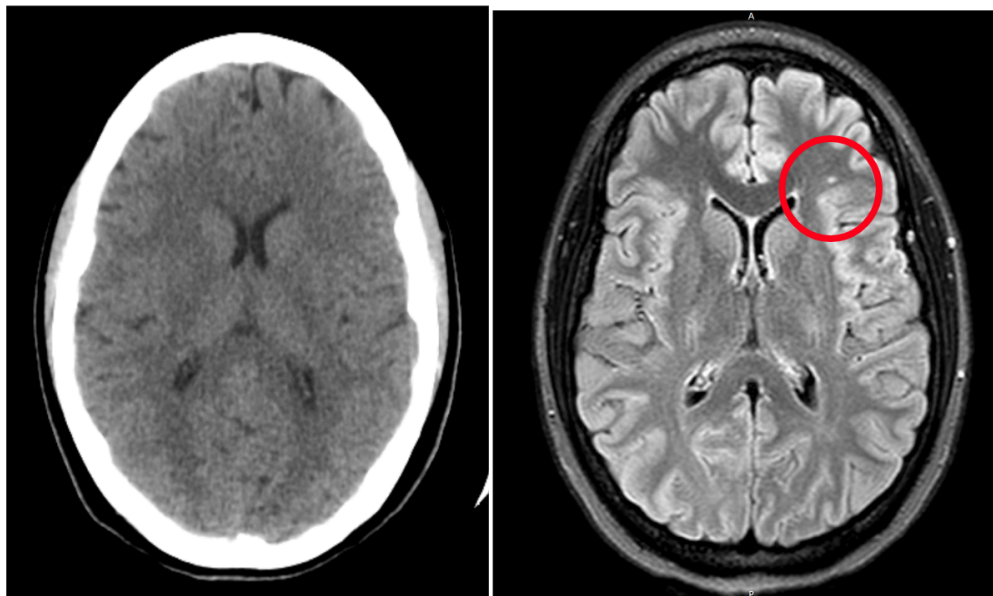
Imagens 12 e 13: Paciente 4. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação FLAIR) foi realizada durante a fase crônica da PTT. A RM demonstra alterações descritas na **tabela 3**.

As **figuras 14 a 16** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 7 na **tabela 3**.



Imagens 14 a 16: Paciente 7. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM - ponderação FLAIR) e a terceira imagem (RM - ponderação SWI) foram realizadas durante a fase crônica da PTT. A imagem inicial demonstra alteração descrita na **tabela 3**.

As **figuras 17 e 18** demonstram os exames de neuroimagem realizados pela paciente identificada como número 8 na **tabela 3**.



Imagens 17 e 18: Paciente 8. A primeira imagem (TC sem contraste) foi realizada durante a fase aguda da PTT. A segunda imagem (RM realizada em equipamento de 3 T - ponderação FLAIR) foi realizada durante a fase crônica da PTT. Ambas as imagens de RM demonstram alterações descritas na **tabela 3**. O intervalo entre os exames de RM foi de 3 meses.

5. DISCUSSÃO GERAL

Na primeira etapa deste estudo observamos que as manifestações neurológicas ocorreram na maioria dos pacientes com PTT durante a fase aguda, representando 73% dos pacientes. O envolvimento neurológico consistiu em manifestações graves, como confusão, comprometimento sensório-motor e estupor. Apesar dos sintomas neurológicos bem caracterizados, a detecção de lesões do SNC por exames de imagem nem sempre é possível.

As alterações observadas especialmente na TC justificaram as manifestações neurológicas apresentadas pelos pacientes. Além disso, reforça a importância da realização de avaliação de neuroimagem durante episódios de PTT, principalmente na presença de manifestação neurológica, uma vez que o padrão de alteração detectado (hemorragia ou isquemia) orienta para a terapêutica adequada, embora a TC não tenha sido capaz de demonstrar danos estruturais no SNC na maioria dos nossos pacientes com manifestações neurológicas. Um estudo prospectivo naqueles pacientes com alterações estruturais demonstráveis, em comparação com aqueles sem durante a fase aguda da PTT, pode refletir melhor o impacto do resultado neurológico nesses pacientes.

Além disso, também avaliamos a evolução clínica da PTT durante a fase aguda em pacientes com manifestações neurológicas graves, em comparação com aqueles com manifestações neurológicas leves ou ausentes. Observamos que pacientes com manifestações neurológicas graves apresentavam forma mais grave de PTT ao diagnóstico, com menor contagem de plaquetas e maior necessidade de internação em UTI do que aqueles com manifestações neurológicas leves ou ausentes. Apesar do pior quadro clínico ao diagnóstico, a evolução clínica durante a internação foi semelhante à observada em pacientes com manifestações neurológicas leves ou sem manifestações neurológicas, uma vez que o número de sessões de

plasmaféreses necessárias para a remissão da PTT, o tempo de internação e o óbito não diferiram substancialmente entre os pacientes.

Nesse estudo identificamos que as manifestações neurológicas são comuns na fase aguda da PTT. No grupo de 16 pacientes que realizaram RM, o percentual que apresentou alguma manifestação neurológica durante a fase aguda foi de 93,8%. Na fase aguda, 8 (50%) realizaram exames de neuroimagem, e alterações foram encontradas em apenas 3 (37,5%). Acreditamos que esse resultado se deve em parte ao fato de que o exame de neuroimagem mais realizado na fase aguda foi a TC, que apresenta menor sensibilidade do que a RM.

Apesar dos sintomas neurológicos serem muito comuns na fase aguda da PTT, a demonstração de lesões em exames de neuroimagem tais como TC e RM nem sempre ocorre. Como esperado, a RM demonstra maior sensibilidade para demonstrar lesões no SNC do que a TC. Porém, por ser um exame menos disponível e muito dependente da colaboração do paciente, é comum que pacientes com PTT durante a fase aguda não tenham condições clínicas de realizar o exame de RM do SNC, e, mais frequentemente, realizam TC. Isso foi observado no nosso grupo, já que apenas 1 paciente realizou RM durante a fase aguda. Os exames de neuroimagem, especialmente a RM, podem demonstrar lesões agudas nos pacientes com PTT, tais como lesões isquêmicas recentes (com restrição à difusão), lesões hemorrágicas e PRES. Um estudo prospectivo naqueles pacientes com alterações estruturais demonstráveis na fase aguda, especialmente na RM, em comparação com aqueles sem alterações neurológicas, pode refletir melhor o impacto do comprometimento neurológico nesses pacientes.

Observamos que o curso clínico dos pacientes com acometimento neurológico grave durante a fase aguda da PTT costuma ser pior do que os pacientes sem comprometimento neurológico grave, apresentando menor contagem de plaquetas e maior necessidade de internação em UTI (26). Além disso, alguns estudos(7,18,30,31,35,39) apontam que as manifestações

neurológicas durante a fase aguda da PTT parecem ter um impacto importante no desenvolvimento de distúrbios cognitivos no futuro, como depressão e ansiedade (7,18,30,31,35,39).

Em relação à análise dos acometimentos tardios causados pela PTT no SNC, identificamos através da análise volumétrica do SNC que os pacientes com PTT apresentam maior redução volumétrica cerebral global do que o grupo de pacientes de idade e sexo semelhantes. Apesar de termos um grupo pequeno de doentes, obtivemos um resultado estatístico significativo para a análise do volume total cerebral, com redução média de 20,34%. O núcleo accumbens esquerdo também apresentou redução de 16,25%.

A fisiopatologia da PTT está diretamente ligada a uma deficiência ou disfunção da ADAMTS13. Esta enzima desempenha importante papel na coagulação sanguínea, atuando na clivagem do vWF. Em situações normais, o vWF facilita a adesão das plaquetas aos locais de lesão vascular. Porém, na PTT, devido à deficiência ou presença de anticorpos que inibem ADAMTS13, há persistência de grandes multímeros de vWF. A presença destes multímeros promove a agregação plaquetária e a formação generalizada de microtrombos vasculares(2,8). O acúmulo de microtrombos nos vasos cerebrais pode causar lesões estruturais sendo uma das possíveis explicações para a redução do volume cerebral observada em pacientes com PTT. Em alguns casos, os baixos níveis de plaquetas podem ser a causa de hemorragias cerebrais, que também podem resultar em danos cerebrais crônicos(40).

Alterações no núcleo accumbens já foram associadas à depressão(41). No presente estudo encontramos redução estatisticamente significativa do núcleo accumbens esquerdo, e tendência à redução do volume núcleo accumbens direito. Por isso, de um modo geral, acreditamos que a redução volumétrica desse núcleo pode estar associada aos transtornos de humor (depressão/ansiedade) que existem nestes pacientes. Além disso, por ser um dos componentes do estriado ventral, tais alterações podem também se associar a disfunções cognitivas.

Nesse estudo, houve uma tendência de redução volumétrica dos hemisférios cerebelares. Como fora descrito em outro trabalho(Upreti et al., 2019), pacientes com PTT apresentam déficits cognitivos na fase tardia. Considerando que o cerebelo apresenta um papel significativo na cognição, acreditamos que a alteração cerebelar observada neste estudo, além da redução do núcleo accumbens possa contribuir para este comprometimento.

Nesse estudo não encontramos relação entre a redução volumétrica do SNC ou de partes dele, com outras variáveis, como: redução da ADAMTS13 na fase tardia, diabetes, ansiedade, depressão, obesidade, hábito de consumir bebida alcoólica, e sedentarismo. Acreditamos que o baixo número de participantes pode ter influenciado nesses resultados. E por isso estudos com maior número de participantes podem contribuir para esta avaliação.

Na mesma data da RM realizamos a análise do nível de ADAMTS13 dos pacientes. E 31% dos pacientes apresentaram nível de ADAMTS13 abaixo do normal. Isto demonstra que mesmo após a remissão clínica e em alguns casos anos após o episódio de PTT o nível de ADAMTS13 não normalizou. Esses dados vão de encontro aos dados encontrados por Upreti *et al*, onde além disso também observaram que a baixa atividade de ADAMTS13 em pacientes pós PTT está associado ao AVC. Devido ao baixo número de participantes não foi possível estabelecer conexão entre os pacientes com baixo índice de ADAMTS13 com a redução volumétrica.

