



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Natália de Castro Fim Nakao

**ESTUDOS NEUROFISIOLÓGICOS E DE IMAGEM NA
CIRROSE HEPÁTICA**

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em Fisiopatologia
em Clínica Médica.**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Coorientadores: Prof. Dr. Fernando Gomes Romeiro

Prof. Dr. Luiz Antônio de Lima Resende

Botucatu

2021

Natália de Castro Fim Nakao

**ESTUDOS NEUROFISIOLÓGICOS E DE IMAGEM NA
CIRROSE HEPÁTICA**

**Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutora em Fisiopatologia
em Clínica Médica.**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Coorientadores: Prof. Dr. Fernando Gomes Romeiro

Prof. Dr. Luiz Antônio de Lima Resende

Botucatu

2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Nakao, Natália de Castro Fim.

Estudos neurofisiológicos e de imagem na cirrose
hepática / Natália de Castro Fim Nakao. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting

Coorientador: Fernando Gomes Romeiro

Coorientador: Luiz Antônio de Lima Resende

Capes: 40101070

1. Fígado - Cirrose. 2. Neuroimagem. 3. Ressonância
magnética. 4. Neurofisiologia.

Palavras-chave: Cirrose hepática; Neurofisiologia;
Neuroimagem; Reflexo trigêminofacial; Ressonância
magnética.

Dedicatória

À minha amada família, base de tudo,
e ao meu querido esposo, grande companheiro e incentivador.

Agradecimentos

A Deus, acima de tudo.

Aos professores, em especial meu orientador e coorientadores, por todos os ensinamentos aprendidos.

Aos colegas de profissão e amigos, por todo o apoio.

Aos demais profissionais, pela colaboração.

Aos pacientes, pela confiança.

A essa Universidade que faz parte da minha história.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - processo 2016/17914-3 - e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio científico.

“O pouco que sei não dá para compreender a vida, então a explicação está no que desconheço e que tenho a esperança de poder vir a conhecer um pouco mais.”

Clarice Lispector

Conteúdo

Resumo	08
<i>Abstract</i>	10
Lista de abreviaturas	12
Lista de figuras	13
Lista de tabelas	14
 I- Introdução	 15
I.1- Cirrose e encefalopatia hepática	15
I.2- Estudos neurofisiológicos	16
I.2.a- Eletroencefalograma	17
I.2.b- Potenciais evocados	17
I.2.c- Reflexo trigêminofacial	17
I.3- Ressonância magnética	19
II- Justificativa	22
III- Hipóteses	23
IV- Objetivos.	24
V- Métodos	25
V.1- Sujeitos.	25
V.2- RTF	28
V.3- EEG	29
V.4- Ressonância magnética	30
V.5- Análise dos resultados / Estatística.	33
VI- Resultados	34
VII- Discussão	45
VIII- Conclusão	49
IX- Referências	50
 Anexo 1 – RTF de cada paciente	 57
Anexo 2 – Parecer Comitê de Ética	78
Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido	83

Resumo

Introdução: Alterações de nível de consciência podem estar presentes nas hepatopatias, desde sintomas mínimos até quadros de encefalopatia hepática propriamente dita. Sabe-se da relevância e dificuldade para o diagnóstico precoce desse comprometimento. Eletroencefalograma é avaliação neurofisiológica mais utilizada nos casos de encefalopatia hepática, porém não se espera alterações em pacientes sem manifestações clínicas evidentes. Reflexo trigêminofacial ou *blink reflex* é outro método neurofisiológico, quantitativo e acessível, que pode avaliar neurônios do tronco encefálico e suas vias. Foram evidenciadas alterações nesse exame em disfunções do sistema nervoso central secundárias a outras etiologias metabólicas, porém não encontrados estudos nas encefalopatias hepáticas. Exames de imagem como ressonância magnética estrutural quantitativa e funcional estão sendo estudados nesses pacientes, podendo estar alterados mesmo nos quadros de encefalopatia hepática mínima, porém são menos disponíveis. **Objetivos:** Estudar e buscar correlacionar achados do reflexo trigêminofacial com ressonância magnética estrutural quantitativa e funcional em pacientes com cirrose hepática sem encefalopatia clinicamente expressa. **Métodos:** Avaliados pacientes com cirrose hepática sem diagnóstico clínico de encefalopatia atual, provenientes dos Ambulatórios de Hepatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu. Submetidos inicialmente a exames de eletroneurografia e *blink reflex*. Em segundo momento, repetido reflexo trigêminofacial, além de realizados exames de ressonâncias magnéticas estrutural quantitativa (morfometria baseada em voxel – VBM) e funcional (análise das redes neurais de repouso) e eletroencefalograma no mesmo dia. Feitas comparações entre pacientes e controles quanto aos parâmetros de neuroimagem e, após, pesquisadas correlações entre os resultados do *blink reflex* e da neuroimagem no grupo de pacientes. Análise estatística feita por meio de modelo linear geral, com $p < 0.05$ corrigido para múltiplas comparações. **Resultados:** Foram estudados 21 pacientes, tendo a maioria cirrose hepática por infecção pelo vírus da hepatite C e classificação Child Pugh A. Grupo controle de 21 pacientes também. Eletroneurografia não evidenciou alterações que pudessem enviesar a interpretação do *blink reflex*. Latências dos reflexos trigêminofaciais estavam alteradas em 28% dos exames dos pacientes, sobretudo quanto as

respostas R2. Verificada redução do volume encefálico em diversas regiões de substância cinzenta e branca nos pacientes, além de alterações nas redes neurais de repouso (sobretudo redução da conectividade cerebral quando avaliadas redes de modo padrão e de saliência). Houve ainda correlação inversa entre resultados do *blink reflex* e ressonância magnética, sendo que quanto maiores as latências, menor a quantidade de tecido cerebral e funcionamento das redes neurais no grupo de pacientes. Eletroencefalograma realizado no mesmo dia não mostrou alterações. A variabilidade dos valores de *blink reflex* entre os dois momentos do exame foi considerada baixa. Metade dos pacientes com reflexos trigêminofaciais alterados já haviam apresentado encefalopatia hepática previamente e um outro teve diagnóstico clínico 3 meses após. **Conclusão:** Reflexo trigêminofacial poderia ser considerado método complementar no estudo de pacientes com cirrose hepática, mesmo sem sinais clínicos evidentes de encefalopatia hepática.

Palavras-chave: neurofisiologia, neuroimagem, cirrose hepática, reflexo trigêminofacial, ressonância magnética

Abstract

Introduction: Changes in level of consciousness may be present in liver diseases, from minimal symptoms to overt hepatic encephalopathy. The relevance and difficulty for early diagnosis of this impairment is known. Electroencephalogram is the most used neurophysiological evaluation in cases of hepatic encephalopathy, however, changes are not expected in patients without evident clinical manifestations. Trigeminal facial reflex or blink reflex is another neurophysiological, quantitative and accessible method that can assess brainstem neurons and their pathways. Alterations in this exam were evidenced in central nervous system dysfunctions secondary to other metabolic etiologies, however, no studies were found in hepatic encephalopathy. Imaging tests such as quantitative structural and functional magnetic resonance imaging are being studied in these patients and may be altered even in minimal hepatic encephalopathy, but they are less available.

Objectives: To study and seek to correlate findings of the blink reflex with quantitative structural and functional magnetic resonance imaging in patients with hepatic cirrhosis without clinically expressed encephalopathy. **Methods:** Patients with hepatic cirrhosis without a clinical diagnosis of current encephalopathy, from the Hepatology Clinics of Botucatu Medical School Clinical Hospital, were evaluated. They were initially submitted to electroneurography and blink reflex exams, and secondly, to repeated trigeminal facial reflex, in addition to structural quantitative (voxel-based morphometry – VBM) and functional magnetic resonance imaging (resting neural network analysis) and electroencephalogram on the same day. Comparisons were made between patients and controls regarding neuroimaging parameters and afterwards correlations were investigated between the results of the blink reflex and neuroimaging in the group of patients. Statistical analysis was performed using a general linear model, with $p < 0.05$ corrected for multiple comparisons. **Results:** Twenty-one patients were studied, the majority having hepatic cirrhosis due to hepatitis C virus infection and Child Pugh A classification. A control group of 21 patients was studied as well. Electroneurography did not show alterations that could bias the interpretation of the blink reflex. Trigeminal facial reflex latencies were altered in 28% of the patients' exams, especially regarding the R2 responses. A reduction in brain volume was found in different regions of gray and

white matter in patients, in addition to alterations in resting neural networks (especially a reduction in brain connectivity when evaluating default mode and salience networks). There was also an inverse correlation between the results of the blink reflex and neuroimaging, so the higher the latencies, the smaller the amount of brain tissue and functioning of neural networks in the group of patients. Electroencephalogram performed on the same day showed no changes. The variability of the blink reflex values between the two moments of the exam was considered low. Half of the patients with altered trigeminal facial reflexes had previously presented hepatic encephalopathy and another had a clinical diagnosis 3 months later. **Conclusion:** Trigeminal facial reflex could be considered a complementary method in the study of patients with liver cirrhosis, even without evident clinical signs of hepatic encephalopathy.

Keywords: neurophysiology, neuroimaging, hepatic cirrhosis, blink reflex, magnetic resonance

Lista de Abreviaturas

cirrose hepática	CH
encefalopatia hepática	EH
substância reticular ativadora ascendente	SRAA
reflexo trigêminofacial	RTF
eletroencefalograma	EEG
potenciais evocados	PE
ressonância magnética	RM
eletroneurografia	ENG

Lista de Figuras

Figura 1 - Anatomia do <i>blink reflex</i> e <i>blink reflex</i> normal . . .	18
Figura 2 - <i>Blink reflex</i> em paciente com encefalite herpética . . .	19
Figura 3 – Algumas redes estudadas na RM funcional . . .	20
Figura 4 – Fluxograma da seleção de pacientes . . .	26
Figura 5 – Exemplo de condução nervosa sensitiva do nervo mediano .	28
Figura 6 – Exemplo de condução nervosa motora do nervo mediano .	28
Figura 7 – Exemplo de RTF	29
Figura 8 – Processamento de imagens de RM quantitativa . . .	32
Figura 9 – Resultados do RTF de dois pacientes com CH . . .	36
Figura 10 - Resultado da análise quantitativa da RM realizada por meio da morfometria baseada em voxel (VBM) comparando pacientes com CH e controles	38
Figura 11 – Resultado da análise quantitativa da RM realizada por meio da morfometria baseada em voxel (VBM) correlacionando as substâncias branca e cinzenta de pacientes com CH com os resultados do RTF . . .	39
Figura 12 – Análise de conectividade funcional de regiões de interesse (ROI) com todos os voxels. Avaliação das redes de repouso modo padrão (ROI no córtex cingulado posterior) e saliência (ROI no córtex cingulado anterior) em pacientes com CH. Comparação com controles e correlação com RTF . . .	42
Figura 13 – Conectoma demonstrando o resultado da análise de conectividade funcional em repouso avaliando a correlação entre 164 regiões de interesse (ROI) e R2c com estímulos à direita em pacientes com CH . . .	43
Figura 14 - Análise de conectividade funcional entre 32 regiões de interesse (ROI) relacionadas às principais redes de repouso, comparando pacientes com CH versus controles	44

Lista de Tabelas

Tabela 1: Pacientes conforme etiologia e classificação da CH	34
Tabela 2: Resultados da análise do RTF (latências, em ms) de pacientes com CH	37
Tabela 3: Resultados da morfometria baseada em voxels de 21 pacientes com CH e correlação com valores do RTF	40

I - Introdução

I.1 – Cirrose e encefalopatia hepática

O fígado desempenha papel fundamental no metabolismo humano e as doenças a ele relacionadas têm prevalência relativamente alta, com etiologias diversas, como alcoólica, infecciosa, obstrutiva, medicamentosa, vascular, auto-imune e metabólica (Wiegand & Berg, 2013).

O comprometimento da função hepática habitualmente leva a diferentes sinais e sintomas, como queda do estado geral, icterícia, ascite e comprometimento neurológico (Sherlock & Dooley, 2004).

A cirrose hepática (CH) pode acometer o cérebro de diversas maneiras, com descrições há milhares de anos, como a dos babilônios (cerca de 2000 a.C.). Hipócrates relatou paciente com hepatite que “dizia coisas que não podiam ser compreendidas” (Resende & Speciali, 1984).

Dentre as várias alterações neurológicas que podem ocorrer tem-se a encefalopatia hepática (EH), porém diversas outras devem ser pontuadas, como a degeneração hepatocerebral adquirida, com distúrbios do movimento, sem disfunção cognitiva significativa, relacionada a deposição de manganês nos núcleos da base (Romeiro et al., 2011). Falência hepática aguda gera edema cerebral e consequente hipertensão intracraniana (Vaquero & Butterworth, 2007). Pode ainda ocorrer comprometimento da medula espinal (Schwendimann & Minagar, 2017) e de nervos periféricos decorrente da CH (Kharbanda et al., 2003).

EH corresponde a comprometimento encefálico difuso decorrente da CH. É clinicamente caracterizada principalmente por alterações na atenção, concentração e memória. Ocorre em 30-45% dos pacientes com cirrose, embora casos com manifestações clínicas menos evidentes possam acometer mais da metade deste grupo (Romeiro & Augusti, 2015). A gravidade da encefalopatia é variável, indo desde quadros “subclínicos” até sonolência, torpor e coma (Posner & Plum, 2007). A evolução é flutuante e sua ocorrência tem relação com maior índice de mortalidade (Bustamante et al., 1999; Stewart et al., 2007).

É importante salientar a existência da chamada EH mínima, na qual os sintomas são menos evidentes em avaliações clínicas de rotina, porém ocorre

prejuízo funcional em determinadas atividades, com relatos de aumento da incidência de acidentes de trânsito nesse grupo de pacientes e comprometimento da qualidade de vida, por exemplo (Bajaj et al., 2009). É descrita como frequente nos pacientes com CH, podendo acometer 80% deles (Vilstrup et al., 2014). Tal disfunção decorre sobretudo de alterações na velocidade de processamento de informações, atenção, capacidade de execução de tarefas, habilidades motoras e coordenação (Zhan et al., 2019). Pode progredir para EH evidente ("cl clinicamente expressa") em mais de 50% dos pacientes durante um período de 30 meses (Gómez & Restrepo, 2016; Nardone et al., 2016; Stawicka et al., 2016).

A fisiopatologia da EH envolve falência da função hepática e drenagem direta da circulação portal e venosa intestinal para a sistêmica - shunts portossistêmicos (Wijdsicks, 2016; Elwir & Rahimi, 2017). Diversos fatores são considerados precipitantes, como desequilíbrio hidroeletrólítico, sangramento, medicações, infecção, constipação e dieta hiperproteica (Ferenci, 2017).

Níveis séricos de amônia estão elevados em cerca de 90% dos pacientes com EH porque o fígado é responsável pela conversão de amônia em uréia. Como a barreira hematoencefálica apresenta permeabilidade aumentada à amônia, ocorrem alterações nas membranas neurais, na inibição pós-sináptica e na neurotransmissão glutamatérgica, pois amônia também atua como cofator na conversão de glutamato a glutamina realizada no astrócito, culminando em depleção de glutamato e acúmulo de glutamina (Sherlock & Dooley, 2004; Vaquero & Butterworth, 2006). Também ocorrem alterações na neurotransmissão inibitória gabaérgica (Frederick, 2011).

A substância reticular ativadora ascendente (SRAA), predominantemente localizada no tronco encefálico, regula a consciência e participa na fisiopatologia da EH (Posner & Plum, 2007).

Microscopicamente, é possível observar alterações da glia nesses pacientes, caracterizadas pela proliferação de células com núcleos aumentados, nucléolos proeminentes, marginação da cromatina e acúmulo de glicogênio - astrocitose do tipo 2 de Alzheimer (Norenberg, 1987). Pode ocorrer também perda neuronal (Vaquero & Butterworth, 2007).

I.2- Estudos neurofisiológicos

I.2.a- Eletroencefalograma (EEG)

Frequências e amplitudes de ondas cerebrais estão relacionadas ao nível de consciência, com alentecimento difuso no EEG das encefalopatias em geral (Brenner, 1985). Tal comprometimento progride das regiões anteriores para posteriores (Posner & Plum, 2007). Na EH, esperam-se certos padrões, como a presença de ondas trifásicas (Brenner, 2005). Além de alterações já conhecidas no EEG de rotina, como o surto-supressão, o EEG quantitativo mostrou-se útil para prognóstico (Braga et al., 2013).

A utilização do EEG como método diagnóstico de EH mínima é, no entanto, controversa. Estudos evidenciam diferentes sensibilidades para esse uso, em geral insatisfatórias - de 8,5 a 50% de exames alterados em pacientes sem manifestações clínicas evidentes (Weissenborn, 2015).

I.2.b- Potenciais evocados (PE)

Respostas a estímulos específicos, visuais, auditivos e somatossensitivos, podem estar alteradas nas EH em geral, mesmo sem clínica evidente (Chu et al., 1997; Bragagnolo et al., 2009).

Estudos neurofisiológicos por EEG foram expandidos para inclusão de testes utilizando potenciais evocados. Os PEs são métodos não-invasivos que permitem mensurações mesmo com EEG marcadamente alterado, sem grandes influências de medicações sedativas (Guerit et al., 2009; Amodio & Montagnese, 2014).

Os potenciais evocados visuais na CH mostraram prolongamentos de latências em casos subclínicos, inclusive com EEG normal, mas tais alterações não foram constantes. Os potenciais evocados auditivos mostraram prolongamentos dos intervalos I-V e III-V, mesmo sem alterações clínicas evidentes. Os potenciais evocados somatossensoriais na CH mostraram prolongamentos de latências, sobretudo na condução central - após P22 (Chiappa, 1997; Amodio & Montagnese, 2014).

I.2.c – Reflexo trigêminofacial (RTF)

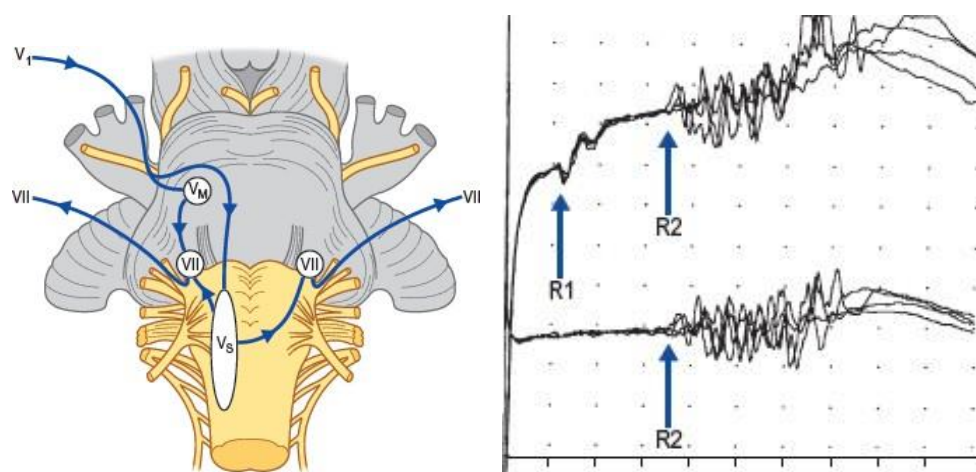
Trata-se do equivalente eletrofisiológico do reflexo córneo-palpebral.

Em 1952, Kugelberg realizou o primeiro estudo eletroneuromiográfico do RTF. Percutindo a glabella, observou 2 respostas, uma unilateral e outra bilateral (Kugelberg, 1952; Rushworth, 1962).

Dez anos após, Rushworth foi o primeiro a obter o RTF por meio de estímulo elétrico no nervo supraorbital (Rushworth, 1962). A técnica foi nomeada *Blink reflex*. As respostas obtidas foram chamadas de R1 (precoce, ipsilateral), R2i (tardia, ipsilateral) e R2c (tardia, contralateral).

A resposta R1 é emitida pelo núcleo sensitivo principal do nervo trigêmeo, na ponte. Consiste na via aferente do reflexo, oligossináptica. Para obtenção de R2, estímulos são conduzidos ao trato espinal do nervo trigêmeo, na região ponto-bulbar, e então aos núcleos dos nervos faciais, bilateralmente. Esta representa a via eferente, multissináptica (Aramideh & Visser, 2002) – figura 1. Clinicamente, tem-se a contração de ambos os músculos orbiculares dos olhos (por isso também chamado reflexo do piscamento).

Figura 1 - Anatomia do *blink reflex* e *blink reflex* normal. V1 corresponde a aferência pela primeira divisão do nervo trigêmeo, que faz sinapse com o núcleo sensitivo principal do trigêmeo (VM) e com o núcleo do trato espinal do trigêmeo (VS). A via eferente do reflexo é mediada pelo nervo facial (VII). (Preston & Shapiro, 2013)

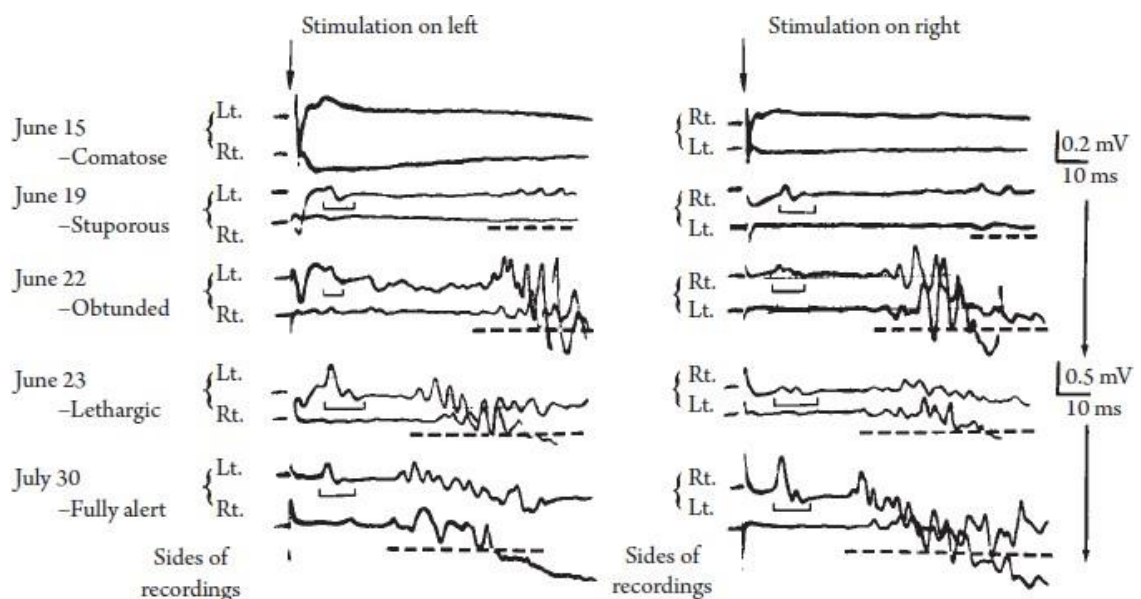


Nas últimas 5 décadas, foram publicados numerosos trabalhos descrevendo o RTF em neuropatias periféricas adquiridas e hereditárias (Malin, 1981; Cruccu et al., 1998; Ishpekova et al., 2005), doenças vasculares (Kimura &

Lyon, 1972; Kaplan & Kaplan, 1980), esclerose múltipla (Kimura, 1975), distúrbios do movimento (Cruccu et al., 1991), tumores, traumas, dentre outras patologias – figura 2. O RTF foi estudado em nosso Serviço em diferentes condições metabólicas, como na insuficiência renal. Houve correlação entre as alterações observadas e o tempo de hemodiálise (Resende et al., 2002).

Esse exame pode auxiliar na avaliação funcional de estruturas do tronco encefálico e suas conexões, tendo apresentado alterações inclusive em outras encefalopatias.

Figura 2 - *Blink reflex* em paciente com encefalite herpética. Conforme passar dos dias e recuperação do nível de consciência, ocorre melhora do padrão do *blink reflex* (Kimura, 2013)



Lt. = left; Rt. = right

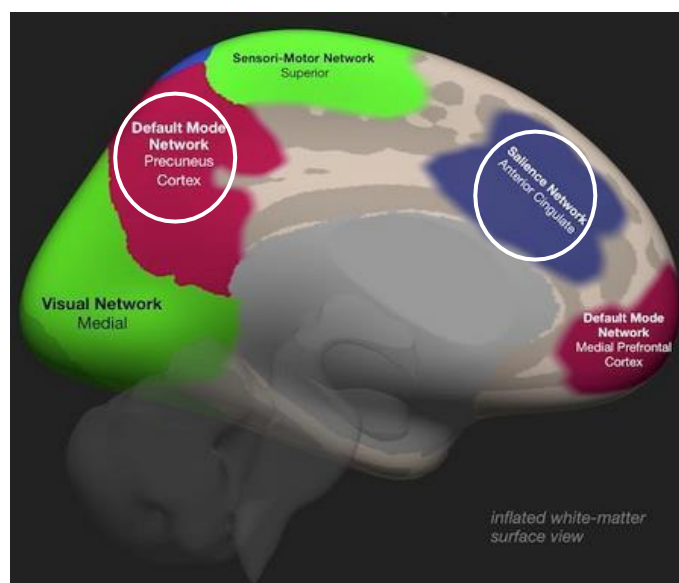
I.3 - Ressonância magnética (RM)

Nos casos de EH, imagens de rotina podem demonstrar edema cerebral, porém sem alterações específicas. Já na degeneração hepatocerebral adquirida encontra-se hiperssinal na sequência T1 em núcleos da base, atribuído a depósito de manganês, eventualmente com atrofia cortical (Romeiro et al., 2011). Espectroscopia mostra pico de glutamina/glutamato, diminuição de mioinositol e colina nos núcleos da base (Rovira et al., 2008).

A RM quantitativa consiste na aplicação de algoritmos nas imagens com objetivo de aumentar a sensibilidade na detecção de anormalidades. Utilizando RM quantitativa estrutural foi possível demonstrar que pacientes com CH apresentam redução da densidade de substância cinza cerebral (Guevara et al., 2011). Este comprometimento é mais acentuado nos casos que apresentam EH e persiste mesmo após transplante hepático (Guevara et al., 2011). Alterações foram evidenciadas sobretudo no lobo frontal, caudado, putâmen e globo pálido (Grover et al., 2016).

Também pode ser feita avaliação funcional pela RM, buscando estudar a chamada conectividade cerebral. Sua relevância decorre do fato de que a integração entre áreas do cérebro, ou seja, a conectividade entre elas, seja positiva ou negativa, é fundamental para desempenho de várias funções. Isso é interpretado a partir de sinais provenientes da mudança de fluxo sanguíneo de regiões mais ou menos ativas do cérebro. Utilizando o efeito BOLD (*Blood oxygenation level dependent effect*) são gerados aumentos ou reduções de sinais de acordo com as concentrações de oxi e desoxihemoglobina nessas regiões (Covolan et al., 2004). As redes são relacionadas na RM funcional a determinadas regiões de interesse, as chamadas ROIs (*Region of interest*).

Figura 3 – Algumas redes estudadas na RM funcional. Em destaque estão as redes de modo padrão e saliência, que são exemplos de redes neurais de repouso e devem, portanto, estar ativas nesse estado (CONN toolbox)



O estudo das redes neurais de repouso por esse método já foi capaz de evidenciar alterações difusas corticais e subcorticais mesmo em pacientes com EH mínima, havendo inclusive correlação entre tais achados e outros parâmetros, como testes neuropsicológicos e níveis de amônia (Zhang et al., 2012; Chen et al., 2017; Zhan et al., 2019). Foi demonstrada redução da conectividade cerebral dentro das redes neurais de repouso e entre elas e outras redes, como somatossensorial e de linguagem, em pacientes com EH mínima, o que auxilia na compreensão de sua fisiopatologia (Zhan et al., 2019).

II - Justificativa

O nível de consciência pode estar comprometido nas hepatopatias, em graus variados. EH mínima pode não ter sinais clínicos evidentes porém envolve riscos ao paciente, tanto por prejuízo na execução de determinadas tarefas quanto por possibilidade de progressão do quadro. O reflexo trigêminofacial (RTF) é método quantitativo, acessível, não-invasivo, que pode avaliar regiões relacionadas a tal comprometimento. Também se mostrou alterado em disfunções do sistema nervoso central secundárias a outras etiologias metabólicas.

Não encontramos estudos de RTF nas hepatopatias. Neste trabalho a correlação do estado funcional do encéfalo avaliado pelo RTF com quadro clínico e resultados de outros exames complementares poderá trazer importantes contribuições para o melhor conhecimento e avaliação de pacientes com CH.

III- Hipóteses

Devido a capacidade do reflexo trigêminofacial avaliar a integridade funcional do encéfalo, sobretudo do tronco encefálico, este método pode ser útil para estudo de comprometimento difuso do sistema nervoso central em pacientes com CH. Os resultados obtidos por esta técnica podem estar correlacionados com outros métodos funcionais e estruturais como o EEG e a RM.

IV – Objetivos

Gerais:

Aplicar avaliação multimodal neurofisiológica e de neuroimagem a portadores de CH sem EH diagnosticada clinicamente, buscando caracterizar as alterações e correlacionar os resultados do grupo de pacientes, fazendo comparação com controles.

Específicos:

- Avaliar respostas do RTF;
- Descrever alterações do EEG;
- Realizar estudos de imagem por RM, incluindo quantificações do volume cerebral e avaliação das redes neurais em repouso;
- Procurar correlação entre os achados da avaliação multimodal.

V– Métodos

V.1 - Sujeitos

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana de nossa Instituição (protocolo 197/2017 – anexo 2) e preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido – anexo 3 -, foram selecionados pacientes com diagnóstico de CH, de etiologias e gravidade variáveis, atendidos nos Ambulatórios de Hepatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP (HC-FMB). Dados clínicos e de exames complementares foram coletados de prontuário e diretamente com os pacientes e acompanhantes. Em um primeiro momento, foi realizada eletroneurografia (ENG) com RTF dos pacientes. Em seguida, em um único dia, repetido RTF e realizados RM e EEG. Para correlação foram utilizados os valores de RTF realizados no mesmo dia que RM e EEG.

Amostra foi baseada em estudos anteriores, como Resende et al., 2002 e Zhang et al., 2012. Considerando também a realização de exames de neuroimagem, foi ainda determinada por conveniência e disponibilidade. Os controles eram indivíduos saudáveis sem histórico de doenças neurológicas ou patologias sistêmicas e foram submetidos apenas a RM.

Critérios de Inclusão:

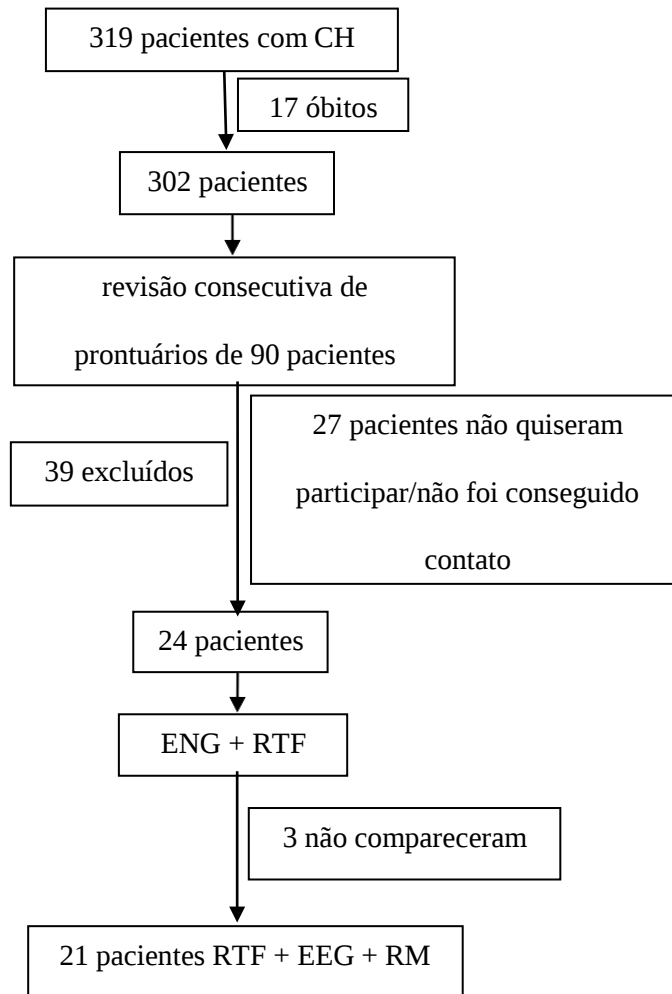
Pacientes com idades de 20 a 89 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de CH.

Critérios de Exclusão:

Pacientes com diagnósticos atuais de encefalopatia hepática (cl clinicamente evidente), encefalopatias por outras causas, estruturais ou metabólicas, de outras doenças neurológicas, uso de medicações sedativas, diabetes mellitus, insuficiência renal, hipovitaminose B12, lesão de nervo trigêmeo, facial, do tronco encefálico ou cirurgia craniofacial prévia. Não foram convocados pacientes com possíveis contraindicações à realização dos exames segundo dados de prontuário (presença de marcapasso cardíaco, próteses metálicas).

Também seriam excluídos pacientes com doenças do sistema nervoso periférico no exame eletroneurográfico que prejudicassem a interpretação do RTF.

Figura 4 – Fluxograma da seleção de pacientes



Eletroneurografia (ENG)

A ENG foi realizada de acordo com técnicas convencionais (Dumitru et al., 2002; Kimura, 2013; Preston & Shapiro, 2013). A condução sensitiva nos membros superiores foi estudada por técnicas antidrômicas, com eletrodos captadores de anel posicionados nas pregas interfalangeanas proximais (G1) e distais (G2) dos dedos I (nervo radial), III (nervo mediano – figura 4) e V (nervo ulnar). Estímulos supramáximos aplicados com catodo em posição distal, entre os terços médio e distal da face lateral do antebraço (nervo radial), sobre os tendões dos músculos flexor radial do carpo e palmar longo, no punho (nervo mediano), e sob o tendão do flexor ulnar do carpo, na face medial do punho (nervo ulnar).

A condução nervosa motora nos membros superiores foi estudada nos nervos medianos, com eletrodos captadores discos rígidos de platina de 7 mm de diâmetro, aplicados sobre o ventre (G1) e tendão (G2) do músculo abdutor curto do polegar. Estímulos elétricos supramáximos aplicados na face anterior do punho, região dos tendões dos músculos flexor radial do carpo e palmar longo, sobre a prega cutânea distal (estímulo distal), e na fossa antecubital sobre o trajeto do nervo mediano e artéria braquial, adjacentes ao tendão do músculo bíceps braquial (estímulo proximal) – figura 5.