Esta pesquisa apresenta algumas limitações. Trata-se de um estudo realizado em apenas um centro, e por isso o número de participantes é reduzido, limitando os resultados estatísticos obtidos. A maioria dos pacientes que realizaram exames de neuroimagem durante a fase aguda da PTT realizaram apenas TC, o que limita a comparação realizada com RM durante a fase crônica.

6. CONCLUSÃO

Essa pesquisa identificou que os sintomas neurológicos são comuns durante a fase aguda da PTT. E que a médio e longo prazo os pacientes com PTT apresentaram redução estatisticamente significativa no volume do cérebro e do núcleo accumbens esquerdo em comparação com um grupo controle saudável, além de tendência de redução do núcleo accumbens direito e dos hemisférios cerebelares. Em se considerando as funções dessas estruturas, estes achados fornecem um substrato neuroanatômico que pode justificar alterações cognitivas, depressão e ansiedade nesses pacientes.

7. REFERÊNCIAS

1. Furlan M, Robles R, Solenthaler M, L   B. Acquired Deficiency of von Willebrand Factor-Cleaving Protease in a Patient With Thrombotic Thrombocytopenic Purpura [Internet]. 1998. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article-pdf/91/8/2839/1644897/2839.pdf>
2. Tsai HM. Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. Vol. 91, International Journal of Hematology. 2010. p. 1–19.
3. Rock GA, Shumak KH, Spasoff RA. Comparison of Plasma Exchange With Plasma Infusion in The Treatment Of Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. Massachusetts Medical Society. 1991;325(6):393–7.
4. Saha M, McDaniel JK, Zheng XL. Thrombotic thrombocytopenic purpura: pathogenesis, diagnosis and potential novel therapeutics. Vol. 15, Journal of Thrombosis and Haemostasis. Blackwell Publishing Ltd; 2017. p. 1889–900.
5. Scully M, Cataland S, Coppo P, de la Rubia J, Friedman KD, Kremer Hovinga J, et al. Consensus on the standardization of terminology in thrombotic thrombocytopenic purpura and related thrombotic microangiopathies. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2017 Feb 1;15(2):312–22.
6. George JN. TTP: long-term outcomes following recovery. Hematology [Internet]. 2018; Available from: www.mocatest.org
7. Deford CC, Reese JA, Schwartz LH, Perdue JJ, Kremer Hovinga JA, L  mle B, et al. Multiple major morbidities and increased mortality during long-term follow-up after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2013 Sep 19;122(12):2023–9.
8. Tsai HM. Thrombotic Thrombocytopenic Purpura: A Thrombotic Disorder Caused by ADAMTS13 Deficiency. 2007.
9. Tsai H, Lian E. C. Antibodies to Von Willebrand Factor-Cleaving Protease in Acute Thrombotic Thrombocytopenic Purpura. N Engl J Med. 1998;339.
10. Levy GG, Nichols WC, Lian EC, Foroud T, Mcclintick JN, Mcgee BM, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura [Internet]. 2001. Available from: <http://genome.ucsc.edu>

11. Page EE, Kremer Hovinga JA, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Thrombotic thrombocytopenic purpura: Diagnostic criteria, clinical features, and long-term outcomes from 1995 through 2015. *Blood Adv.* 2017 Apr 11;1(10):590–600.
12. Lewis QF, Lanneau MS, Mathias SD, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Long-term deficits in health-related quality of life after recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion (Paris)*. 2009 Jan;49(1):118–24.
13. Domingo-González A, Regalado-Artamendi I, Martín-Rojas RM, Pérez-Rus G, Pérez-Corral A, Díez-Martín JL, et al. Application of the French TMA Reference Center Score and the mortality in TTP Score in de novo and relapsed episodes of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura at a tertiary care facility in Spain. *J Clin Apher.* 2021 Jun 1;36(3):420–8.
14. Li A, Khalighi PR, Wu Q, Garcia DA. External validation of the PLASMIC score: a clinical prediction tool for thrombotic thrombocytopenic purpura diagnosis and treatment. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2018 Jan 1;16(1):164–9.
15. Bendapudi PK, Hurwitz S, Fry A, Marques MB, Waldo SW, Li A, et al. Derivation and external validation of the PLASMIC score for rapid assessment of adults with thrombotic microangiopathies: a cohort study. *Lancet Haematol.* 2017 Apr 1;4(4):e157–64.
16. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, et al. ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2020 Oct 1;18(10):2486–95.
17. Selvakumar S, Liu A, Chaturvedi S. Immune thrombotic thrombocytopenic purpura: Spotlight on long-term outcomes and survivorship. Vol. 10, *Frontiers in Medicine*. Frontiers Media S.A.; 2023.
18. Upreti H, Kasmani J, Dane K, Braunstein EM, Streiff MB, Shanbhag S, et al. Reduced ADAMTS13 activity during TTP remission is associated with stroke in TTP survivors. *Blood*. 2019 Sep 26;134(13):1037–45.
19. Brodsky MA, Sukumar S, Selvakumar S, Yanek L, Hussain S, Mazepa MA, et al. Major adverse cardiovascular events in survivors of immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol.* 2021 Dec 1;96(12):1587–94.

20. Sukumar S, Brodsky M, Hussain S, Yanek L, Moliterno A, Brodsky R, et al. Cardiovascular disease is a leading cause of mortality among TTP survivors in clinical remission. In: *Blood Advances*. American Society of Hematology; 2022. p. 1264–70.
21. Lin C, Memon R, Sui J, Zheng XL. Identification of Biomarkers in Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Presenting with Large and Small Ischemic Stroke. *Cerebrovasc Dis Extra*. 2021 Jan 1;11(1):29–36.
22. Yu WL, Leung T, Soo Y, Lee J, Wong KS. Thrombotic thrombocytopenic purpura with concomitant small- and large-vessel thrombosis, atypical posterior reversible encephalopathy syndrome and cerebral microbleeds. *Oxf Med Case Reports*. 2015 Feb 2;2015(2):179–82.
23. Memon R, Sui J, Lin C, Zheng XL. Cerebral Infarction in Immune Thrombotic Thrombocytopenic Purpura Is Associated with Old Age, Hypertension, Smoking, and Anti-ADAMTS13 Ig, But Not with Mortality. *TH Open*. 2021 Jan;05(01):e1–7.
24. Tomich C, Debruxelles S, Delmas Y, Sagnier S, Poli M, Olindo S, et al. Immune-Thrombotic Thrombocytopenic Purpura is a Rare Cause of Ischemic Stroke in Young Adults: Case Reports and Literature Review. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2018 Nov 1;27(11):3163–71.
25. Castro JT de S, Rittner L, Appenzeller S, Yamaguti-Hayakawa GG, Colella M, De Paula E V, et al. Association of Plasmic Score with Neurological Symptoms in Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP). *Blood*. 2019 Nov 13;134(Supplement_1):4894–4894.
26. de Souza de Castro JT, Appenzeller S, Colella MP, Yamaguti-Hayakawa G, De Paula EV, Annichinno-Bizzachi J, et al. Neurological manifestations in thrombotic microangiopathy: Imaging features, risk factors and clinical course. *PLoS One*. 2022 Sep 1;17(9 September).
27. Cataland SR, Scully MA, Paskavitz J, Maruff P, Witkoff L, Jin M, et al. Evidence of persistent neurologic injury following thrombotic thrombocytopenic purpura. Vol. 86, *American Journal of Hematology*. 2011. p. 87–9.
28. Weil EL, Rabinstein AA. Neurological manifestations of thrombotic microangiopathy syndromes in adult patients. *J Thromb Thrombolysis*. 2021 May 1;51(4):1163–9.

29. Roriz M, Landais M, Desprez J, Barbet C, Azoulay E, Galicier L, et al. Risk factors for autoimmune diseases development after thrombotic thrombocytopenic purpura. *Medicine (United States)*. 2015 Oct 1;94(42):e1598.
30. Han B, Page EE, Stewart LM, Deford CC, Scott JG, Schwartz LH, et al. Depression and cognitive impairment following recovery from thrombotic thrombocytopenic purpura. *Am J Hematol*. 2015 Aug 1;90(8):709–14.
31. Falter T, Schmitt V, Herold S, Weyer V, von Auer C, Wagner S, et al. Depression and cognitive deficits as long-term consequences of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfusion (Paris)*. 2017 May 1;57(5):1152–62.
32. Chaturvedi S, Oluwole O, Cataland S, McCrae KR. Post-traumatic stress disorder and depression in survivors of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Thromb Res*. 2017 Mar 1;151:51–6.
33. Borogovac A, Tarasco E, Hovinga JAK, Friedman KD, Asch AS, Vesely SK, et al. Prevalence of neuropsychiatric. *Blood*. 2022;7:785–9.
34. Sakai K. Long-term cognitive impairments following recovery in the patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. Vol. 191, *British Journal of Haematology*. Blackwell Publishing Ltd; 2020. p. 671–2.
35. Alwan F, Mahdi D, Tayabali S, Cipolotti L, Lakey G, Hyare H, et al. Cerebral MRI findings predict the risk of cognitive impairment in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol*. 2020 Dec 1;191(5):868–74.
36. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage*. 2012 Aug 15;62(2):774–81.
37. Gomes-Oliveira MH, Gorenstein C, Neto FL, Andrade LH, Wang YP. Validação da versão Brasileira em Português do Inventário de Depressão de Beck-II numa amostra da comunidade. *Revista Brasileira de Psiquiatria*. 2012;34(4):389–94.
38. Quintão S, Delgado AR, Prieto G. Validity Study of the Beck Anxiety Inventory (Portuguese version) by the Rasch Rating Scale Model. *Psicologia: Refl exão e Crítica*. 2012;26(2):305–10.
39. Burrus TM, Wijdicks EFM, Rabinstein AA. Brain lesions are most often reversible in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *Neurology*. 2009;73:66–70.