Para os membros inferiores, técnicas similares foram utilizadas para obtenção dos potenciais de ação dos nervos fibulares superficiais, surais (condução sensitiva) e fibulares profundos (condução motora).

Nos estudos de condução nervosa, o terra ficou interposto entre catodo do estimulador e G1. Foram utilizadas bases de tempo de 2 ou 5 ms/divisão, sensibilidades de 20 μ V/divisão (condução sensitiva), 1 ou 2 mV/divisão (condução motora) e filtros com banda passante de 20 a 3000 Hz.

Os eletrodos captadores dos estudos de condução sensitiva e motora foram aplicados com gel condutor, após limpeza da pele com pasta abrasiva. Todos os estímulos elétricos supramáximos foram pulsos quadrados de corrente contínua de 0,2 ms de duração (amperagem variável).

O objetivo principal do exame foi contribuir para seleção de pacientes que não possuísssem alterações no sistema nervoso periférico que pudessem enviesar a interpretação do RTF no contexto do trabalho. Pacientes com polineuropatia periférica ao exame, ainda que pudessem ser excluídos do estudo, tiveram ENG com laudo em prontuário para documentação da doença e conduta adequada.

Para o propósito em estudo, não foi considerada necessária complementação com agulha.

Figura 5 – Exemplo de condução nervosa sensitiva do nervo mediano. Eletrodos captadores de anel posicionados nas pregas interfalangeanas (G1 indicado por seta branca); catodo distal do estimulador posicionado no punho (seta preta), com terra interposto

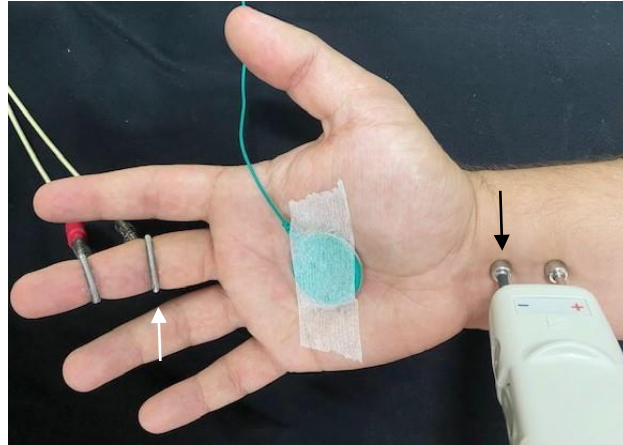
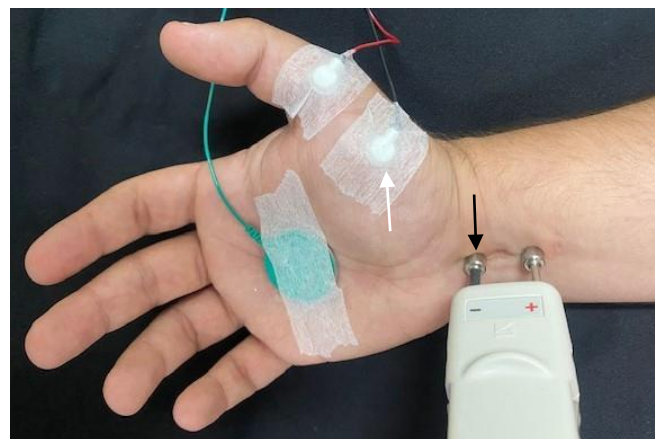


Figura 6 – Exemplo de condução nervosa motora do nervo mediano. Eletrodos de superfície posicionados sobre ventre (G1 – seta branca) e tendão (G2) do músculo abductor curto do polegar; catodo distal do estimulador posicionado no punho (seta preta), com terra interposto



V.2- RTF

Os exames de RTF foram obtidos de acordo com técnicas convencionais (Resende et al., 2002; Kimaid et al., 2002; Kimura, 2013; Preston & Shapiro, 2013). Cada paciente foi mantido em decúbito dorsal, em sala com iluminação reduzida e temperatura acima de 25 °C, de olhos abertos. Eletrodos captadores discos rígidos de platina de 7 mm de diâmetro foram posicionados da seguinte forma: 1º canal com G1 (eletrodo ativo) 1 cm abaixo do epicanto lateral do olho esquerdo, sobre o

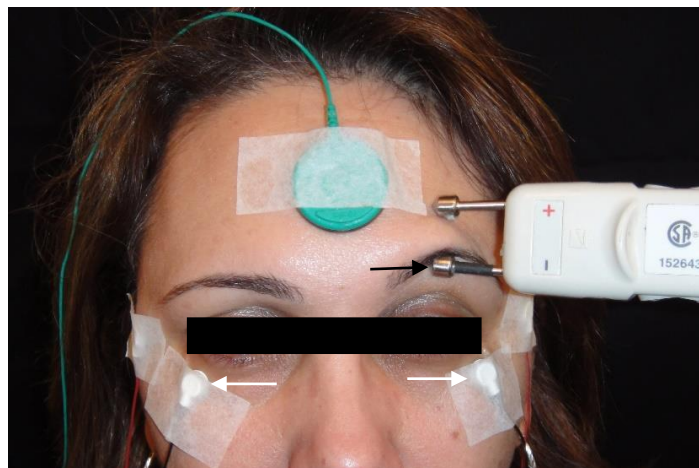
músculo orbicular dos olhos e G2 (eletrodo referência) 2 cm lateral ao epicanto lateral do olho esquerdo. 2º canal com eletrodos simétricos em relação ao primeiro, no lado direito. Terra foi posicionado na testa - Figura 6. Foram utilizados base de tempo de 10 ms/divisão, sensibilidade de 200 μ V/divisão e filtros com banda passante de 20 a 3000 Hz. Os eletrodos captadores foram aplicados com gel condutor, após limpeza da pele com pasta abrasiva.

Todos os estímulos elétricos supramáximos foram pulsos quadrados de corrente contínua de 0,2 ms de duração, intensidade de 20 mA, com catodo sobre a incisura supraorbitária (nervo supraorbital) e anodo cranial. Foram obtidas e superpostas pelo menos 2 respostas de cada lado, sendo respeitados intervalos entre os 2 estímulos para evitar habituação.

Todos os exames foram realizados em aparelho Nihon Kohden Neuropack S1, modelo MEB 9400, do Setor de Neurofisiologia do HC - FMB, pelo mesmo examinador.

Os parâmetros de normalidade utilizados foram baseados em literatura e prática clínica: latências R1 < 12,5 ms e R2 < 40 ms; amplitudes > 200 μ V (Kimura, 2013).

Figura 7 – Exemplo de RTF. Eletrodos de superfície posicionados de modo simétrico sobre músculos orbiculares dos olhos (G1 – setas brancas). Catodo distal do estimulador posicionado sobre ramo supraorbital do trigêmeo esquerdo (seta preta), com terra sobre a testa



V.3- EEG

Os exames foram realizados em aparelho Nihon Kohden de 32 canais do Setor de Neurofisiologia do HC – FMB. Utilizados filtros de 0,5 a 35 Hz e montagem de eletrodos segundo o Sistema Internacional 10-20. A duração estimada de cada exame foi de 20 minutos, com métodos de ativação como fotoestimulação e hiperventilação.

V.4- RM

O exame de RM foi realizado com equipamento da marca Siemens Healthcare (Alemanha), modelo MAGNETOM® Verio 3T (Tesla), disponível no Setor de Radiologia do HC – FMB, utilizando bobina de crânio de 12 canais.

As principais sequências para o estudo foram adquiridas com os seguintes parâmetros:

- Axial FLAIR (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) com 4 mm de espessura; ângulo de excitação 150°; TR, 9000 ms; TE, 80 ms; TI, 2500 ms; matriz, 208x256 e FOV 220 mm;

- Gradiente Eco Volumétrica ponderada em T1 MPRAGE (*Magnetization Prepared Rapid Gradient Echo*) com voxels isotrópicos de 1 mm, adquiridos no plano sagital com 1 mm de espessura; ângulo de excitação 9°; TR (tempo de repetição), 2300 ms; TE (tempo de excitação), 2,47 ms; TI (tempo de inversão), 1100 ms; matriz, 256x256 e FOV 256 mm;

- Funcional em repouso (BOLD) EPI (*Echo Planar Imaging*) com os olhos abertos e fixos no teto do scanner; 36 cortes; 3 mm de espessura; resolução de 3x3 mm; FOV, 192 mm; matriz, 64x64 mm; TR, 3000 ms; TE, 30 ms; tempo de aquisição, 6.08 min; número total de volumes, 120; ângulo de excitação, 90°.

Análise estrutural da RM

Foi feita análise estrutural qualitativa e quantitativa dos pacientes e controles. A análise qualitativa foi realizada de forma visual convencional utilizando todas as imagens obtidas.

Para análise quantitativa foi utilizada a morfometria baseada em voxel (VBM, *voxel-based morphometry*). Esta técnica permite a comparação voxel a voxel de grupos de cérebros.

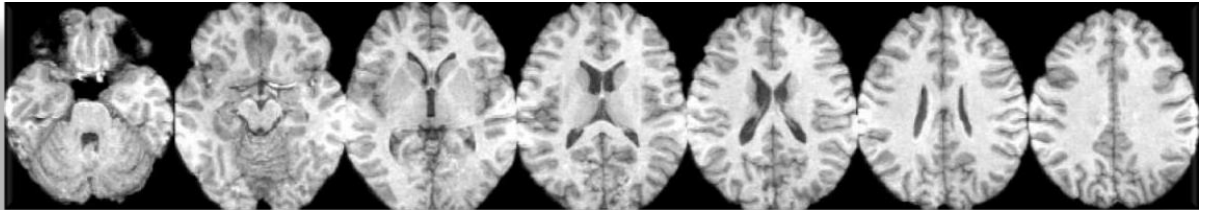
O VBM foi realizado utilizando o programa SPM12 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk>) na plataforma MATLAB® R2012b. Este programa realiza uma abordagem conhecida como segmentação unificada (Ashburner, 2007). As substâncias branca e cinzenta dos pacientes e controles foram automaticamente segmentadas. Em seguida, utilizando o algoritmo *Diffeomorphic Anatomical Registration Through Exponentiated Lie Algebra* (DARTEL), um *template* no espaço padrão do ICBM-152 (*International Consortium for Brain Mapping – Montreal Neurological Institute – MNI*; Collins et al., 1995) foi criado com base em todos os indivíduos incluídos no estudo. A etapa final consiste no registro das imagens segmentadas de cada um dos pacientes com o *template*. As imagens foram também moduladas com o objetivo de preservar a substância cinzenta e minimizar as distorções desta etapa de normalização. Este processamento fornece a quantificação dos volumes e mapas destas duas partições.

Finalmente, um filtro gaussiano de 8 mm FWHM (largura à meia altura, *Full Width at Half Maximum*) foi aplicado em todas as imagens segmentadas, permitindo a análise estatística.

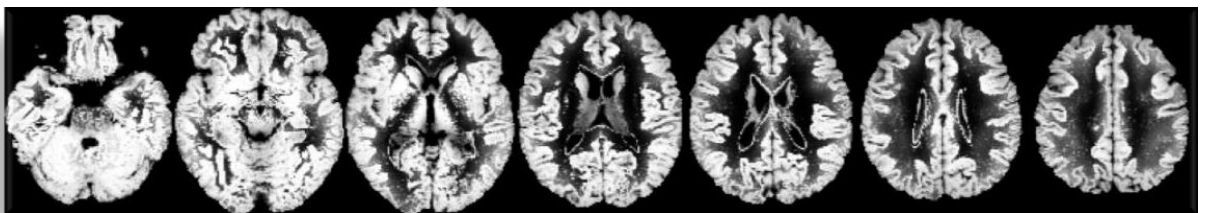
A figura a seguir resume as principais etapas para realização do VBM.

Figura 8 – Processamento de imagens de RM quantitativa. Etapas para realização da morfometria baseada em voxel (VBM)

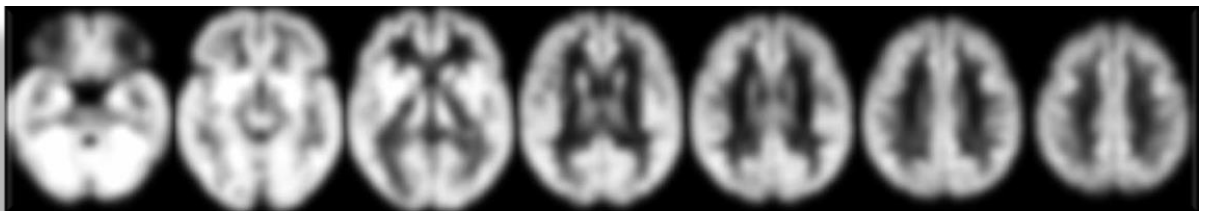
Normalização: corrige variações de dimensões e posição



Segmentação automática da substância cinzenta: define a anatomia



Suavização: reduz variabilidade interindividual



Análise funcional da RM

Para análise funcional em repouso foi utilizado o programa CONN (*“Functional Connectivity Toolbox”*; Whitfield-Gabrieli & Nieto-Castanon, 2012) associado ao SPM12 (www.fil.ion.ucl.ac.uk), rodando sobre a plataforma Matlab R2012b (*MathWorks*; Natick, Estados Unidos da América).

O pré-processamento das imagens funcionais consistiu em realinhamento, correção temporal e para artefatos de movimento, normalização (ICBM) e suavização espacial com filtro de 4 mm (*“Full Width at Half Maximum”*). As imagens funcionais de cada sujeito foram registradas com a sequência volumétrica T1. Em seguida as imagens foram submetidas a algoritmo para redução de ruído que aplica regressão linear e filtragem para remoção de artefatos fisiológicos e outros efeitos artefatuais relacionados ao sinal BOLD.

Para cada sujeito, duas formas de análise foram realizadas: uma de região de interesse para todos os voxels e outra de correlação entre várias regiões de interesse.

A extração dos mapas de conectividade foi feita por meio de modelo linear geral (GLM) para medidas ponderadas de regressão / correlação entre as séries temporais e as áreas de interesse.

V.5 - Análise dos resultados / Estatística

Os resultados da avaliação neurofisiológica, com enfoque no RTF, foram demonstrados para cada paciente. Latências obtidas por meio do RTF foram utilizadas para correlação com os mapas de volume da substância branca e cinzenta. Posteriormente, análise semelhante foi realizada para a atividade das redes neurais em repouso. Alterações de amplitudes do RTF também foram descritas, porém foi optado pela correlação com latências por serem menos susceptíveis a viés.

Os volumes da substância branca e cinzenta de pacientes e controles foram comparados voxel a voxel por meio do programa SPM12 utilizando método *Full Factorial*. Áreas de aumento ou redução da substância branca e cinzenta foram investigadas. Uma segunda forma de análise foi feita procurando por correlações entre os mapas de substância branca e cinzenta dos pacientes e os resultados obtidos para o RTF. Um valor de $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações (*Family-Wise Error*) foi utilizado. Idade, sexo e volume intracraniano total foram introduzidos nas análises como covariáveis nas comparações com controles.

A análise da conectividade cerebral foi feita utilizando o GLM com nível de significância de $p < 0,05$ corrigido para múltiplas comparações (*False Discovery Rate*). Idade, sexo e os parâmetros de realinhamento foram introduzidos como covariáveis. Nesta análise de grupos, foi feita ainda a comparação entre os mapas de conectividade de pacientes e controles. A última etapa consistiu na análise de regressão correlacionando os mapas de conectividade com os achados do RTF.

VI- Resultados

Foram avaliados 21 pacientes, tendo também 21 controles.

O grupo de pacientes era composto por 10 mulheres, tendo em média 58 ± 10 anos. Dentre os controles, havia 12 mulheres, com idade média de 43 ± 9 anos.

Dentre as diversas etiologias de CH, a mais frequente foi infecção pelo vírus da hepatite C.

Como classificação clínica da CH foi utilizada a escala de Child Pugh, com sistema de escore de 5 a 15, sendo 5 e 6 classe A, 7 a 9 classe B e 10 a 15 classe C, mais grave conforme maior o escore. A maioria dos pacientes era Child Pugh A.

Tabela 1: Pacientes conforme etiologia e classificação da CH

Pacientes	Etiologia	Child Pugh
A	vírus C	A
B	vírus C	A
C	criptogênica	B
D	álcool	A
E	álcool	B
F	vírus C + doença hepática gordurosa não-alcoólica	A
G	vírus C	A
H	álcool	A
I	vírus C	A
J	vírus C	A
K	vírus B	A
L	cirrose biliar secundária	B
M	vírus C	A
N	vírus C	A
O	vírus C	A
P	autoimune	A
Q	vírus C	A
R	vírus C	A
S	álcool	A
T	vírus C	A
U	álcool	A

Segundo dados de prontuário, os pacientes identificados como A, D, K, L e N já haviam sido diagnosticados com algum grau de encefalopatia hepática antes da realização do estudo.

Os exames de eletroneurografia não mostraram alterações que *a priori* prejudicassem a interpretação do RTF, não sendo excluído nenhum paciente por tal motivo.

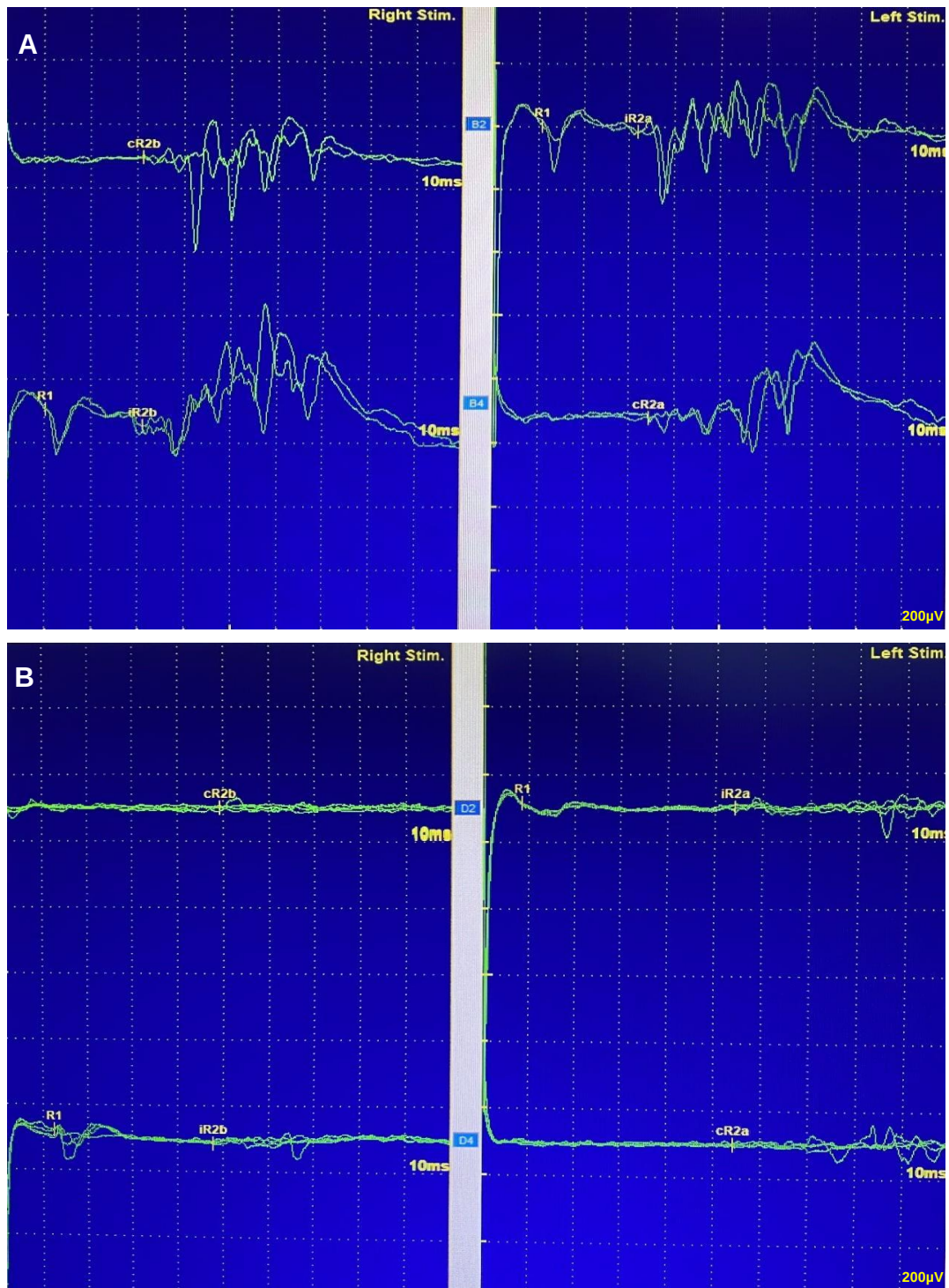
Resultados do RTF foram: estímulos à esquerda - $R1 = 10,6 \pm 1,4$ ms, $R2i = 36,9 \pm 7,4$ ms e $R2c = 36,2 \pm 8,2$ ms; estímulos à direita - $R1 = 10,3 \pm 1,2$ ms, $R2i = 33,5 \pm 6$ ms e $R2c = 34,2 \pm 6,8$ ms. Foram considerados alterados em 6 de 21 pacientes (28%), sendo eles identificados pelas letras D, E, K, L, S e U. Notada predominância de alterações nos parâmetros R2.

A variação intra-examinador nos 2 tempos diferentes de análise do RTF foi: estímulos à esquerda - $R1 = 2,9\%$; $R2i = 4,2\%$ e $R2c = 3,1\%$; estímulos à direita - $R1 = 2\%$; $R2i = 0\%$; $R2c = 1,4\%$.

Foram observadas reduções de amplitudes no RTF de 11 pacientes, sobretudo quanto aos parâmetros R1 e R2 com estímulos contralaterais.

Seguem exemplos e tabela com valores de latências especificados:

Figura 9 – Resultados do RTF de dois pacientes com CH. Em A, tem-se *blink reflex* dentro dos limites de normalidade. Já em B, *blink reflex* alterado.



R2i = R2 ipsilateral; R2c = R2 contralateral

Tabela 2: Resultados da análise do RTF (latências, em ms) de pacientes com CH (em cinza, valores fora dos parâmetros de normalidade)

	R1 Est esq (t1)	(t2)	R2i Est esq (t1)	(t2)	R2c Est esq (t1)	(t2)	R1 Est dir (t1)	(t2)	R2i Est dir (t1)	(t2)	R2c Est dir (t1)	(t2)
A	9,8	10	29	30,9	29	30,9	9,8	10,2	29,6	27,7	29,6	27,7
B	9,9	10	36	35,1	36	30,9	10,8	10,3	35,5	29,9	35,3	28,9
C	10,7	11,2	28,9	31,3	28,9	33,3	10	11,1	29	31,2	29,2	32,9
D	9,3	15	43,2	44,1	45,6	44,1	11,3	12,2	49,5	41	49,1	46,5
E	11,1	11	39,5	37,4	40,7	41,7	10,5	11	33,3	36,1	33,3	35,3
F	11,4	10,9	35,3	29,8	35,3	28,1	11,2	11,1	34,1	30,6	34,1	30,6
G	10	9,3	28,7	30,9	28,2	33,5	9,2	9,2	27,7	27,4	27,4	27,6
H	9,3	9,3	32,9	34,5	28,2	30,1	8,2	9,4	28,7	35,1	29,5	33,4
I	8,9	11,1	37,4	31,4	33,2	30,5	8	7,8	33,8	32,9	35,8	33,6
J	9,8	10,5	29,9	36,8	29,8	36,8	9,2	9,7	26	30,6	33,9	32,4
K	11	7,9	38,2	41,8	33,3	39,1	11,3	10,2	34,5	32,9	34,5	33,2
L	7,6	9,3	38,7	57,6	51,7	60,2	5,6	9,3	38,7	49,6	46	52,4
M	10,8	11,5	32,7	31,8	32,7	31,8	11,4	11,9	29	30,6	29	30,6
N	10,8	10,5	31,1	33,8	28,9	31,4	9,6	9	28,4	30,7	34,1	32
O	10,8	11,3	32,7	33,8	33,1	36	11,5	10,7	30,1	29,7	31,1	29,7
P	10,3	10,3	38,7	37,4	38,7	30,9	9,5	9,1	33,8	29,9	33,8	30,5
Q	10,8	11,1	31,8	31,2	34,4	32,4	10,2	9,2	31,1	28,8	31,1	29,6
R	11	11,5	35,9	34,3	36,2	38,8	11,9	11,9	34,2	34,4	33,7	34,4
S	10,7	8,6	44,9	54,2	44,9	54,2	10,8	12,5	47	47,9	47,6	49,3
T	10,3	10,3	38,9	35,6	38,9	35,6	9,9	9,9	35,1	36,4	35,1	36,4
U	11	11,7	38,4	41,2	29,2	30,2	11,5	10,2	34,5	31	34,5	31

t1 = RTF realizado junto com ENG
t2 = RTF realizado junto com RM e EEG

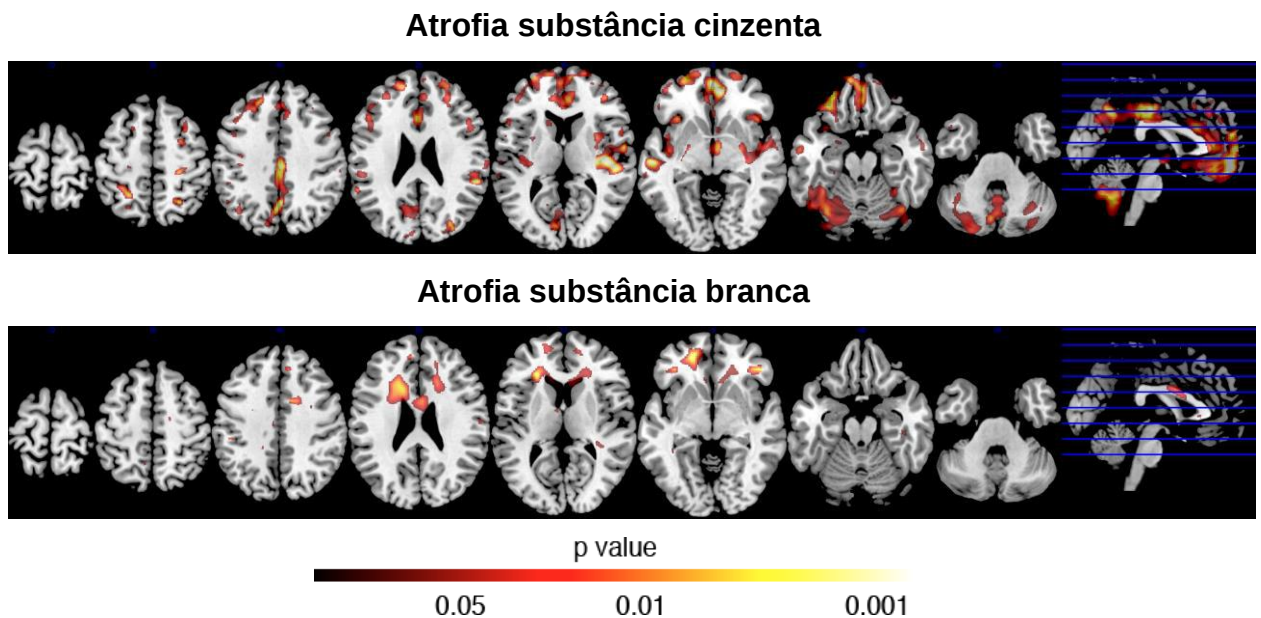
Est = estímulo; esq = esquerda; dir = direita
R2i = R2 ipsilateral; R2c = R2 contralateral

EEG foi normal para todos os pacientes.

Avaliação qualitativa das imagens de RM não demonstrou alterações específicas.

Na análise do VBM, áreas de atrofia foram detectadas em pacientes com CH, somando 151907 mm³ para substância cinzenta e 32330 mm³ para substância branca (figura 9, tabela 3).

Figura 10 – Resultado da análise quantitativa da RM realizada por meio da morfometria baseada em voxel (VBM) comparando pacientes com CH e controles. As figuras representam mapas estatísticos do resultado das comparações sobrepostos em um modelo de RM. A escala de cor representa o nível de significância.



Correlações negativas entre volumes cerebrais e latências de R2c direito x substância branca (SB) (5844 mm³, giro medial orbital e fusiforme), R2c esquerdo x substância branca (SB) (4329 mm³, hipocampo e giro orbital medial) e R2i esquerdo x substância cinzenta (SC) (1702 mm³, lóbulo parietal superior) foram observadas (figura 10, tabela 3).

Figura 11 – Resultado da análise quantitativa da RM realizada por meio da morfometria baseada em voxel (VBM) correlacionando as substâncias branca e cinzenta de pacientes com CH com os resultados do RTF. As figuras representam mapas estatísticos do resultado das correlações sobrepostos em um modelo de RM. A escala de cor representa o nível de significância.

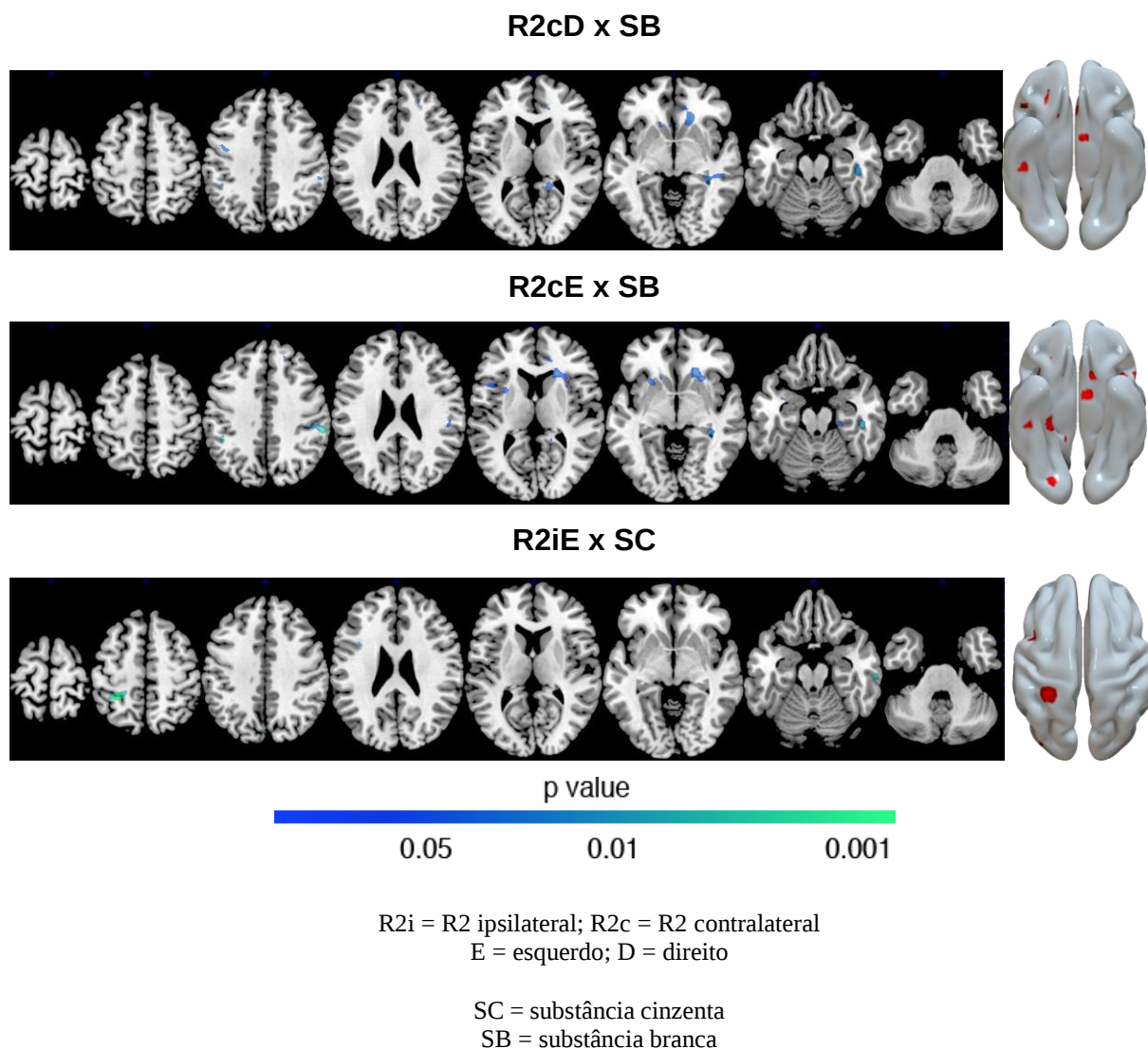


Tabela 3: Resultados da morfometria baseada em voxels de 21 pacientes com CH e correlação com valores do RTF (em cinza, achados mais significativos)

		Tamanho (mm ³)	valor p	valor T	x,y,z {mm}	Anatomia
Áreas de Atrofia de Substância Cinzenta		56103	<0.001	6.68	-33 23 -10	Orbital posterior
		15699	<0.001	6.68	-5 -67 36	Pré-cúneo
		15220	<0.001	6.36	39-16 8	Ínsula posterior
		28546	<0.001	5.68	5 -60 -45	Cerebelo
		2876	<0.001	5.64	-58 -20 -6	Temporal superior
		888	0.023	5.47	33 -82 22	Occipital médio
		19171	<0.001	5.37	38 -42 -56	Cerebelo
		1685	0.003	5.16	-24 -51 56	Lóbulo parietal superior
		1347	0.007	4.95	21 33 44	Frontal superior
		1256	0.009	4.85	5 -5 -5	Tálamo
		1171	0.011	4.69	59 -12 -15	Temporal médio
		2567	<0.001	4.58	27 54 25	Frontal superior
		1314	0.007	4.54	44 22 -4	Opérculo frontal
		2084	0.001	4.53	-59 -46 24	Supramarginal
		1980	0.002	4.43	56 14 19	Frontal inferior
Áreas de Atrofia de Substância Branca		31097	<0.001	5.26	-13 51 16	Frontal superior
		1233	0.022	4.13	37-36 5	Temporal médio
Áreas de Correlação Negativa	R2i Est esq	1702	0.049	6.08	-27 -41 60	Lóbulo parietal superior
	R2c Est dir	3122	0.017	5.44	14 18 -13	Orbital médio
	R2c Est dir	2762	0.023	5.01	44 -26 -17	Fusiforme
	R2c Est esq	2178	0.038	4.72	36 -33 -8	Hipocampo
	R2c Est esq	2451	0.029	4.45	15 17 -12	Orbital medial

R2i = R2 ipsilateral; R2c = R2 contralateral

Est = estímulo; esq = esquerdo; dir = direito

Nas análises de resultados da RM funcional foram evidenciadas reduções nas atividades das redes de saliência (21 *clusters*, $p < 0,001$) e das redes de modo padrão (9 *clusters*, $p = 0,001$) em pacientes. Análise ROI to ROI (ROI = *Region of interest*) de 55 conexões entre 11 ROIs demonstrou conectividade intra-rede reduzida na *Saliency* (saliência) ($F=6.41$, $p=0.011$).