40. Quinones-Hinojosa AGMSVLM. Spontaneous intracerebral hemorrhage due to coagulation disorders. *Neurosurg Focus*. 2003;15:1–17.
41. Chu Z, Yuan L, He M, Cheng Y, Lu Y, Xu X, et al. Atrophy of bilateral nucleus accumbens in melancholic depression. *Neuroreport*. 2023 Jun 7;34(10):493–500.
42. Weil EL, Rabinstein AA. Neurological manifestations of thrombotic microangiopathy syndromes in adult patients. *J Thromb Thrombolysis*. 2021; 51:1163-1169 <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02431-5>
43. Prevel R, Roubaud-Baudron C, Gurlain S, Jamme M, Peres K, Benhamou Y, et al. Immune thrombotic thrombocytopenic purpura in older patients: prognosis and long-term survival. *Blood*. 2019; 134:2209-2217 <https://doi.org/10.1182/blood.2019000748>
44. Sun RX, Xu J, Zhu, HD, Yu XZ, Yang J. Clinical presentation and management of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura: a case series of 55 patients. *Ther Apher Dial*. 2021; 25:118-123 <https://doi.org/10.1111/1744-9987.13502>
45. Riva S, Mancini I, Maino A, Ferrari B, Artoni A, Agosti P, Peyvandi F. Long-term neuropsychological sequelae, emotional wellbeing and quality of life in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Haematologica*. 2020; 105:1957-1962 <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.226423>
46. Cataland SR, Haifeng M, Wu HM. Atypical hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura: Clinically differentiating the thrombotic microangiopathies. *Eur J Intern Med*. 2013; 24:486-491 <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2013.05.007>

8. ANEXOS

8.1 Artigo publicado

Artigo publicado. Como o tema não faz parte da tese deste doutorado, o artigo está sendo colocado em anexo. Porém neste trabalho utilizamos o FreeSurfer para realizar a análise volumétrica, ou seja, a mesma ferramenta utilizada na tese. Por isso estamos incluindo este artigo.



Sjogren-Larsson syndrome brain volumetric reductions demonstrated with an automated software

José Thiago de Souza de Castro, Camilo Lotfi Saab, Mariam Patrícia Auada Souto, Juliane Giselle Ortolam, Carlos Eduardo Steiner, Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende, Fabiano Reis.

José Thiago de Souza de Castro - Department of Radiology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. ORCID 0000-0002-6009-8607

Camilo Lotfi Saab: Department of Radiology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; Vital Brasil street, 251 - Cidade Universitária, Campinas - SP, 13083-888, telephone +55(19) 3521-7280, e-mail: saabl.camilo@gmail.com. 0000-0002-1357-6899

Mariam Patrícia Auada Souto - Department of Radiology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. 0000-0001-6925-8307

Juliane Giselle Ortola - Department of Radiology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. 0000-0003-1851-845X

Carlos Eduardo Steiner - Department of Medical Genetics, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. 0000-0001-5148-3063

Thiago Junqueira Ribeiro de Rezende - Department of Neurology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. 0000-0001-8453-0313

Fabiano Reis - Department of Radiology, School of Medical Sciences, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil. 0000-0003-2256-4379

Abstract

Sjögren-Larsson syndrome (SLS) is a neurocutaneous disease with an autosomal recessive inheritance, caused by mutations in the gene that encodes fatty aldehyde dehydrogenase (*ALDH3A2*), clinically characterized by ichthyosis, spastic diplegia and cognitive impairment. Brain imaging plays an essential role in the diagnosis, demonstrating a nonspecific leukoencephalopathy. Data regarding brain atrophy and grey matter involvement is scarce and discordant. We performed a volumetric analysis of the brain of two siblings with SLS with the aim of detecting deep grey matter nuclei, cerebellar grey matter and brainstem volume reduction in these patients. **Methods:** volume data obtained from the brain MRI of the two patients using an

automated segmentation software (Freesurfer) was compared to the volumes of a healthy control group. **Results:** statistically significant volume reduction was found in the cerebellum cortex, brainstem, thalamus, pallidum nuclei.

Conclusion: volume reduction in grey matter leads to the hypothesis that SLS is not a pure leukoencephalopathy. Grey matter structures affected in this study suggests a dysfunction more prominent in the thalamic motor pathways.

Keywords: Sjogren-Larsson Syndrome; FreeSurfer; brain volumetry; neurocutaneous disease; thalamic motor pathways.

Funding: none

1. Introduction

Sjögren-Larsson syndrome (SLS) is a neurocutaneous disease with an autosomal recessive inheritance, caused by mutations in the gene that encodes fatty aldehyde dehydrogenase (*ALDH3A2*). It affects the skin and brain predominantly, resulting in the classic triad of ichthyosis, spastic diplegia and cognitive impairment^{1,2}. Brain imaging plays an essential role in the diagnosis, albeit with nonspecific findings, the most prominent of which is a leukoencephalopathy. Previous data from brain magnetic resonance imaging (MRI) of SLS patients also report brain atrophy in some individuals^{3,4}. While white matter involvement is well established, data related to grey matter involvement is scarce, with some neuropathological reports indicating discordant areas of affected grey matter. In this study, we performed a volumetric analysis of the brain MRI of two siblings with SLS using an automated segmentation software (Freesurfer) and compared the volumes obtained to the data of a healthy control group, with the aim of detecting grey and/or white matter volume reduction in these patients.

2. Methods

2.1 Patients

Patients that had a confirmed diagnosis of SLS and followed in our institution were selected for the case group. Patients with presumptive diagnosis and no confirmatory test were excluded from the selection.

For the control group, we searched for subjects with no medical background in our brain MRI database and selected them on the basis of sex and age so as to match the case group. Subjects with brain structural alterations were excluded from the study.

The Institutional Review Board/Ethics Committee, Research Ethics Committee of the Faculty of Medical Sciences - UNICAMP (University of Campinas), approved the study, and informed consent was obtained for all participants.

2.2 MRI

MRI was performed on all patients and control subjects on a high resolution 3T Achieva Intera Scanner (PHILLIPS) using a standard protocol consisting of routine T1 and T2 weighted sequences. Additionally, for the FreeSurfer analysis, a volumetric T1-weighted sequence was acquired using a standard 8 channel head coil, with a sagittal orientation, voxel matrix 240x240x180, voxel size 1x1x1mm³, TR/TE= 7.0/3.2 ms, flip angle 8°.

2.3 Volumetry

Cortical and subcortical segmentation and volumetric analysis was performed with the Freesurfer 6.0 image analysis suite, which is available for download online (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Technical details can be found in prior publications⁵⁻⁸. Briefly, in its image processing, it includes field inhomogeneity correction, skull removal and alignment to Talaraich atlas, followed by the labelling of each voxel as grey matter, white matter or cerebrospinal fluid and tessellation of the grey matter/white matter boundaries. The maps created rely on both the absolute signal intensity and spatial intensity gradients across the tissues and provide sub millimeter resolution, beyond the voxel resolution. The process was checked for errors and the need of manual adjustments, although no correction was warranted. We included in our analysis the volumes of the deep grey matter structures (caudate, putamen and pallidum nuclei, as well as the thalamus), brainstem and cerebellar cortex. Due to the cerebral white matter signal alteration that is inherent to the disease, we didn't

include neither supratentorial cortical thickness and volume nor cerebral white matter volume in the analysis considering the possibility that the software could misinterpret the cortical grey matter/white matter boundaries.

2.4 Statistical analysis

The normality of the distribution of the volumes obtained from the control group was tested using the Shapiro-Wilk test, confirming a normal distribution with $P\text{-values} > 0.05$. The bilateral structures (cerebellar cortex, thalami, pallidum, caudate and putamen) had their volumes represented by the average of the volumes of both hemispheres. The mean volumes of the case group were compared to the control group using a one-sample Z-test, since we disposed of the population (control group) standard deviation and variance values. The test was one-tailed considering the previous literature data indicated only brain volume reductions in SJL patients. The primary significance level was $P < 0.05$, adjusted to $P < 0.008$ after the Bonferroni correction for multiple comparisons, to avoid type I errors.

3. Results

3.1 Participants

The search in our institution database returned three patients that fulfilled the criteria for the case group. They were siblings from non consanguineous parents from a small isolated community where consanguinity is more prevalent and a founder effect for the SLS could be identified. One of them had to be excluded from the analysis since the software used could not conclude brain segmentation due to profuse white matter signal alteration. The patients included in our study were females aged 22 and 37 years (mean age: 29.5) at the time of investigation. Both of them presented with the classical triad of congenital ichthyosis, spasticity and mental retardation in the first years of life, and had their diagnosis confirmed by molecular characterization of the *ALDH3A2* gene mutation (both had a homozygous mutation c.1108-1G>C in intron 7). They had moderate cognitive impairment and were dependent on wheelchair.

We included in the control group 41 healthy patients, all females, with ages similar to the case group (mean age 27.9 - range 20-37). None had brain structural alterations.

3.2 MRI analysis

Both SLS patients presented symmetrical, confluent T2/FLAIR hyperintensity in the periventricular white matter, predominantly in the frontal lobes, sparing subcortical fibers. The older patient also presented T1 hypointensity in these regions.

3.3 Data analysis

All volumes obtained from the control group were found to be normally distributed using the Shapiro-Wilk test.

The structures analyzed are represented on **Figure 1**. There was a significant volume reduction of the cerebellum cortex ($P < 0.001$), brainstem ($P = 0.002$), thalami ($P = 0.005$) and pallidum nuclei ($P = 0.005$) (**Figure 2**). We did not find significant reduction in the volume of the caudate nuclei ($P = 0.3$) and putamen ($P = 0.01$). The **Table 1** demonstrates neuroimaging data with FreeSurfer. The severity of white matter disease is demonstrated in **Figures 3** and **4**.