As latências prolongadas obtidas pelo RTF mostraram correlação com o comprometimento de pequenas redes localizadas próximas aos principais nodos das redes de saliência (córtex cingulado anterior) e de modo padrão (pré-cuneus).

Foram evidenciadas correlações inversas do R1 com estímulos à esquerda voxel a voxel na saliência e do R2c com estímulos à direita no ROI to ROI, sugerindo que quanto maiores as latências desses parâmetros do RTF, mais comprometida a conectividade cerebral.

A rede de modo padrão e a saliência são redes neurais de repouso, porém pontua-se que a última apresenta funções relacionadas a programação de respostas a estímulos externos (Chand et al., 2017).

Figura 12 – Análise de conectividade funcional de regiões de interesse (ROI) com todos os voxels. Avaliação das redes de repouso modo padrão (ROI no córtex cingulado posterior) e saliência (ROI no córtex cingulado anterior) em pacientes com CH. Comparação com controles e correlação com RTF. Os resultados estão sobrepostos em modelo de RM axial (orientação neurológica, direita a direita). O resultado da análise estatística é demonstrado de acordo com a escala de cores.

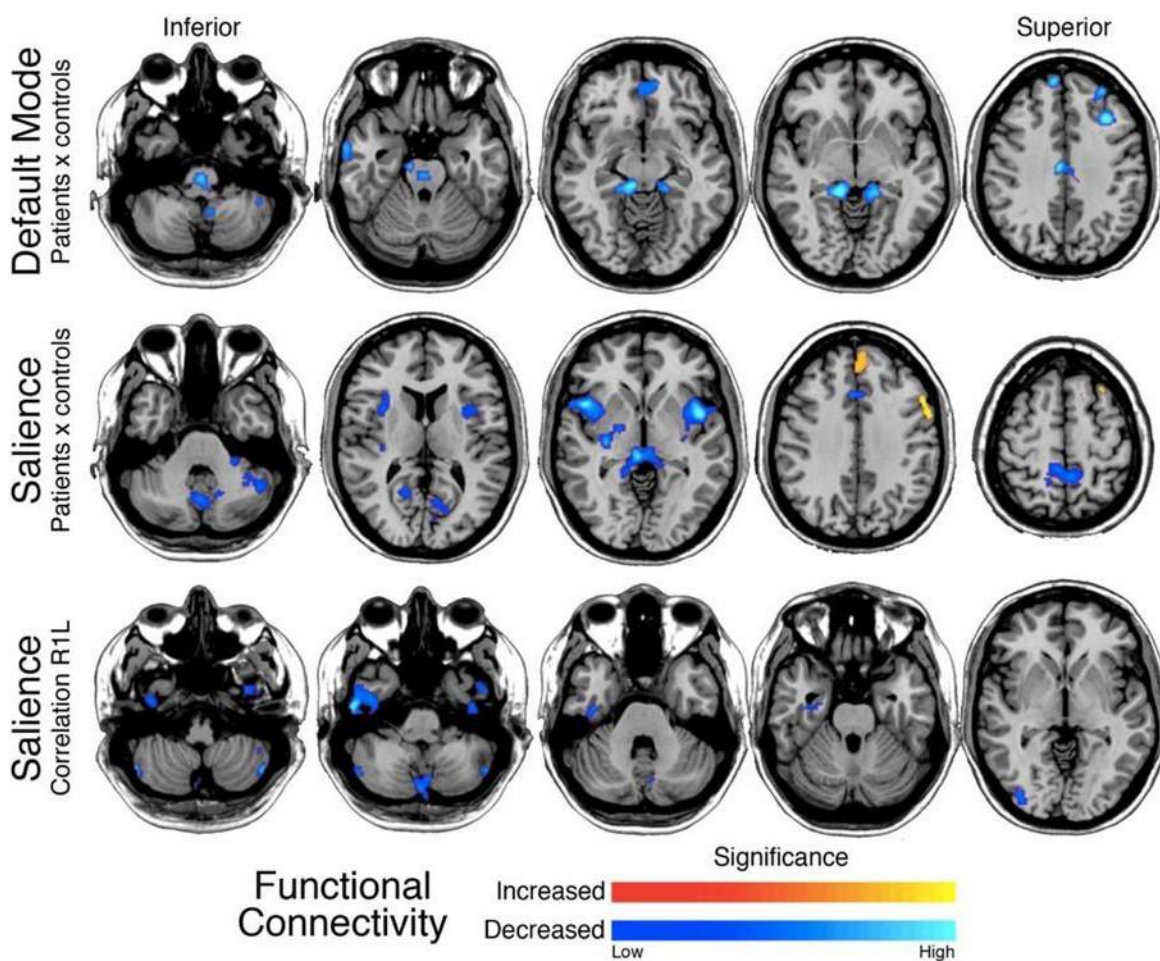


Figura 13 – Conectoma demonstrando o resultado da análise de conectividade funcional em repouso avaliando a correlação entre 164 regiões de interesse (ROI) e R2c com estímulos à direita em pacientes com CH. A análise foi realizada investigando 13366 conexões e detectou correlação inversa entre os parâmetros investigados.

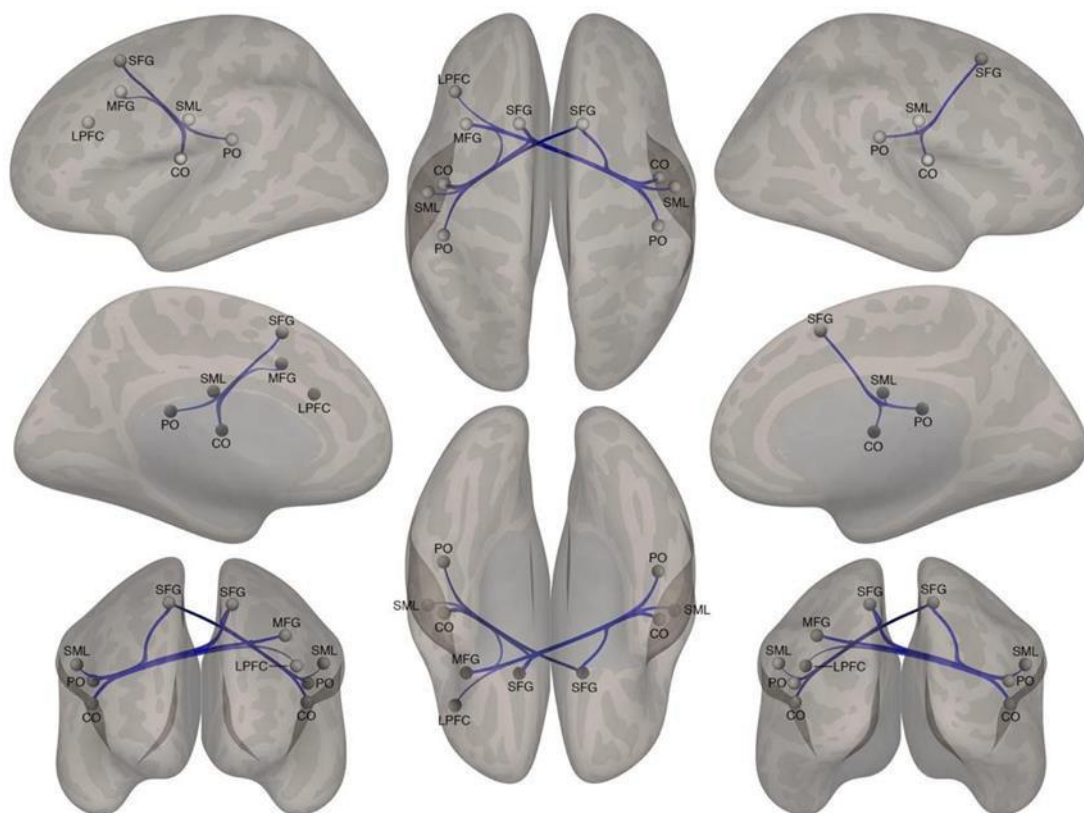
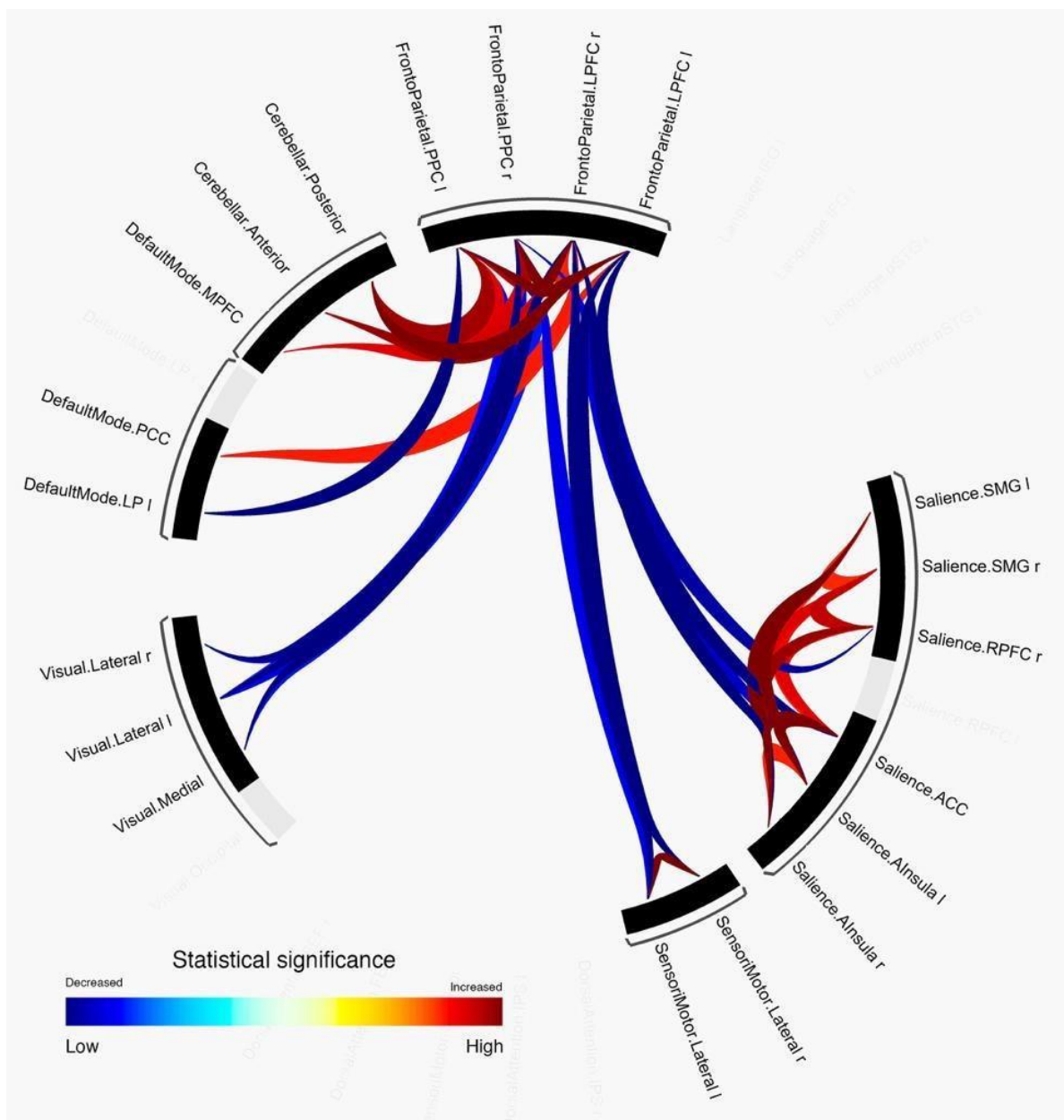


Figura 14 - Análise de conectividade funcional entre 32 regiões de interesse (ROI) relacionadas às principais redes de repouso, comparando pacientes com CH versus controles. Os resultados demonstram 8 grupos de alteração de conectividade, principalmente redução da conectividade inter-rede (azul).



Cerca de 2 anos após a realização dos exames foi feita nova revisão de prontuários, que evidenciou ocorrência de encefalopatia hepática “cl clinicamente expressa” em 2 dos pacientes estudados (identificados como N e S, aproximadamente 6 e 3 meses após os exames, respectivamente).

VII- Discussão

Paralelamente ao que é observado em outros quadros de encefalopatia (vide figura 2), foi pesquisado o padrão do RTF na CH, já que a mesma está relacionada, em mais da metade dos casos, a quadros de comprometimento do sistema nervoso central, ainda que subclínicos (Romeiro & Augusti, 2015).

EH mínima pode acometer 80% dos indivíduos com CH e, apesar de possuir sinais clínicos menos evidentes para auxílio diagnóstico, acarreta prejuízos funcionais significativos aos pacientes (Vilstrup et al., 2014). Daí a relevância de buscar métodos complementares diagnósticos para esse tipo de comprometimento.

EEG é método neurofisiológico já bem estabelecido para avaliação de EH (Brenner, 2005), porém sua sensibilidade não é satisfatória para casos de EH mínima (Weissenborn, 2015).

Potenciais evocados na CH mostraram alterações, porém nem sempre de fácil reprodutibilidade, o que já foi observado em nosso próprio Serviço (“dados não publicados”).

Embora não seja esperado encontrar alterações específicas de EH na RM de encéfalo de rotina de pacientes com quadros leves, a avaliação quantitativa destes exames já foi capaz de evidenciar redução volumétrica do parênquima cerebral, mesmo em casos subclínicos. Guevara et al., 2011 demonstrou redução volumétrica tanto de substância branca quanto cinzenta destes pacientes, correlacionada com a gravidade do comprometimento hepático e neurológico (inclusive com testes neuropsicológicos).

Também em estudo que avaliou pacientes antes e após o transplante hepático foi verificado que aqueles com histórico prévio de EH tinham menor volume cerebral e pior desempenho neuropsicológico mesmo após o transplante (Garcia-Martinez et al., 2011).

A avaliação funcional por RM também evidenciou alterações na conectividade cerebral de pacientes com EH mínima. Zhan et al., 2019 mostrou redução significativa da conectividade positiva dentro da rede de modo padrão, envolvendo predominantemente giro cingulado posterior bilateral, córtex pré-frontal medial bilateral, hipocampo bilateral e giro parahipocampal, giro angular bilateral e córtex temporal lateral esquerdo. Além disso, foi notada redução significativa de

conectividade negativa entre regiões da rede de modo padrão (como o giro cingulado posterior bilateral, medial, córtex pré-frontal e giro angular) e regiões envolvidas nas redes somatossensorial (giros pré-centrais e pós-centrais bilaterais) e de linguagem (opérculo Rolândico bilateral). Tal estudo pode corroborar a relação da EH com o funcionamento comprometido de redes cerebrais intrínsecas. Zhang et al., 2017 relacionou alterações na conectividade cerebral inclusive à progressão da EH.

EH clinicamente expressa previamente também poderia influenciar nos padrões de conectividade cerebral, conforme observado por Chen et al., 2013.

No presente estudo, avaliação do RTF de 21 pacientes com CH sem EH na ocasião do exame mostrou alterações em 6 casos (28%), observadas sobretudo nos parâmetros R2 do exame. 3 destes pacientes já haviam apresentado EH clinicamente expressa previamente e um deles teve o diagnóstico clínico 3 meses após a realização da avaliação. Infere-se, a partir daí, precisão razoável do exame. Interroga-se ainda a possibilidade de influência também dos quadros prévios de EH sobre o resultado do RTF, além do fato de que alterações no exame possam ser preditoras de evolução para EH.

Os pacientes cujos exames foram considerados alterados possuíam as seguintes etiologias para cirrose: álcool, vírus B e cirrose biliar secundária. Foi pontuado se o álcool poderia influenciar nos resultados, porém a exclusão de pacientes com hepatopatia secundária ao etilismo poderia dificultar a aplicação prática do exame após, tendo em vista tratar-se de etiologia frequentemente responsável por casos de cirrose hepática.

Foi evidenciada atrofia cerebral na avaliação quantitativa por imagem, mais especificamente 151907mm³ na substância cinzenta, em regiões como giro orbital posterior e cerebelo, e 32330mm³ na substância branca, no giro frontal superior por exemplo.

Demonstrado também comprometimento da conectividade cerebral na avaliação funcional por imagem, com redes neurais de repouso (modo padrão e saliência) apresentando atividade reduzida.

Iversen et al., 2009 avaliou a taxa de metabolismo do oxigênio e fluxo sanguíneo cerebral usando tomografia por emissão de pósitrons em pacientes com cirrose hepática, evidenciando redução significativa de ambos os parâmetros nos

casos com EH clinicamente expressa. Também foi vista correlação negativa de tais alterações com a concentração de amônia. Tais alterações possuem semelhanças às encontradas na RM funcional dos pacientes com CH, considerando que esta última é baseada em sinais provenientes da mudança de fluxo sanguíneo de regiões mais ou menos ativas do cérebro (efeito BOLD). Ocorre que na RM essas alterações são encontradas mesmo nos casos sem sintomas clínicos evidentes.

Correlações negativas foram observadas entre volumes cerebrais e parâmetros do RTF, no caso R2c com estímulos à direita, R2c com estímulos à esquerda e R2i com estímulos à esquerda.