4. Discussion

SLS is an inherited autosomal recessive neurocutaneous disease caused by an inborn error of the lipid metabolism resulting from mutations in the *ALDH3A2* gene that encodes fatty aldehyde dehydrogenase (FALDH). FALDH is an enzyme involved, among other lipid metabolism pathways, in the removal of aldehydes from both endogenous and exogenous sources through oxidation into fatty acids. Its activity deficiency leads to abnormal lipid accumulation in the membranes of the skin and brain. In the skin, it leads to disruption of the epidermal water barrier and transepidermal water loss, while in the brain it may alter the structure and/or the function of myelin membranes^{1,2,4,10,11}. There are several mutations that result in SLS, some being more common in certain

geographical distributions. The c.1108-1G>C variant was initially described in the Iberian Peninsula and is probably the most common pathogenic mutation in Brazilian patients with SLS¹.

Clinically, it is characterized by a classic triad of ichthyosis, spastic diplegia and cognitive impairment. The ichthyosis is typically congenital in onset with erythema and scaling apparent in the neonatal period¹².

Neurologic symptoms become evident in the first or second year of life, with a delay in motor milestones as a consequence of spasticity. This motor disability tends to be more prominent in legs, leading to difficulty in ambulation, uncommonly affecting upper limbs. The majority of patients with SLS become wheelchair dependent, although a smaller number of them is able to walk with the use of walking assistive devices^{1,11-13}.

Cognitive deficits range from mild to moderate, and, unlike other neurometabolic diseases, don't progress over the decades¹¹. Usually, patients are able to reach a certain level of independency¹.

Other manifestations include preterm birth, pseudobulbar dysarthria, seizures and ophthalmologic alterations. The latter are present after three years of age, with features that are pathognomic when present, characterized by retinal glistening white dots representing crystalline inclusions, and micro-cysts in fovea^{1,2,11}.

Brain imaging plays an important role in the evaluation of patients with SLS, even though there are no pathognomonic findings. CT scans depict nonspecific hypodensities in the cerebral white matter¹⁴. Brain MRI, however, is the imaging modality of choice, due to its lack of ionizing radiation and better characterization of grey and white matter abnormalities, as well as morphological changes. The prominent finding is diffuse, confluent signal alteration in the periventricular and deep white matter sparing the subcortical fibers, reflecting gliosis, delayed myelination, dismyelination, demyelination and lipids accumulation^{14,15}. A frontal or parieto-occipital predominance has been

described^{4,11}. Some case studies also report brain atrophy in SLS patients, although there is not sufficient data to conclude if it is progressive^{3,4,16}. Magnetic resonance spectroscopy of the white matter abnormality is another useful resource and depicts peaks assigned to lipids in 0.8-0.9 ppm and in 1.3 ppm, which probably reflects accumulation of fatty alcohols or their metabolites^{17,18}.

It is well recognized that the main imaging findings are related with the leukoencephalopathy. Data related to grey matter involvement is scarce, with some neuropathological studies reporting conflicting results concerning neuronal population loss of the putamen, substantia nigra and thalamus¹⁹⁻²³. A limitation for most of these studies is that there was no definitive confirmation of the SLS diagnosis. Jagel^{24,25} mention some that presented cases with typical SLS features¹⁹⁻²¹ and other with atypical features^{22,23}. More recently, Staps²⁶ conducted a post mortem analysis of a genetically confirmed SLS patient. Taking in consideration only the reports with typical clinical features and the one with confirmed diagnosis, there are still conflicting results. Sylvester¹⁹ describes fat droplets in grey matter as well as an increased number of astrocytes in the cortex, caudate and lentiform nuclei; also noted were slight loss of Purkinje cells in the cerebellum and focal areas of cerebellar atrophy. Silva²⁰ reports normal neuronal population and myelination in the cerebral cortex, basal ganglia and internal capsule; the only finding was demyelination of the corticospinal tracts in the medulla. Wester²¹, however, analyzed the brain of two SLS patients and reported a slight loss of neurons in the telencephalic cortex, putamen and striatum, with the most striking degeneration in the *substantia nigra*. Finally, Staps²⁶ found no grey matter neuronal loss but concluded that the disturbed lipid profile affects both white and grey matter, thus suggesting that it is not a pure leukoencephalopathy.

In this study, using brain volumetry, we were able to non-invasively evaluate and compare deep grey matter, brain stem and cerebellar grey matter volume of SLS patients with a healthy control group. It should be noted that the reduced grey matter areas found in this study are directly or indirectly involved in motor functions. Clinically, there are motor deteriorations throughout SLS

patient's lives, not accompanied by cognitive deterioration, thus leading to the postulation that they are secondary to limitations during the motor development age¹³. However, with proofing of atrophy of structures related to movement control, it can be questioned whether these deteriorations are not directly caused by the disease itself.

Interestingly, it is well known that the thalamus is part of pathways between the cerebellum, basal ganglia and the frontal cortex. Targeted thalamotomies and deep brain stimulation have been successfully used to treat involuntary movements, confirming its essential role in motor functions. There are cerebellum-recipient thalamus nuclei²⁷ and basal ganglia-recipient (pallidum and substantia nigra) thalamus nuclei, with afferent pathways to the frontal cortex²⁸. Coincidentally, the structures involved in these pathways are the structures with significant volume reduction in this study (*i.e.* cerebellum, thalamus, pallidum). The substantia nigra was not evaluated in our analysis, but, as noted before, was shown to be strikingly affected in a previous report²¹. Perhaps, disruption of these pathways is accountable for both the spastic diplegia present in these patients and the volume reduction observed in this study.

To our knowledge, no article specifically addresses brainstem alterations in SLS patients but there is evidence of demyelination of corticospinal tracts²⁰. In addition to that, we can postulate that cerebellothalamic tracts involvement is also related to the brainstem volume reduction observed in our analysis.

This study brings light to the possibility that Sjögren-Larsson syndrome has a more pronounced involvement in the thalamic motor pathways. With this new knowledge, more studies could better investigate grey matter alterations in these patients, to try to establish if these are related to the motor disability clinically observed, whether as the cause of it or as a long-term consequence.

As a limitation of our study, the use of FreeSurfer can generate some errors, especially in hyperintensity regions of the white matter, causing errors in the segmentations of the gray matter²⁹.

We consider the hypothesis that motor function deterioration might be related to the reduced grey matter areas found in the study, as these structures are related to movement control; in particular this study brings light to the possibility that SLS has a more pronounced involvement in the thalamic motor pathways, while striatal structures would be less interested. Further investigation on a possible selective involvement of grey matter areas or white matter tracts in these patients are needed, maybe integrating DTI studies, which may provide information about white matter lesions³⁰.

It can be questioned whether these deteriorations are not directly caused by the disease itself or are long-term consequence. Limitations of this study are the small sample and that it evaluated the SLS patients MRI in only one occasion and in patients in their adult age, when the symptoms had already a long course of evolution. Cognitive impairment is reported to be non progressive, yet there is not enough data to conclude about progression of the imaging findings. Consideration must be taken that SLS has a wide spectrum of genotypes and phenotypes and that could account for apparently discordant data in the literature.

Data obtained from this automated segmentation software using only a T1-weighted volumetric sequence can non-invasively lead to new understandings of the disease.

Disclaimer: The views expressed in this article are the authors' and not an official position of the institution.

Table1: Volumes (mean $\pm$ SD) obtained using FreeSurfer, in cubic centimeters.

Volumes	ControlGroup	SLS patients	Z-score	P-value
Total Brain	1071.52 $\pm$ 65.82	968.79 $\pm$ 10.14	-2.20	0.013

Table1: Volumes (mean $\pm$ SD) obtained using FreeSurfer, in cubic centimeters.

Volumes	ControlGroup	SLS patients	Z-score	P-value
Cerebral WM*	425.70 $\pm$ 39.10	329.18 $\pm$ 41.07	-3.49	<0.01(0.00024)
Cortex	444.43 $\pm$ 26.37	428.13 $\pm$ 11.61	-0.87	0.192
GM**	601.13 $\pm$ 32.50	561.95 $\pm$ 5.16	-1.70	0.044
Brainstem	19.55 $\pm$ 1.92	15.74 $\pm$ 0,14	-2.79	<0.01(0.002)
Left Caudate	3.52 $\pm$ 0.37	3.56 $\pm$ 0.03	0.15	0.440
Right Caudate	3.63 $\pm$ 0.36	3.47 $\pm$ 0.01	-0.62	0.264
Leftcerebellum cortex	49.48 $\pm$ 3.45	40.51 $\pm$ 2.43	-3.67	<0.01(0.00012)
Rightcerebellum cortex	49.61 $\pm$ 3.39	41.50 $\pm$ 2.60	-3.37	<0.01(0.00038)
Left Cerebellar WM*	14.41 $\pm$ 1.42	11.53 $\pm$ 0.41	-2.85	<0.01(0.00212)
Right Cerebellar WM*	13.59 $\pm$ 1.40	11.09 $\pm$ 1.01	-2.52	<0.01(0.0057)
Left Hippocampus	4.03 $\pm$ 0.30	3.95 $\pm$ 0.15	-0.37	0.351
Right Hippocampus	4.14 $\pm$ 0.32	3.79 $\pm$ 0.00	-1.56	0.058
Left pallidum	1.86 $\pm$ 0.18	1.51 $\pm$ 0.19	-2.85	<0.01(0.00212)
Right pallidum	1.84 $\pm$ 0.16	1.56 $\pm$ 0.17	-2.80	<0.01(0.00256)
Left Putamen	4.98 $\pm$ 0.39	4.45 $\pm$ 0.66	-1.93	0.026
Right Putamen	4.96 $\pm$ 0.38	4.37 $\pm$ 0.55	-2.22	0.012
Left Thalamus	7.14 $\pm$ 0.66	5.92 $\pm$ 0.44	-2.60	<0.01(0.00466)
Right Thalamus	6.77 $\pm$ 0.55	5.74 $\pm$ 0.07	-2.61	<0.01(0.0044)
*: White matter **: Greymatter				

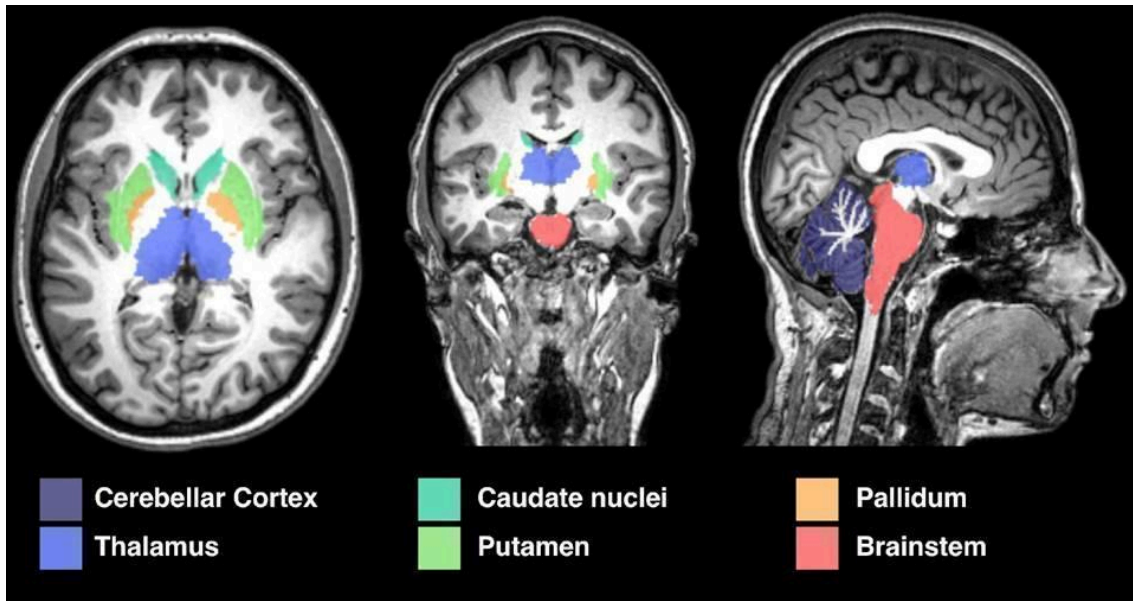


Figure 1: schematic view of the analyzed structures segmentation.

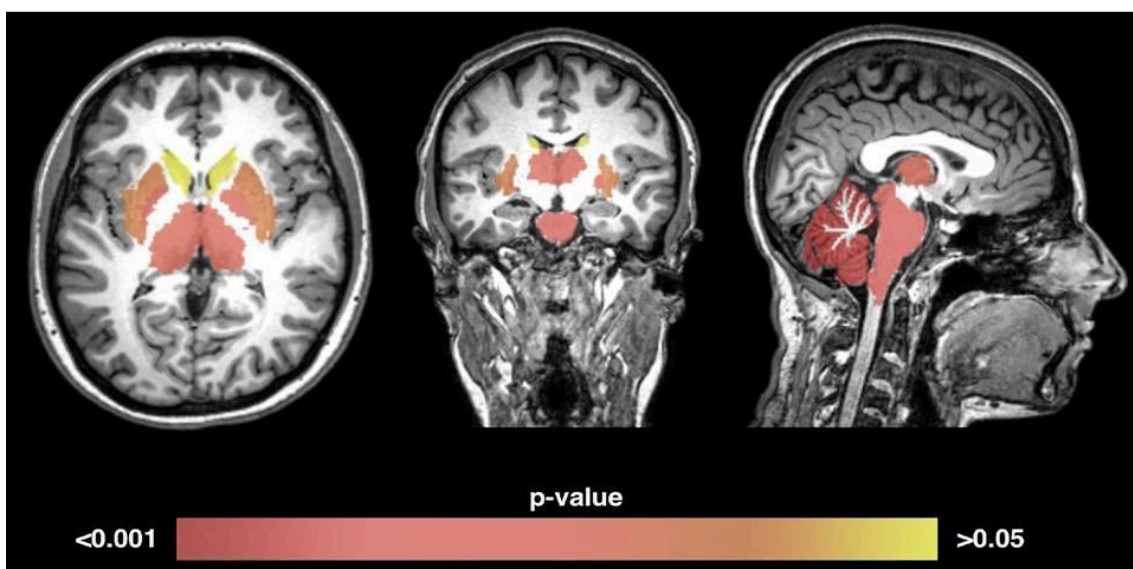


Figure 2: P-values obtained from each structure represented in a color scale.

Structures

without statistically significant volume reduction are represented in orange

(putamen: $P=0.01$)

and yellow (caudate nuclei: $P=0.3$)

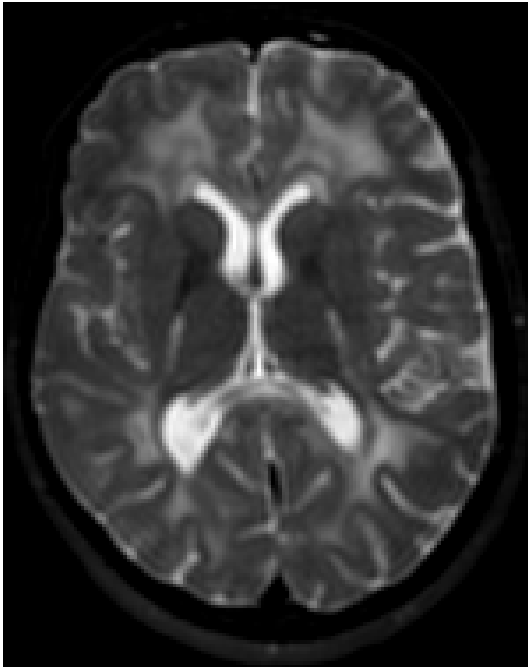


Figure 3: Axial T2 weighted image demonstrates confluent and symmetrical cerebral white matter hyperintensities, in the periventricular regions and posterior limb of the internal capsules.

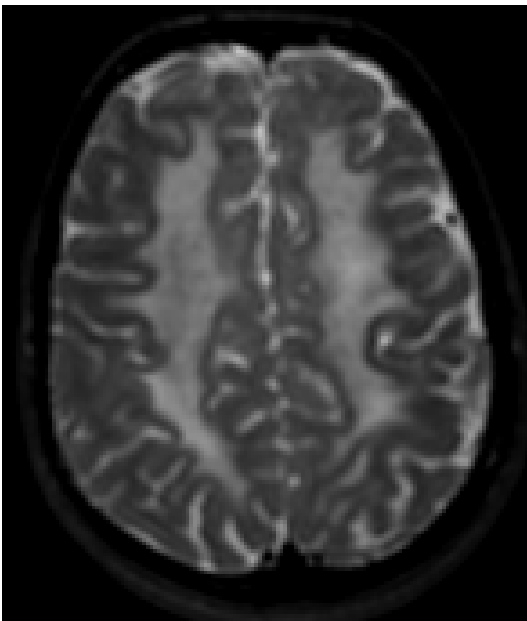


Figure 4: Axial T2 weighted image at the level of the centrum semiovale demonstrates confluent and symmetrical deep white matter hyperintensities.

The Authors declare that there is no conflict of interest.

References

- [1] Auada MP, Puzzi MB, Cintra ML, Steiner CE, Alexandrino F, Sartorato EL, Aguiar TS, Azulay RD, Carney G, Rizzo WB. Sjögren-Larsson syndrome in Brazil is caused by a common c.1108-1G-->C splice-site mutation in the ALDH3A2 gene. *Br J Dermatol.* 2006 Apr;154(4):770-3. doi: 10.1111/j.1365-2133.2006.07135.x.
- [2] Bindu PS. Sjogren-Larsson Syndrome: Mechanisms and Management. *Appl Clin Genet.* 2020 Jan 7;13:13-24. doi: 10.2147/TACG.S193969.
- [3] Van Mieghem F, Van Goethem JW, Parizel PM, van den Hauwe L, Cras P, De Meirleire J, De Schepper AM. MR of the brain in Sjögren-Larsson syndrom. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1997 Sep;18(8):1561-3.
- [4] Willemsen MA, Van Der Graaf M, Van Der Knaap MS, Heerschap A, Van Domburg PH, Gabreëls FJ, Rotteveel JJ. MR imaging and proton MR spectroscopic studies in Sjögren-Larsson syndrome: characterization of the leukoencephalopathy. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2004 Apr;25(4):649-57.
- [5] Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis. I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage.* 1999 Feb;9(2):179-94. doi: 10.1006/nimg.1998.0395.
- [6] Fischl B, Dale AM. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000 Sep 26;97(20):11050-5. doi: 10.1073/pnas.200033797.
- [7] Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, van der Kouwe A, Killiany R, Kennedy D, Klaveness S, Montillo A, Makris N, Rosen B, Dale AM. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron.* 2002 Jan 31;33(3):341-55. doi: 10.1016/s0896-6273(02)00569-x.
- [8] Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis. II: Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage.* 1999 Feb;9(2):195-207. doi:10.1006/nimg.1998.0396.