Também foram observadas correlações inversas do R1 com estímulos à esquerda em relação à rede de saliência e do R2c com estímulos à direita na avaliação entre regiões de interesse, sugerindo que quanto maiores as latências desses parâmetros do RTF, mais reduzida a conectividade cerebral.

Houve portanto relação dos prolongamentos de latências das respostas do RTF com menor volume de tecido encefálico e alterações na conectividade cerebral dos pacientes com CH, mesmo sem quadro clínico evidente sugestivo de EH, com EEG e RM de rotina sem maiores alterações.

Supõe-se que tais alterações sejam decorrentes de disfunção cortico-subcortical nesses pacientes, tendo por isso influência por exemplo sobre as respostas do RTF que são polissinápticas e trafegam pelo tronco encefálico até o lado contralateral ao estímulo (R2c). Ainda que considerados parâmetros de latências para comparação com dados dos demais exames, foram observadas também reduções de amplitudes das respostas de alguns pacientes (vide exemplo figura 8B), o que já foi descrito em outros comprometimentos de sistema nervoso central. Mesmo a redução do estado de alerta que ocorre no sono pode ser evidenciada com hipoexcitabilidade de R2 (Kimura, 2013).

Ainda que saliência seja uma rede neural de repouso, foi pontuada sua função na programação de respostas a estímulos externos (Chand et al., 2017), podendo talvez justificar sua correlação com as respostas R1, parte aferente do RTF.

A variação intra-examinador do RTF mantendo-se abaixo de 5% para todos os parâmetros, inclusive sendo nula quanto ao R2i com estímulos à direita, é dado favorável também à reprodutibilidade do método.

Uma limitação deste estudo foi o tamanho da amostra. Ainda assim, estudos prévios com números semelhantes de participantes evidenciaram resultados também relevantes e similares quanto aos exames de imagem em hepatopatas - Chen et al., 2017, por exemplo, comparou RM funcional de 20 pacientes com 24 controles, e Zhan et al., 2019, de 19 pacientes com 19 controles. Novas pesquisas podem agora ser conduzidas para continuar a avaliar a aplicabilidade do RTF neste grupo de pacientes em maior escala.

Considerando a maior acessibilidade do método, correlação com demais exames e reprodutibilidade, o RTF poderia ser usado na prática clínica para auxílio na avaliação de pacientes com CH.

Tendo em vista a relevância e dificuldade do diagnóstico da EH mínima (Gómez & Restrepo, 2016), o RTF poderia contribuir portanto para melhor seguimento desses pacientes.

VIII- Conclusão

Pacientes com CH sem sinais clínicos ou EEG de EH mostraram atrofia cerebral nos estudos quantitativos de RM e alterações na conectividade cerebral na RM funcional.

Os valores obtidos pelo RTF foram alterados em 28% dos casos e inversamente correlacionados ao volume e funcionalidade cerebral (quanto maiores as latências, menor a quantidade de tecido cerebral e funcionalidade de suas vias).

O RTF pode, portanto, ser método complementar no estudo de pacientes com CH, mesmo sem manifestações clínicas evidentes de EH.

IX- Referências

- Amodio P, Montagnese S. Clinical neurophysiology of hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*. 2014; 5: S60–S68.
- Aramideh M, Visser BWO. Brainstem reflexes: electrodiagnostic techniques, physiology, normative data and clinical applications. *Muscle Nerve*. 2002; 26: 14–30.
- Ashburner J. A fast diffeomorphic image registration algorithm. *NeuroImage*. 2007; 38: 95-113.
- Bajaj JS, Saeian K, Schubert CM, Hafeezullah M, Franco J, Varma RR, et al. Minimal hepatic encephalopathy is associated with motor vehicle crashes: the reality beyond the driving test. *Hepatology* (2009) 50:1175–83.
- Braga ASMS, Assis BDRR, Ribeiro JTR, Polla PMSP, Pereira BJH, Fonseca RG, Betting LE. Quantitative EEG evaluation in patients with acute encephalopathy. *Arq Neuropsiquiatr*. 2013; 71(12): 937-42.
- Bragagnolo MA Jr, Teodoro V, Lucchesi LM, Ribeiro TC, Tufik S, Kondo M. Minimal hepatic encephalopathy detection by neuropsychological and neurophysiological methods and the role of ammonia for its diagnosis. *Arq Gastroenterol*. 2009; 46(1): 43-9.
- Brenner RP. The electroencephalogram in altered states of consciousness. *Neurol Clin*. 1985; 3(3): 615-31.
- Brenner RP. The interpretation of the EEG in stupor and coma. *Neurologist*. 2005; 11: 271-84.

Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, Navasa M, Cirera I, Reggiardo V, Rodés J. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 1999; 30: 890-5.

Chand GB, Wu J, Hajjar I, Qiu D. Interactions of the salience network and its subsystems with the default-mode and the central-executive networks in normal aging and mild cognitive impairment. *Brain Connect.* 2017; 7(7): 401-412.

Chen HJ, Jiao Y, Zhu XQ, Zhang HY, Liu JC, Wen S, et al. Brain dysfunction primarily related to previous overt hepatic encephalopathy compared with minimal hepatic encephalopathy: resting-state functional MR imaging demonstration. *Radiology* (2013) 266: 261–70.

Chen HJ, Lin HL, Chen QF, Liu PF. Altered dynamic functional connectivity in the default mode network in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy. *Neuroradiology* (2017) 59: 905–14.

Chiappa KH. Evoked potentials in clinical medicine. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1997.

Chu NS, Yang SS, Liaw YF. Evoked potentials in liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 1997; 12(9-10): S288-93.

Collins DL, Holmes CJ, Peters TM, Evans AC. Automatic 3-D model-based neuroanatomical segmentation. *Hum Brain Mapp.* 1995; 3: 190-208.

Covolan R, Araújo DB, Santos AC, Cendes F. Ressonância magnética funcional: as funções do cérebro reveladas por spins nucleares. *Cienc. Cult.* 2004; 56: 40-42.

Cruccu G, Pauletti G, Agostino R, Berardelli A, Manfredi M. Masseter inhibitory reflex in movement disorders. Huntington's chorea, Parkinson's disease, dystonia, and unilateral masticatory spasm. *Electroenceph Clin Neurophysiol.* 1991; 81: 24–30.

Cruccu G, Agostino R, Inghilleri M, Innocenti P, Romaniello A, Manfredi M. Mandibular nerve involvement in diabetic polyneuropathy and chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *Muscle Nerve*. 1998; 21: 1673–9.

Dumitru D, Zwarts MJ, Amato AA. *Electrodiagnostic medicine*. 2nd ed. Philadelphia: Hanley & Belfus, Inc.; 2002.

Elwir S, Rahimi RS. Hepatic encephalopathy: an update on the pathophysiology and therapeutic options. *J Clin Transl Hepatol*. 2017; 5(2): 142–51.

Ferenci, P. Hepatic encephalopathy. *Gastroenterol Rep*. 2017; 5(2): 138–47.

Frederick RT. Current concepts in the pathophysiology and management of hepatic encephalopathy. *Gastroenterol & Hepatol*. 2011; 7(4): 222-33.

Garcia-Martinez R, Rovira A, Alonso J, Jacas C, Simón-Talero M, Chavarria L, Vargas V, Córdoba J. Hepatic encephalopathy is associated with posttransplant cognitive function and brain volume. *Liver Transpl*. 2011; 17(1): 38-46.

Gómez CC, Restrepo G. JC. Minimal hepatic encephalopathy. *Rev Col Gastroenterol*. 2016; 31(2): 148-153.

Grover VP, Crossey MM, Fitzpatrick JA, Saxby BK, Shaw R, Waldman AD, Morgan MY, Taylor-Robinson SD. Quantitative magnetic resonance imaging in patients with cirrhosis: a cross-sectional study. *Metab Brain Dis*. 2016; 31(6): 1315-25.

Guerit JM, Amantini A, Fischer C, Kaplan PW, Mecarelli O, Schnitzler A, Ubiali E, Amodio P; members of the ISHEN commission on neurophysiological investigations. Neurophysiological investigations of hepatic encephalopathy: ISHEN practice guidelines. *Liver Int*. 2009; 29(6): 789-96.

Guevara M, Baccaro ME, Gómez-Ansón B, Frisoni G, Testa C, Torre A, Molinuevo JL, Rami L, Pereira G, Sotil EU, Córdoba J, Arroyo V, Ginès P. Cerebral magnetic

resonance imaging reveals marked abnormalities of brain tissue density in patients with cirrhosis without overt hepatic encephalopathy. *J Hepatol*. 2011; 55(3): 564-73.

Ishpekova BA, Christova LG, Alexandrov AS, Thomas PK. The electrophysiological profile of hereditary motor and sensory neuropathy-Lom. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005; 76(6): 875-8.

Iversen P, Sorensen M, Bak LK, Waagepetersen HS, Vafae MS, Borghammer P, et al. Low cerebral oxygen consumption and blood flow in patients with cirrhosis and an acute episode of hepatic encephalopathy. *Gastroenterology* (2009) 136: 863–71.

Kaplan PE, Kaplan C. Blink reflex: review of methodology and its application to patients with stroke syndromes. *Arch Phys Med Rehabil*. 1980; 61(1): 30-3. (abstract)

Kharbanda PS, Prabhakar S, Chawla YK, Das CP, Syal P. Peripheral neuropathy in liver cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2003; 18(8): 922-6.

Kimaid PA, Resende LA, Castro HA, Berzin F, Barreira AA. Blink reflex: comparison of latency measurements in different human races. *Arq Neuropsiquiatr*. 2002; 60(3-A): 563-5.

Kimura J, Lyon LW. Orbicularis oculi reflex in Wallenberg syndrome: alteration of the late reflex by lesion of the spinal tract and nucleus of the trigeminal nerve. *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1972; 35: 228–33.

Kimura J. Electrical elicited blink reflex in diagnosis of multiple sclerosis. Review of 260 patients over a seven-year period. *Brain*. 1975; 98: 413–26.

Kimura J. *Electrodiagnosis in diseases of nerve and muscle: principles and practice*. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2013.

Kugelberg E (1952). Cited by Compston A. Facial reflexes. *Brain*. 2005; 128: 235–6.

Malin JP. Trigeminal and facial nerve involvement in Charcot-Marie-Tooth disease. An electrodiagnostic study. *J Neurol*. 1981; 226(2): 101-9.

Nardone R, Taylor AC, Höller Y, Brigo F, Lochner P, Trinka E. Minimal hepatic encephalopathy: A review. *Neurosci Res* 2016 Oct;111:1-12.

Norenberg MD. The role of astrocytes in hepatic encephalopathy. *Neurochem Pathol*. 1987; 6(1-2): 13-33. (abstract)

Posner JB, Plum F. Plum and Posner's diagnosis of stupor and coma. 4th ed. New York: Oxford University Press; 2007.

Preston DC, Shapiro BE. Electromyography and neuromuscular disorders: clinical-electrophysiological correlations. 3rd ed. Elsevier; 2013.

Resende LA, Speciali JG. Hepatic encephalopathy: study of 50 cases. *Arq Neuropsiquiatr*. 1984; 42(4): 322-9.

Resende LA, Caramori JC, Kimaid PA, Barretti P. Blink reflex in end-stage-renal disease patients undergoing hemodialysis. *J Electromyogr Kinesiol*. 2002; 12(2):159-63.

Romeiro FG, Américo MF, Yamashiro FS, Caramori CA, Schelp AO, Santos AC, Silva GF. Acquired hepatocerebral degeneration and hepatic encephalopathy: correlations and variety of clinical presentations in overt and subclinical liver disease. *Arq Neuro-psiquiatr*. 2011; 69(3): 496-501.

Romeiro FG, Augusti L. Nutritional assessment in cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. *World J Hepatol*. 2015; 7(30): 2940-54.

Rovira A, Alonso J, Córdoba J. MR imaging findings in hepatic encephalopathy. *Am J Neuroradiol*. 2008; 29: 1612–21.

Rushworth G. Observations on blink reflexes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1962; 25(2): 93-108.

Schwendimann RN, Minagar A. Liver disease and Neurology. *Continuum (Minneapolis)*. 2017; 23(3, Neurology of Systemic Disease): 762–77.

Sherlock S, Dooley J. Doenças do fígado e do sistema biliar. 11a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 71-96.

Stawicka A, Zbrzeźniak J, Świdorska A, Kilisińska N, Świdorska M, Jaroszewicz J, Flisiak R. Clinical importance and diagnostic methods of minimal hepatic encephalopathy. *Pol Merkur Lekarski*. 2016;40(236):117-21.

Stewart CA, Malinchoc M, Kim WR, Kamath PS. Hepatic encephalopathy as a predictor of survival in patients with end-stage liver disease. *Liver Transpl*. 2007; 13(10): 1366-71.

Vaquero J, Butterworth RF. The brain glutamate system in liver failure. *J Neurochem*. 2006; 98(3): 661-9.

Vaquero J, Butterworth RF. Mechanisms of brain edema in acute liver failure and impact of novel therapeutic interventions. *Neurol Res*. 2007; 29(7): 683-90.

Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study Of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology* (2014) 60: 715–35.

Weissenborn K. Diagnosis of minimal hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol*. 2015; 5(1): S54-9.

Whitfield-Gabrieli S, Nieto-Castanon A. Conn: a functional connectivity toolbox for correlated and anticorrelated brain networks. *Brain Connect*. 2012; 2(3): 125-41.

Wiegand J, Berg T. The etiology, diagnosis and prevention of liver cirrhosis: part 1 of a series on liver cirrhosis. *Deutsch Arztebl Int.* 2013; 110: 85–91.

Wijdicks EF. Hepatic encephalopathy. *N Engl J Med.* 2016; 375: 1660–70.

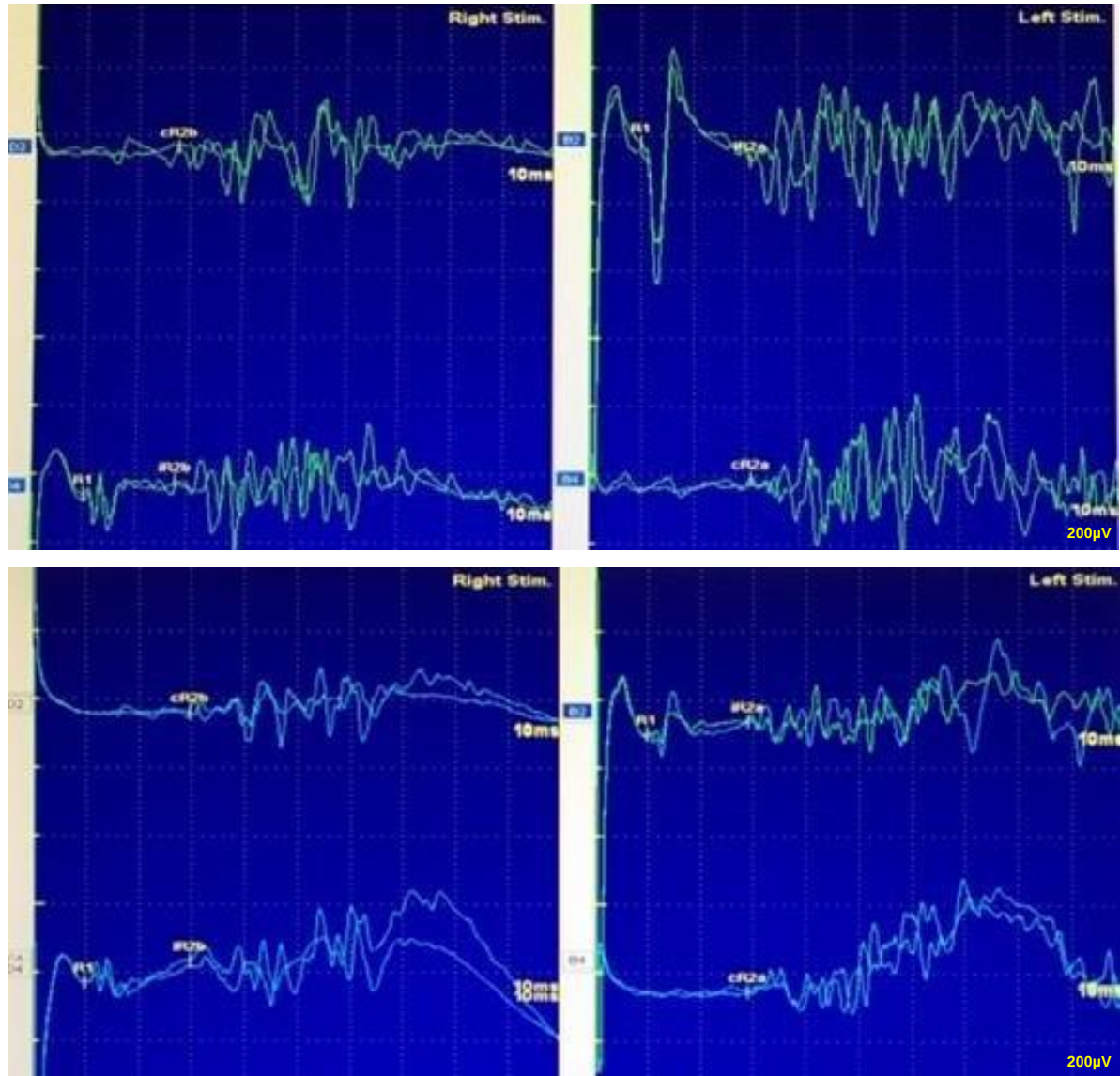
Zhan C, Chen H-J, Gao Y-Q, Zou T-X. Functional network-based statistics reveal abnormal resting-state functional connectivity in minimal hepatic encephalopathy. *Front. Neurol.* 2019; 10:33.