- [9] Weustenfeld M, Eidelpes R, Schmuth M, Rizzo WB, Zschocke J, Keller MA. Genotype and phenotype variability in Sjögren-Larsson syndrome. *Hum Mutat*. 2019 Feb;40(2):177-186. doi: 10.1002/humu.23679.
- [10] Roy U, Das U, Pandit A, Debnath A. Sjögren-Larsson syndrome: a rare disease of the skin and central nervous system. *BMJ Case Rep*. 2016 Apr 19;2016:10.1136/bcr-2016-215110. doi: 10.1136/bcr-2016-215110.
- [11] Nagappa M, Bindu PS, Chiplunkar S, Gupta N, Sinha S, Mathuranath PS, Bharath RD, Taly AB. Child Neurology: Sjögren-Larsson syndrome. *Neurology*. 2017 Jan 3;88(1):e1-e4. doi: 10.1212/WNL.0000000000003456.
- [12] Dutra LA, Braga-Neto P, Pedroso JL, Barsottini OGP. Sjögren-Larsson Syndrome. In: Ahmad S, ed. *Neurodegenerative Diseases*. 1st ed. New York, NY: Springer; 2012:344-349.
- [13] Cho KH, Shim SH, Kim M. Clinical, biochemical, and genetic aspects of Sjögren-Larsson syndrome. *Clin Genet*. 2018 Apr;93(4):721-730. doi: 10.1111/cge.13058.
- [14] Hussain MZ, Aihara M, Oba H, Ohtomo K, Uchiyama G, Hayashibe H, Nakazawa S. MRI of white matter changes in the Sjögren-Larsson syndrome. *Neuroradiology*. 1995 Oct;37(7):576-7. doi:10.1007/BF00593725.
- [15] Van Domburg P, Willemsen M, Rotteveel J, et al. Sjögren-Larsson syndrom. *Neurology*. 1999;52(7):1345-1352.
- [16] Miyanomae Y, Ochi M, Yoshioka H, Takaya K, Kizaki Z, Inoue F, Furuya S, Naruse S. Cerebral MRI and spectroscopy in Sjögren-Larsson syndrome: case report. *Neuroradiology*. 1995 Apr;37(3):225-8. doi: 10.1007/BF01578262.
- [17] Sijens PE, Westerlaan HE, de Groot JC, Boon M, Potze JH, van Spronsen FJ, Lunsing RJ, Oudkerk M. MR spectroscopy and diffusion tensor imaging of the brain in Sjögren-Larsson syndrome. *Mol Genet Metab*. 2009 Dec;98(4):367-71. doi: 10.1016/j.ymgme.2009.07.009.
- [18] Nakayama M, Távora DG, Alvim TC, Araújo AC, Gama RL. MRI and 1H-MRS findings of three patients with Sjögren-Larsson syndrome. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006 Jun;64(2B):398-401. doi: 10.1590/s0004-282x2006000300009.
- [19] Sylvester PE. Pathological findings in Sjögren-Larsson syndrome. *J Ment Defic Res*. 1969 Dec;13(4):267-75. doi: 10.1111/j.1365-2788.1969.tb01091.x.
- [20] Silva CA, Saraiva A, Gonçalves V, de Sousa G, Martins R, Cruz C. Pathological findings in one of two siblings with Sjögren-Larsson Syndrome. *Eur Neurol*. 1980;19(3):166-70. doi: 10.1159/000115142.

- [21] Wester P, Bergström U, Brun A, Jagell S, Karlsson B, Eriksson A. Monoaminergic dysfunction in Sjögren-Larsson syndrome. *Mol Chem Neuropathol*. 1991 Aug;15(1):13-28. doi: 10.1007/BF03161053.
- [22] Yamaguchi K, Handa T. Sjögren-Larsson syndrome: postmortem brain abnormalities. *Pediatr Neurol*. 1998 Apr;18(4):338-41. doi: 10.1016/s0887-8994(97)00192-6.
- [23] McLennan JE, Gilles FH, Robb RM. Neuropathological correlation in Sjögren-Larsson syndrome. Oligophrenia, ichthyosis and spasticity. *Brain*. 1974 Dec;97(4):693-708. doi: 10.1093/brain/97.1.693.
- [24] Jagell S. SLS or not SLS. Sjögren-Larsson syndrome. *Pediatr Neurol*. 1998 Nov;19(5):399.
- [25] Jagell S, Gustavson KH, Holmgren G. Sjögren-Larsson syndrome in Sweden. A clinical, genetic and epidemiological study. *Clin Genet*. 1981 Apr;19(4):233-56. doi: 10.1111/j.1399-0004.1981.tb00704.x.
- [26] Staps P, Rizzo WB, Vaz FM, Bugiani M, Giera M, Heijs B, van Kampen AHC, Pras-Raves ML, Breur M, Groen A, Ferdinandusse S, van der Graaf M, Van Goethem G, Lammens M, Wevers RA, Willemsen MAAP. Disturbed brain ether lipid metabolism and histology in Sjögren-Larsson syndrome. *J Inherit Metab Dis*. 2020 Nov;43(6):1265-1278. doi: 10.1002/jimd.12275.
- [27] Raeder MTL, Reis EP, Campos BM, Zamilute IAG, França Júnior MC, Reis F. Transaxonal degenerations of cerebellar connections: the value of anatomical knowledge. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* [online]. 2020, v. 78, n. 05 [Accessed 3 October 2022] , pp. 301-306. doi.org/10.1590/0004-282X20200021
- [28] Sommer MA. The role of the thalamus in motor control. *Curr Opin Neurobiol*. 2003 Dec;13(6):663-70. doi: 10.1016/j.conb.2003.10.014.
- [29] Dadar M, Potvin O, Camicioli R, Duchesne S; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Beware of white matter hyperintensities causing systematic errors in FreeSurfer gray matter segmentations! *Hum Brain Mapp*. 2021 Jun 15;42(9):2734-2745. doi: 10.1002/hbm.25398.
- [30] Postal M, Lapa AT, Reis F, Rittner L, Appenzeller S. Magnetic resonance imaging in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: current state of the art and novel approaches. *Lupus*. 2017 Apr;26(5):517-521. doi: 10.1177/0961203317691373.

8.2 Autorização para uso de artigo publicado

Autorização para uso do artigo “*Neurological manifestations in thrombotic microangiopathy: imaging features, risk factors and clinical course*” na presente tese.



José Thiago de Souza de Castro <jthiago@unicamp.br>

Re: Authorization to use the article.

1 mensagem

plosone <plosone@plos.org>

19 de abril de 2024 às 15:24

Para: "jthiago@unicamp.br" <jthiago@unicamp.br>

Dear Dr. de Castro,

Thank you for your message. PLOS ONE publishes all of the content in the articles under an open access license called "CC-BY." This license allows you to download, reuse, reprint, modify, distribute, and/or copy articles or images in PLOS journals, so long as the original creators are credited (e.g., including the article's citation and/or the image credit). Additional permissions are not required. You can read about our open access license here:

<http://journals.plos.org/plosone/s/licenses-and-copyright>

There are many ways to access our content, including HTML, XML, and PDF versions of each article. Higher resolution versions of figures can be downloaded directly from the article.

Thank you for your interest in PLOS ONE and for your continued support of the Open Access model. Please do not hesitate to be in touch with any additional questions.

Kind regards,
Agatha

Agatha Macaraig
Straive Editorial Assistant

PLOS ONE | plosone@plos.org

Empowering researchers to transform science

Case Number: 08469922
ref:100DU00lfis.1500PM0CelKf:ref

----- Original Message -----

From: José Thiago de Souza de Castro [jthiago@unicamp.br]

Sent: 4/19/2024, 1:34 AM

To: plosone@plos.org

Subject: Authorization to use the article.

[CAUTION: External email.
Proceed with Caution.]

[CAUTION: External email.
Proceed with Caution.]

8.3 Autorização do Comitê de Ética e Pesquisa



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC) NA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA: AVALIAÇÃO DAS LESÕES CEREBRAIS ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA MULTIMODAL

Pesquisador: José Thiago de Souza de Castro

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 02465018.3.0000.5404

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da UNICAMP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.113.188

Apresentação do Projeto:

INTRODUÇÃO:

A PTT foi descrita pela primeira vez por Moschcowitz em 1924, que relatou uma menina de 16 anos de idade internada em um hospital na cidade de Nova York por causa de febre aguda, anemia grave, insuficiência cardíaca, e acidente vascular cerebral. Infelizmente a paciente foi a óbito dentro de duas semanas. Uma necropsia limitada mostrou trombos hialinos extensos em arteríolas terminais e capilares do coração e rins. Em uma revisão de 271 casos, Amorosi & Ultmann, em 1966, estabeleceram um padrão diagnóstico para PTT: trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática, sintomas e sinais neurológicos, vários graus de anormalidades funcionais renais e febre sem outra explicação. Nos anos 70, a infusão de plasma e a troca de plasma mostraram-se tratamentos eficazes e desde então os critérios diagnósticos evoluíram para serem menos rigorosos. Atualmente, a terapia de troca de plasma é iniciada o mais rápido possível porque a mortalidade dos pacientes com PTT não tratados pode chegar a 85% a 100%, enquanto a troca de plasma reduziu a mortalidade para entre 10% e 30%. A PTT pode ser classificada em pelo menos três formas distintas: PTT congênita (também denominada síndrome de Upshaw-Schulman), PTT idiopática e PTT não idiopática⁶. Pacientes com PTT congênita têm deficiência severa de ADAMTS13, uma metaloprotease plasmática que cliva o fator von Willebrand (VWF). A PTT idiopática é geralmente causada por deficiência adquirida da mesma metaloprotease devido a