Zhang LJ, Zheng G, Zhang L, Zhong J, Wu S, Qi R, Li Q, Wang L, Lu G. Altered brain functional connectivity in patients with cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy: a functional MR imaging study. *Radiology.* 2012; 265(2): 528-36.

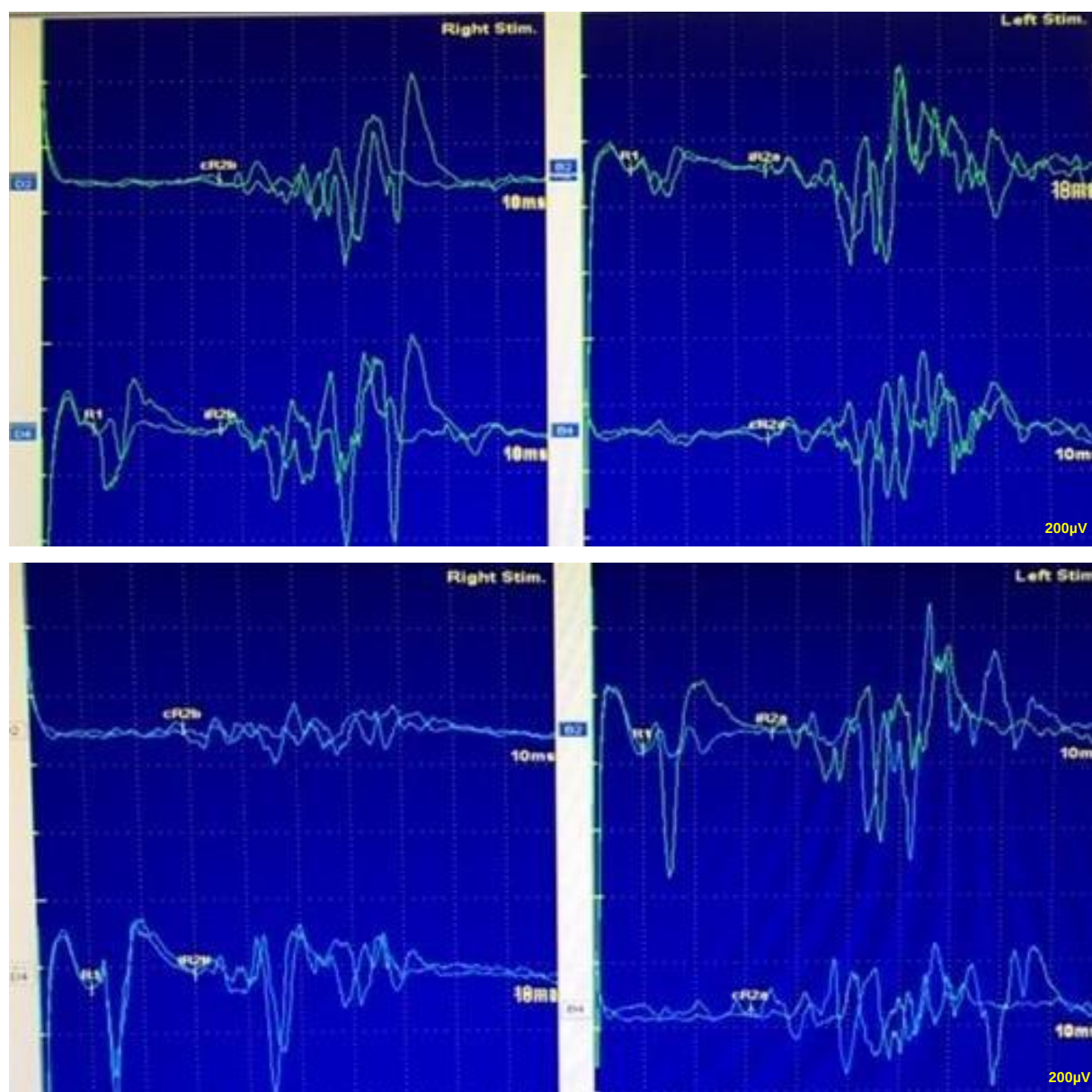
Zhang G, Cheng Y, Liu B. Abnormalities of voxel-based wholebrain functional connectivity patterns predict the progression of hepatic encephalopathy. *Brain Imaging Behav.* (2017) 11:784–96.