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

autoanticorpos que inibem a atividade da ADAMTS13 ou induzem sua depuração da circulação. A PTT não idiopática está associada a condições ou comorbidades, incluindo o transplante de células progenitoras hematopoiéticas, certas drogas, malignidade e gravidez. Estas várias condições podem diretamente prejudicar as células endoteliais, resultando na deposição de plaquetas e fibrina e na formação de trombos microvasculares. Investigações adicionais dos mecanismos moleculares que causam a PTT não idiopática podem eventualmente fornecer alguma orientação para o diagnóstico, classificação e tratamento deste grupo heterogêneo de pacientes. Nos Estados Unidos, muitos novos casos de PTT idiopática são diagnosticados anualmente, com uma incidência estimada de 3 a 10 por milhão de habitantes por ano. A incidência de PTT não-idiopática parece ser muito maior, mas difícil de determinar com precisão. Por exemplo, aproximadamente 5% dos pacientes com malignidade disseminada são relatados como portadores de PTT. A infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) pode estar associada à PTT. Mulheres que estão grávidas ou em o período pós-parto compõe 12% a 31% dos pacientes com PTT em algumas séries. A disfunção de órgãos-alvo na PTT é devido a distúrbios microangiopáticos. Danos nas células endoteliais dentro da parede do vaso sanguíneo aceleram formação de microtrombos ricos em plaquetas que causam microinfartos no tecido afetado e consequente manifestações neurológicas. A RM do cérebro revelada múltiplas regiões de difusão restrita em ambas os hemisférios, com necrose laminar cortical e micro hemorragias na maioria das lesões; sugestivo de infartos hemorrágicos. Padrões de imagem em PTT incluem hemorragias, infartos isquêmicos, e encefalopatia posterior reversível. Infartos hemorrágicos multifocais por PT são muito raros. Na PTT, as lesões cerebrais prevalecem, em relação a outros locais. Os sintomas neurológicos estão presentes em 60% dos pacientes com Púrpura Trombocitopênica Trombótica (PTT) no exame clínico inicial e, em última instância, se desenvolvem em cerca de 90% dos casos durante o curso da doença. Apesar do envolvimento do SNC ser freqüente, anormalidades no cérebro de pacientes com PTT são pouco descritos na avaliação de imagens de Tomografia Computadorizada (TC) e Ressonância Magnética (RM). O envolvimento neurológico é um componente importante da PTT. Complicações neurológicas na PTT são atribuídas a uma variedade de causas vasculares que podem afetar o cérebro, como lesão endotelial, formação de trombos, hemorragia e encefalopatia hipertensiva. Estudos de neuroimagens, com RM e correlações neurofisiológicas da disfunção neurológica na PTT são escassos na, consistindo principalmente em relatos de casos ou pequenas séries de pacientes. Um estudo de TC revelou lesões cerebrais vasculares, como AVC isquêmico ou hemorragias, em 10/20 pacientes com PTT. A análise por RM revelou uma variedade de lesões cerebrais em 9/12 pacientes (75%) durante a fase aguda da PTT, enquanto outra série mostrou

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

achados normais em todos os pacientes com PTT durante a remissão da doença²⁸. Dentre as lesões cerebrais encontradas com auxílio da RM estão a encefalopatia posterior reversível, no qual há um predomínio de lesões parietooccipitais bilaterais, que podem ou não ter restrição à difusão, que podem ou não evoluir sem deixar sequelas. Outros autores sugerem que a tomografia por emissão de fóton único²⁸ pode mostrar lesões que seriam indetectáveis por avaliações de TC ou RM. Dos estudos citados na literatura sobre a doença, nenhum realizou estudo volumétrico ou DTI. Assim, se considerarmos que a volumetria pode caracterizar redução volumétrica de determinadas estruturas cerebrais, de modo confiável, caracterizando comprometimento definitivo da doença e o DTI pode caracterizar alterações microestruturais (como desmielinização, remielinização, dano axonal) do tecido cerebral "aparentemente normal" nas sequências convencionais, o presente estudo tem potencial de contribuir para o entendimento de condições anatômicas e fisiopatológicas relacionadas à patologia. O objetivo do nosso estudo é avaliar as complicações neurológicas que os pacientes com PTT, com auxílio da RM, tanto através das sequências convencionais (T2, FLAIR) quanto com sequências de volumetria cerebral (nestas, pode-se detectar eventuais reduções volumétricas de estruturas cerebrais). Sequências de DTI também serão realizadas, e, nestas, poder-se-á detectar eventual dano microscópico em tecido cerebral aparentemente normal pelas sequências de ressonância magnética.

HIPÓTESE:

Pacientes com PTT tem lesões no sistema nervoso central que podem ser demonstradas através da RM que é o método de imagem mais sensível para diagnóstico de lesões nessa região.

METODOLOGIA:

Pacientes com PTT acompanhados no ambulatório do Hemocentro serão submetidos a RM do crânio sem contraste. Após isso as imagens serão analisadas e comparadas com grupo controle. Os exames de RM serão realizados no mesmo dia da consulta para não gerar custos adicionais aos pacientes participantes.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

Pacientes já diagnosticados com PTT, acompanhados no Hemocentro da UNICAMP e com idade igual ou maior a 18 anos.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

Serão excluídos todos os pacientes que possuem contraindicação a RM (clipes de aneurismas, marcapassos, entre outros) à realização ou que não puderam completar o exame de ressonância magnética.

Objetivo da Pesquisa:

- 1 - Avaliar lesões no SNC como hemorragias, redução volumétrica, e alterações no DTI.
- 2 - Avaliar outras complicações no SNC associadas a PTT.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com informações do pesquisador, temos:

Riscos:

O paciente que possui alguma contra indicação, omitir essa informação para poder participar do estudo, e isso pode colocá-lo em risco.

Benefícios:

O estudo pode trazer benefícios de uma forma geral aos pacientes que possuem o diagnóstico de PTT, que é uma doença que pode afetar homens e mulheres, crianças e adultos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O presente protocolo de pesquisa denominado "ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC) NA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA: AVALIAÇÃO DAS LESÕES CEREBRAIS ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA MULTIMODAL", trata-se de um projeto de pós graduação, que tem como pesquisador principal Thiago Castro orientado pelo Prof. Dr. Fabiano Reis. Ainda fazem parte da equipe de pesquisa as Profas. Dras. Simone Appenzeller, Leticia Rittner e Fernanda Orsi. A instituição proponente é o HC/Unicamp. Serão estudados no Ambulatório do Hemocentro/Unicamp, 15 participantes da pesquisa que atendam aos critérios de inclusão e exclusão do estudo. O orçamento estimado é de R\$ 5.310,00(cinco mil, trezentos e dez reais)com financiamento próprio; o cronograma apresentado encerra os trabalhos em Dez/2010.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- 1 - Folha de Rosto Para Pesquisa Envolvendo Seres Humanos: Apresentado e Adequado
- 2 - Projeto de Pesquisa: Apresentado e Adequado
- 3 - PB Informações Básicas do Projeto: Apresentado e Adequado
- 4 - Orçamento financeiro e fontes de financiamento: Apresentado e Adequado

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

5 - Cronograma: Apresentado e Adequado

6 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido: Apresentado e Adequado

7 - Documentos necessários para armazenamento de material biológico humano em biorrepositório conforme a Resolução CNS 441/11: Não se aplica.

8 - Outros documentos :

8.1- Comprovante de vínculo com a instituição onde será executada a pesquisa: Apresentado e adequado

Recomendações:

Recomendação atendida.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Pendência atendida.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012, item XI.2 letra e, "cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento".

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1248585.pdf	06/01/2019 22:24:40		Aceito
Declaração de Pesquisadores	CARTA_RESPOSTA_CEP.pdf	06/01/2019 22:24:02	José Thiago de Souza de Castro	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_POS_PARECER_V2.pdf	06/01/2019 22:23:45	José Thiago de Souza de Castro	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_pos_parecer.pdf	29/12/2018 10:10:35	José Thiago de Souza de Castro	Aceito
Outros	Atestado_matricula_DGRH.pdf	05/11/2018 22:18:15	Thiago Castro	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Thiago_CEP.pdf	31/10/2018 12:24:14	Thiago Castro	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br



Continuação do Parecer: 3.113.188

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPINAS, 15 de Janeiro de 2019

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

8.4 Termo Livre e Esclarecido utilizado na pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ENVOLVIMENTO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC) NA PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA: AVALIAÇÃO DAS LESÕES CEREBRAIS ATRAVÉS DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA MULTIMODAL

Nome do(s) responsável(is): José Thiago de Souza de Castro

Número do CAAE: (inserir após aprovação pelo CEP)

Você está sendo convidado a participar como voluntário de uma pesquisa. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, visa assegurar seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador.

Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se preferir, pode levar este Termo para casa e consultar seus familiares ou outras pessoas antes de decidir participar. Não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo se você não aceitar participar ou retirar sua autorização em qualquer momento.

Justificativa e objetivos:

Eu _____ entendo que fui convidado (a) a participar de um projeto de pesquisa envolvendo pacientes com Púrpura Trombocitopênica Trombótica. O objetivo geral do estudo é o de **realizar o exame de ressonância magnética do crânio sem contraste para estudar os “lugares” do cérebro que podem estar afetados nas pessoas que apresentam Púrpura Trombocitopênica Trombótica**. Como este estudo ainda não foi realizado extensivamente, a sua realização pode eventualmente melhorar o diagnóstico precoce de outros pacientes portadores desta doença, ou seja, esta pesquisa pode ajudar outras pessoas que têm um problema parecido com o meu.

Procedimentos:

Participando do estudo você está sendo convidado a:

- Realizar exame de ressonância magnética de crânio uma única vez sem a injeção do contraste;
- Responder a um questionário uma única vez com antecedentes médicos pessoais e de sua família, com duração de aproximadamente 15 minutos;

Observações:

- O tempo total da realização do exame de ressonância magnética é estimado em aproximadamente 40 a 60 minutos.
- O exame de ressonância magnética e questionário serão agendados no mesmo dia de consulta no ambulatório do Hemocentro da UNICAMP.

Desconfortos e riscos:

Você **não** deve participar deste estudo se possuir marca-passo ou algum tipo de clipe aneurismático, ou for extremamente claustrofóbico.

Durante o exame de ressonância magnética o equipamento faz bastante barulho, mas para isso oferecemos protetor auricular que abafa o barulho da máquina.

Caso você tenha qualquer desconforto durante o exame, seja por causa da duração do exame, barulho, por estar em local fechado, ou por não poder mexer a cabeça durante o exame,

Rubrica do pesquisador: _____ Rubrica do participante: _____

poderá chamar a equipe de médicos e paramédicos que o acompanha através de câmara de vídeo durante todo o exame, que será prontamente atendido. Sua segurança é nossa prioridade.

Benefícios:

Eu entendo que não obterei nenhuma vantagem direta com a minha participação nesse estudo e que o meu diagnóstico e o meu tratamento provavelmente não serão modificados. Contudo, os resultados desse estudo podem, a longo prazo, oferecer vantagens para os indivíduos portadores da Púrpura Trombocitopênica Trombótica, possibilitando um melhor diagnóstico e um tratamento mais adequado.

Acompanhamento e assistência:

O seu exame de ressonância magnética de crânio será analisado por um médico radiologista experiente. E caso após a essa análise seja identificada alguma lesão comunicaremos o mais breve possível seu médico que o acompanha no ambulatório do Hemocentro da UNICAMP para que ele possa tomar as medidas e intervenções necessárias.

Sigilo e privacidade:

Você tem a garantia de que sua identidade será mantida em sigilo e nenhuma informação será dada a outras pessoas que não façam parte da equipe de pesquisadores. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

O exame e o resultado da ressonância magnética farão parte de seu prontuário e ficarão disponíveis para consulta a qualquer momento.

Ressarcimento e Indenização:

O exame de ressonância magnética será realizado no mesmo dia da consulta no Hemocentro da UNICAMP, para não gerar custo extra.

Não vai haver nenhuma forma de reembolso de dinheiro, já que com a participação na pesquisa não terei nenhum gasto extra, e, o estudo de ressonância magnética, é útil em pacientes com púrpura trombocitopênica trombótica.

Se por algum motivo ou eventualidade o exame clínico e/ou a ressonância magnética tiverem que ser realizadas fora do horário ou dia previsto da rotina de atendimento do Hospital das Clínicas da UNICAMP, haverá ressarcimento do transporte e alimentação.

Você terá a garantia ao direito a indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

Utilização de informações em pesquisas futuras:

() Concordo em participar do presente estudo, porém **NÃO AUTORIZO** o armazenamento dos meus dados em banco, devendo o mesmo ser descartado ao final desta pesquisa.

() Concordo em participar do presente estudo e **AUTORIZO** o armazenamento dos meus dados, sendo necessário meu consentimento a cada nova pesquisa, que deverá ser aprovada pelo CEP institucional e, se for o caso, pela CONEP.

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

Contato:

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com os pesquisadores: José Thiago de Souza de Castro. Endereço: Departamento de Radiologia. Hospital de Clínicas da UNICAMP, Rua Vital Brasil, 251 - Cidade Universitária "Zeferino Vaz" | Campinas - SP - Brasil - CEP 13083-888 - 55 19 3521-7345, e-mail: jthiagoc@hc.unicamp.br

Em caso de denúncias ou reclamações sobre sua participação e sobre questões éticas do estudo, você poderá entrar em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da UNICAMP das 08:30hs às 11:30hs e das 13:00hs às 17:00hs na Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126; CEP 13083-887 Campinas – SP; telefone (19) 3521-8936 ou (19) 3521-7187; e-mail: cep@fcm.unicamp.br.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

O papel do CEP é avaliar e acompanhar os aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), tem por objetivo desenvolver a regulamentação sobre proteção dos seres humanos envolvidos nas pesquisas. Desempenha um papel coordenador da rede de Comitês de Ética em Pesquisa (CEPs) das instituições, além de assumir a função de órgão consultor na área de ética em pesquisas

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter recebido esclarecimentos sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios previstos, potenciais riscos e o incômodo que esta possa acarretar, aceito participar:

Nome do(a) participante: _____

_____ Data: ____/____/____.
(Assinatura do participante ou nome e assinatura do seu RESPONSÁVEL LEGAL)

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma via deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

_____ Data: ____/____/____.
(Assinatura do pesquisador)

Rubrica do pesquisador: _____

Rubrica do participante: _____

8.5 Comprovante de submissão do artigo

Comprovante de submissão do artigo “*Brain Volumetric Reductions In Patients With Thrombotic Thrombocytopenic Purpura*”.



José Thiago de Souza de Castro <jthiago@unicamp.br>

Submission to Journal of Neuroradiology - manuscript number

Journal of Neuroradiology <em@editorialmanager.com>

8 de maio de 2024 às 09:43

Responder a: Journal of Neuroradiology <neurad@elsevier.com>

Para: José Thiago de Souza de Castro <jthiago@unicamp.br>

This is an automated message.

Manuscript Number: **NEURAD-D-24-00131**

Brain volumetric reductions in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura

Dear Mr. Castro,

Your above referenced submission has been assigned a manuscript number: **NEURAD-D-24-00131**.

To track the status of your manuscript, please log in as an author at <https://www.editorialmanager.com/neurad/>, and navigate to the "Submissions Being Processed" folder.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,
Journal of Neuroradiology

FAQ: How can I reset a forgotten password?

https://service.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/28452/supporthub/publishing/

For further assistance, please visit our customer service site: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/publishing/>

Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about Editorial Manager via interactive tutorials. You can also talk 24/7 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Remove my information/details). Please contact the publication office if you have any questions.

8.6 Comprovante de participação em congresso

Comprovante de apresentação de parte dos resultados do doutorado na Jornada Paulista de Radiologia - JPR 2024, que é o congresso mais importante de radiologia da América Latina. O trabalho foi apresentado como tema livre de forma oral, para uma banca de 3 neurorradiologistas experientes, que após a apresentação fizeram perguntas. A apresentação foi transmitida através do SPR TV.



8.7 Certificado de honra ao mérito

O trabalho apresentado durante a Jornada Paulista de Radiologia - JPR 2024 - foi condecorado com Certificado de Mérito.



8.8 Comprovante de apresentação de pôster

Comprovante de apresentação de pôster no ISTH 2020 - Virtual Congress - Itália.



Poster Presentation Certificate

This is to certify that

José Thiago de Souza Castro

Presented the following abstract(s) at the ISTH 2020 Virtual Congress

July 12 – 14, 2020

PB1878: "Risk Factors Associated with Severe Neurological Symptoms in Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP)"

Authors: J.T.S. Castro, B.D.M. Mazetto, A.P. Rosa, G. Yamagutti, E.V. Paulo, J.A. Bizachi, F. Reis, F.A. Orsi

PB1885: "Association of Plasmic Score with Neurological Symptoms in Patients with Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP)"

Authors: J.T.d.S. Castro, B.D.M. Mazetto, A.P. Rosa, G. Yamagutti, M. Colella, E.V. Paulo, J.A. Bizachi, F. Reis, F.A. Orsi

8.9 Comprovante de apresentação de pôster em visita guiada

Comprovante de apresentação de pôster na categoria “visita guiada”, durante o Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, em 2019, no Rio de Janeiro.

Ribeirão Preto, 25 de setembro de 2019.

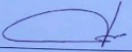
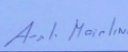
DECLARAÇÃO

Declaramos que o trabalho intitulado abaixo foi selecionado para **apresentação em Painel com Visita Guiada** no **Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – HEMO 2019**, a ser realizado no período de 6 a 9 de novembro de 2019 no Rio de Janeiro/RJ.

- **Título:** Association of PLASMIC score with neurological symptoms in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura
- **Autores:** Castro JTS, Rittner L, Appenzeller S, Yamaguti-Hayakawa G, Colella M, Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM, Reis F, Orsi FLA
- **Data e horário da exposição do painel:** 08/11/2019 (sexta-feira) das 08:30 - 18:00
- **Horário da visita guiada com os debatedores:** Das 10:15 - 11:15
- **Número do painel:** 413

Renata Medina Lima

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA, HEMOTERAPIA E TERAPIA CELULAR
Rua Tenente Catão Roxo, 2501 – Campus USP
14051-140 – Ribeirão Preto – SP - Brasil
CNPJ: 11.422.382/0002-49
Inscrição Estadual – Isenta

 CONGRESSO BRASILEIRO de HEMATOLOGIA, HEMOTERAPIA e TERAPIA CELULAR 6 a 9 de novembro de 2019 - Rio de Janeiro/RJ/Brasil	CERTIFICADO 2019
Certificamos que o trabalho intitulado “Association of PLASMIC score with neurological symptoms in patients with thrombotic thrombocytopenic purpura” de autoria de “Castro JTS, Rittner L, Appenzeller S, Yamaguti-Hayakawa G, Colella M, Paula EV, Annichino-Bizzacchi JM, Reis F, Orsi FLA” foi apresentado no Congresso Brasileiro de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular – HEMO 2019, realizado no período de 6 a 9 de novembro de 2019 no Rio de Janeiro/RJ, na categoria painel com visita guiada (Painel 413).	
Rio de Janeiro, 09 de novembro de 2019.	
 Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular	 Dante Langhi Jr. Presidente da ABHH  Angelo Maiolino Presidente do HEMO 2019

8.10 Autorização para uso de artigo

Autorização para que o artigo a seguir seja utilizado na presente tese de doutorado: “*Sjogren-Larsson Syndrome Brain Volumetric Reductions*”.



José Thiago de Souza de Castro <jthiago@unicamp.br>

Arquivos de Neuro-Psiquiatria - Manuscript ID ANP-2022-0267.R1

Revista ABN <revista.arquivos@abneuro.org.br>
Para: jthiago@unicamp.br

20 de maio de 2024 às 08:40

Prezado Dr José Thiago de Souza de Castro, bom dia!

O Editores Chefes de Arquivos de Neuro-Psiquiatria, autorizam a inclusão do manuscrito: *Castro JTS, Saab CL, Souto MPA, et al. Sjogren-Larsson syndrome brain volumetric reductions demonstrated with an automated software. Arq. Neuropsiquiatr. 2023;81(9):809-815. DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-1772601>, em sua Tese de Doutorado.*

Atenciosamente,



Ayrton Massaro and Hélio A. Ghizoni Teive

Editors-in-Chief

revista.arquivos@abneuro.org.br

Rua Vergueiro, 1353, sl. 1404, 14º andar

arquivosdeneuropsiquiatria.org



@ArqNeuroPsiq



@arqneuropsiq

[Texto das mensagens anteriores oculto]

--



Denise Ieiri de Moraes

Assistente Editorial

+55 11 5084-9463 - Ramal 3

denise@abneuro.org.br

Rua Vergueiro, 1353, sl. 1404, 14º andar

abneuro.org.br