Anexo 1 – RTF de cada paciente

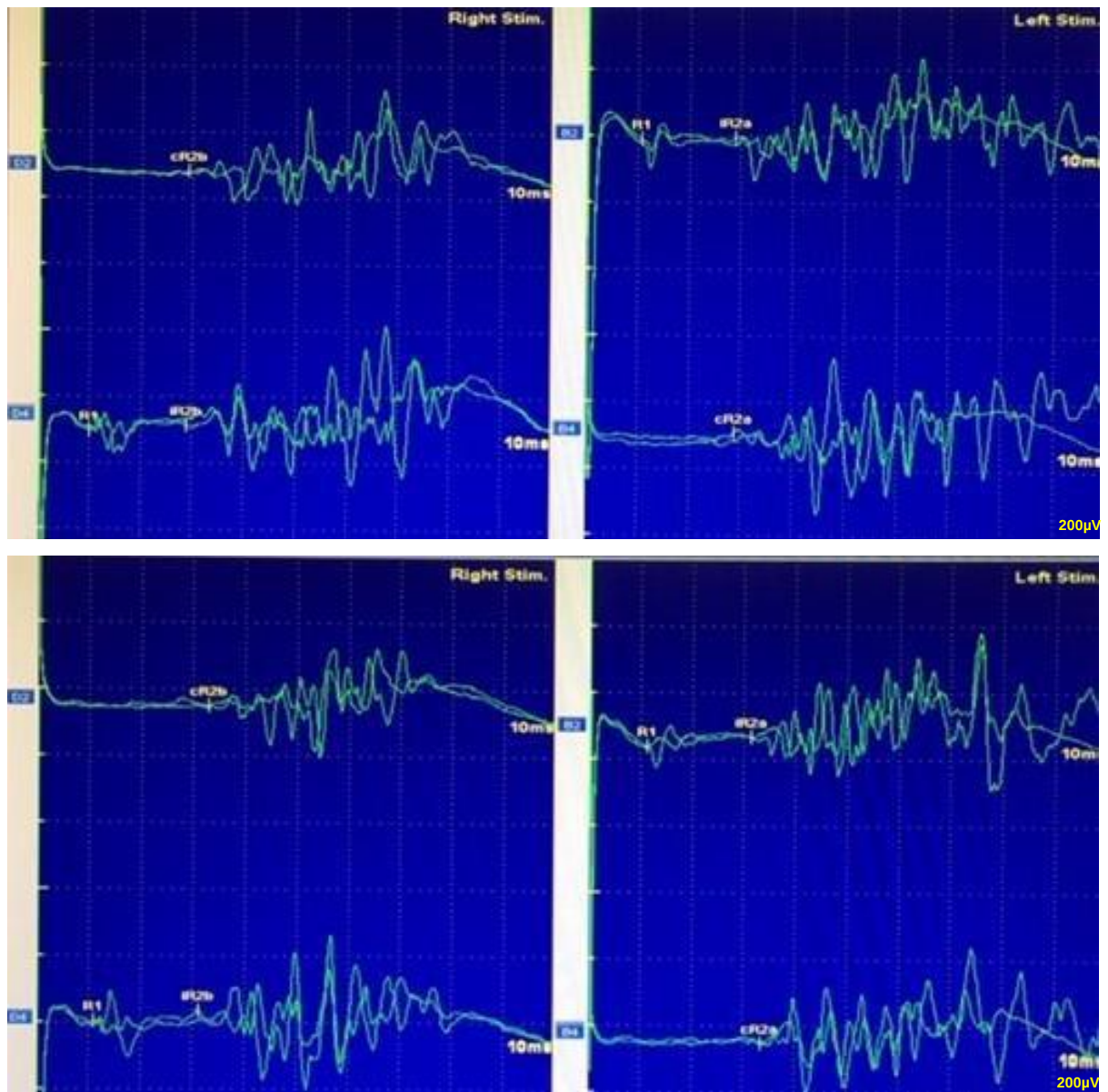
A



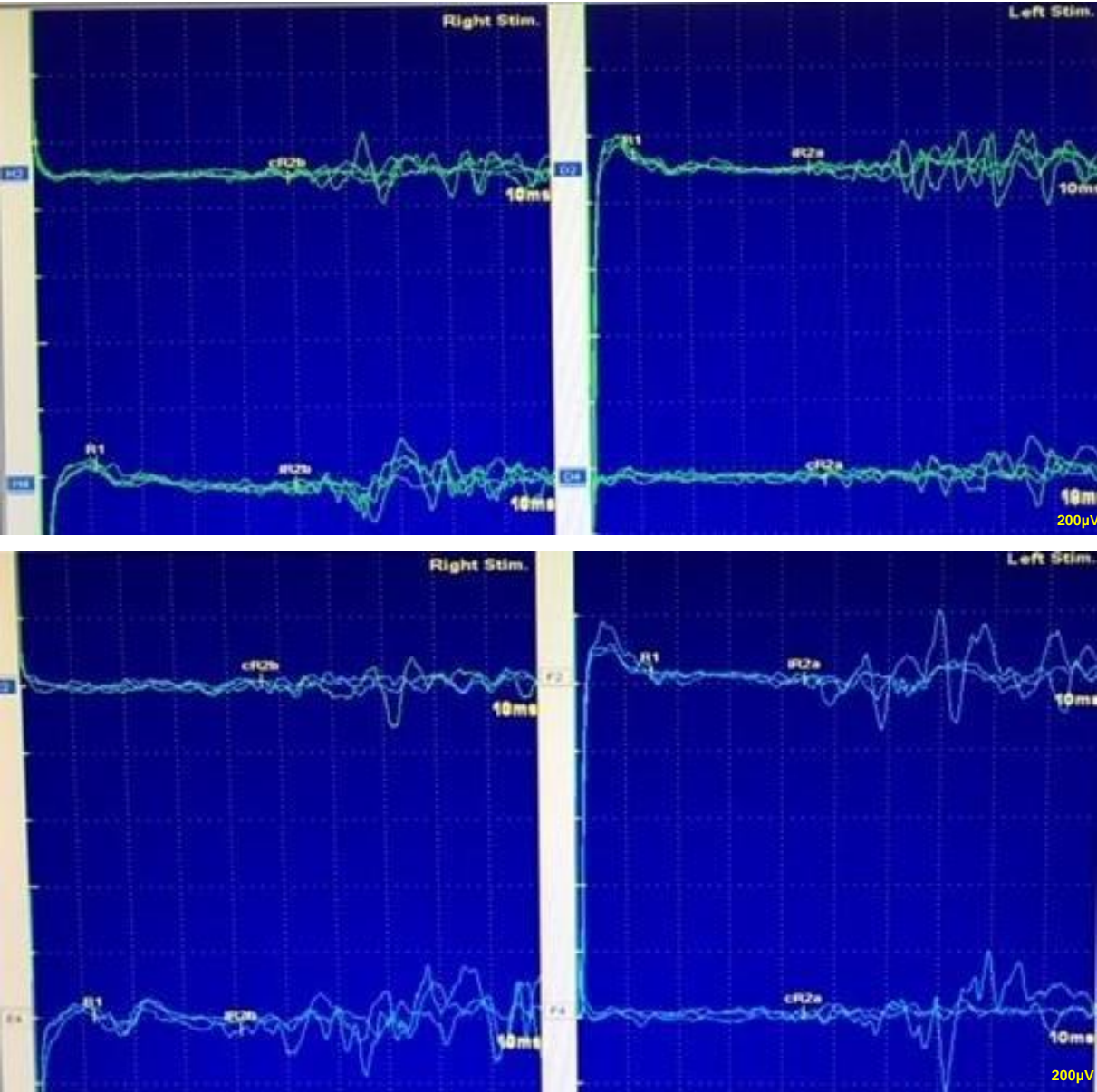
B



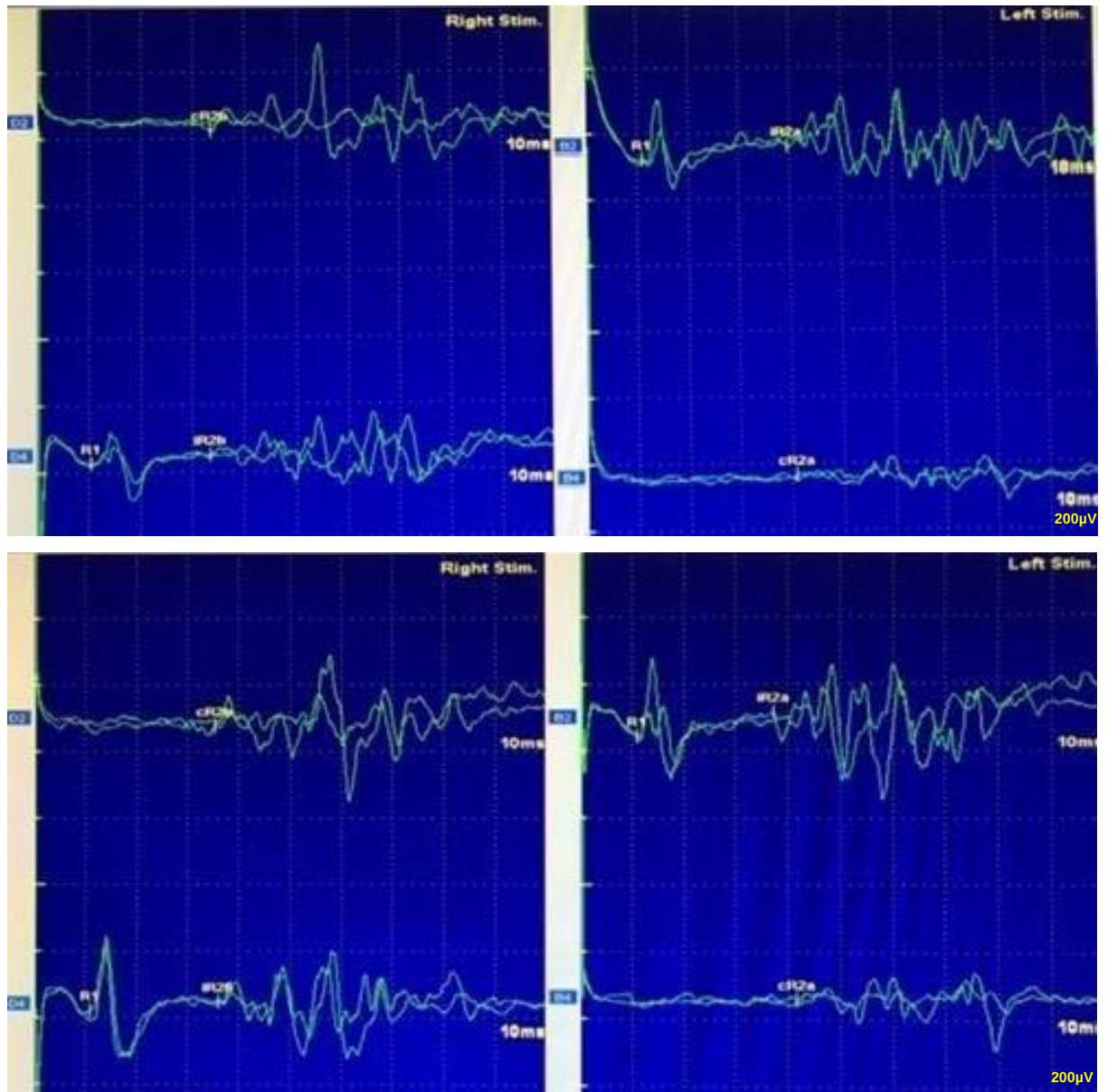
C



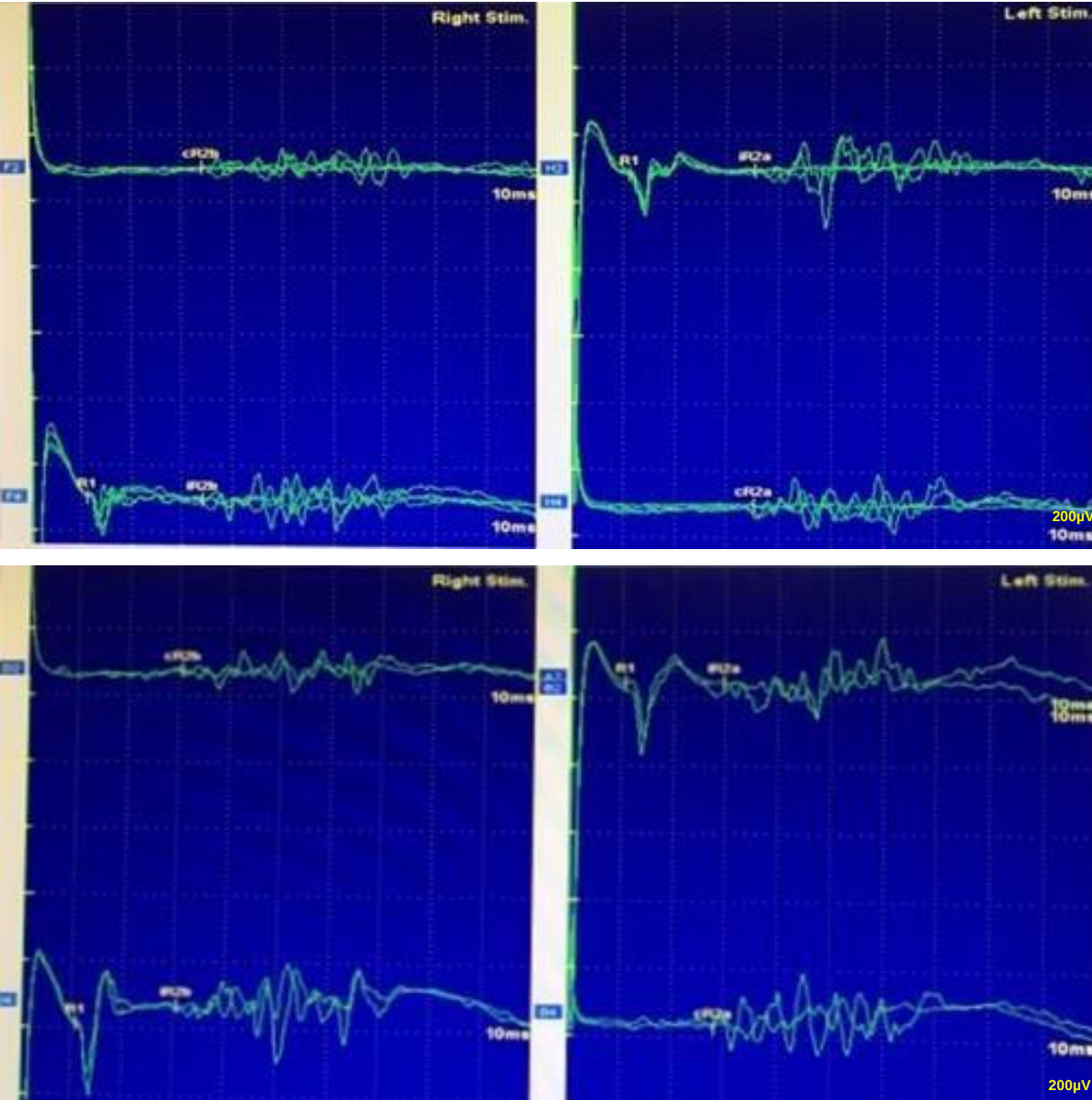
D



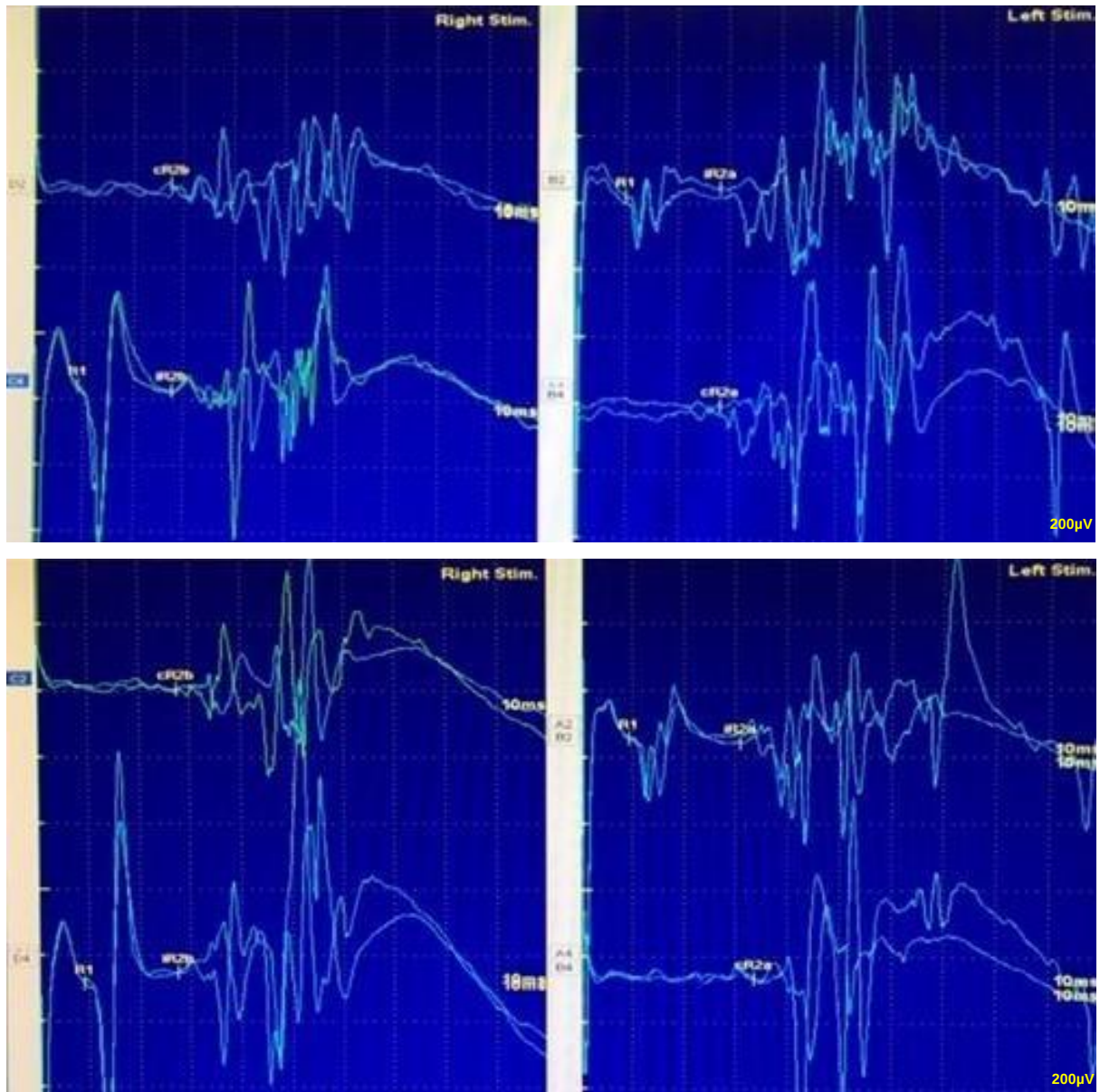
E



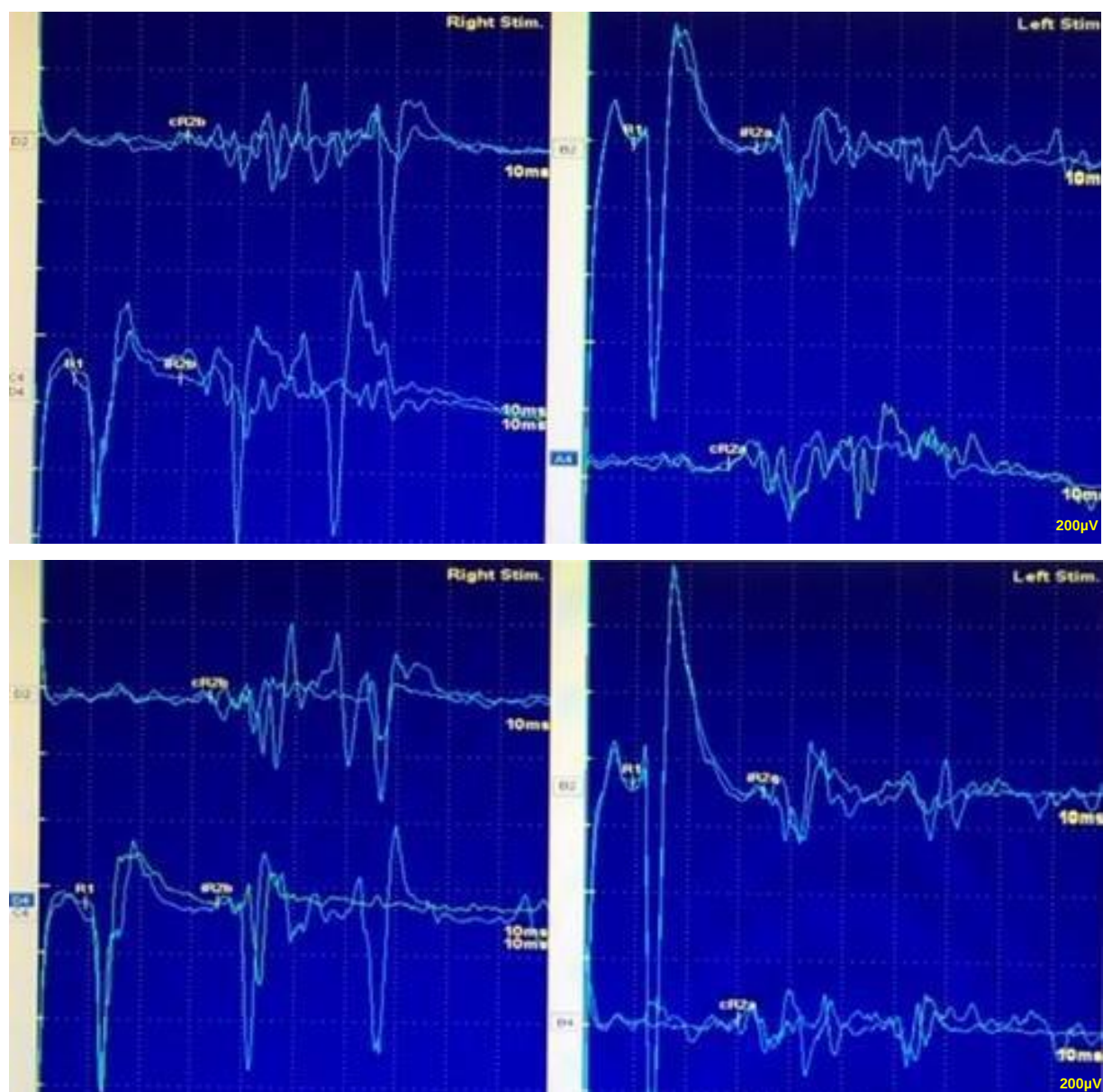
F



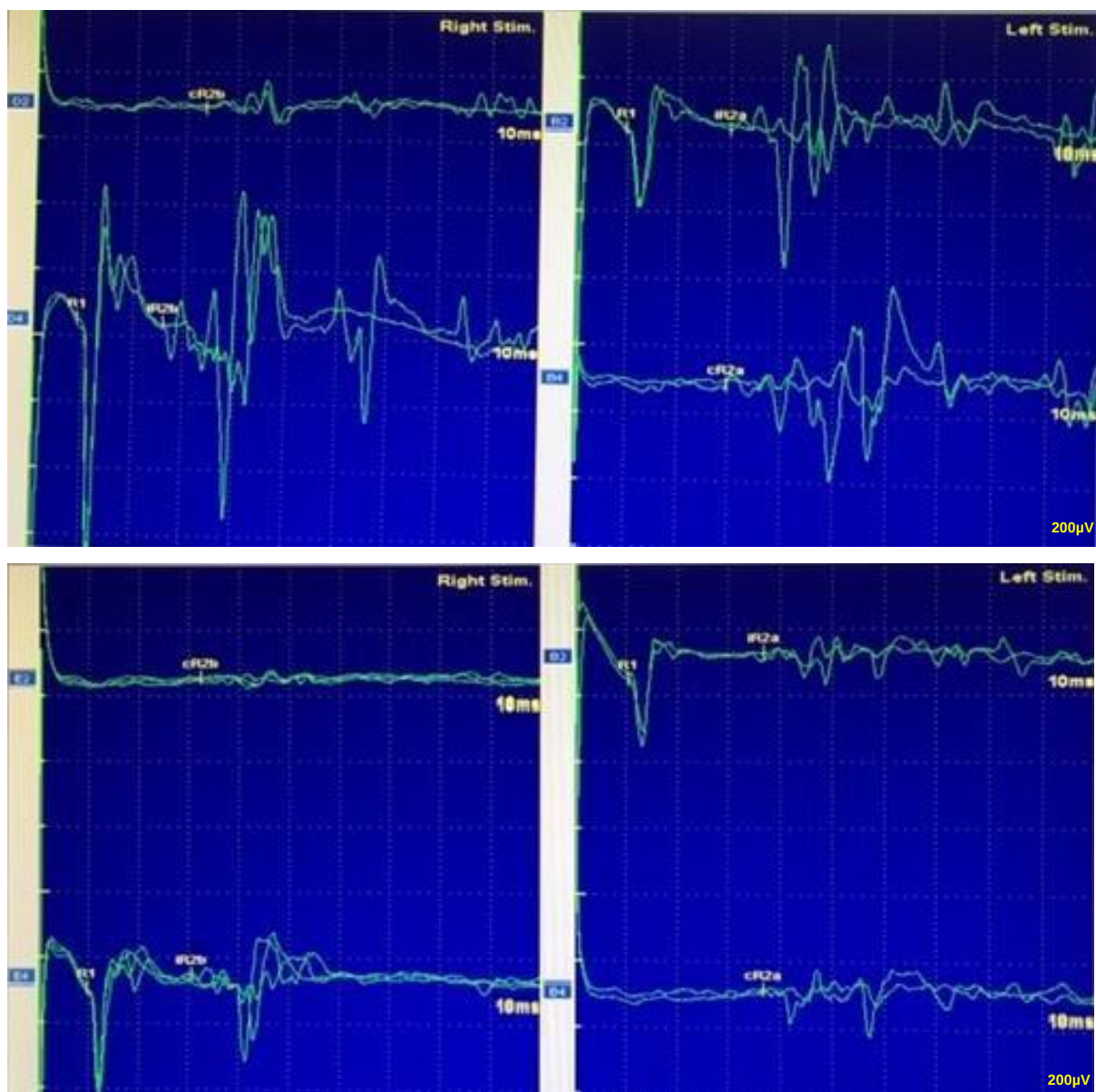
G



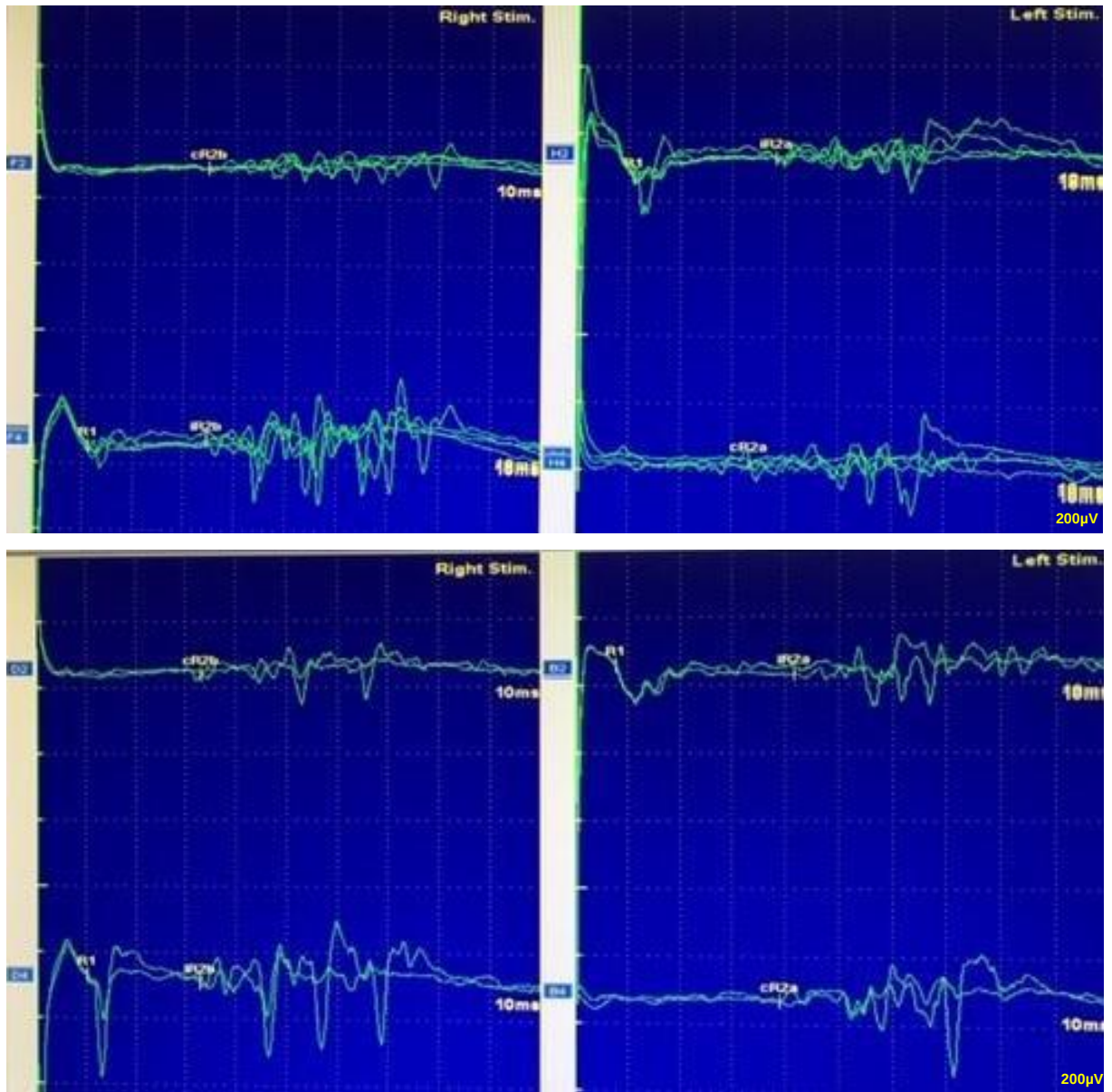
H



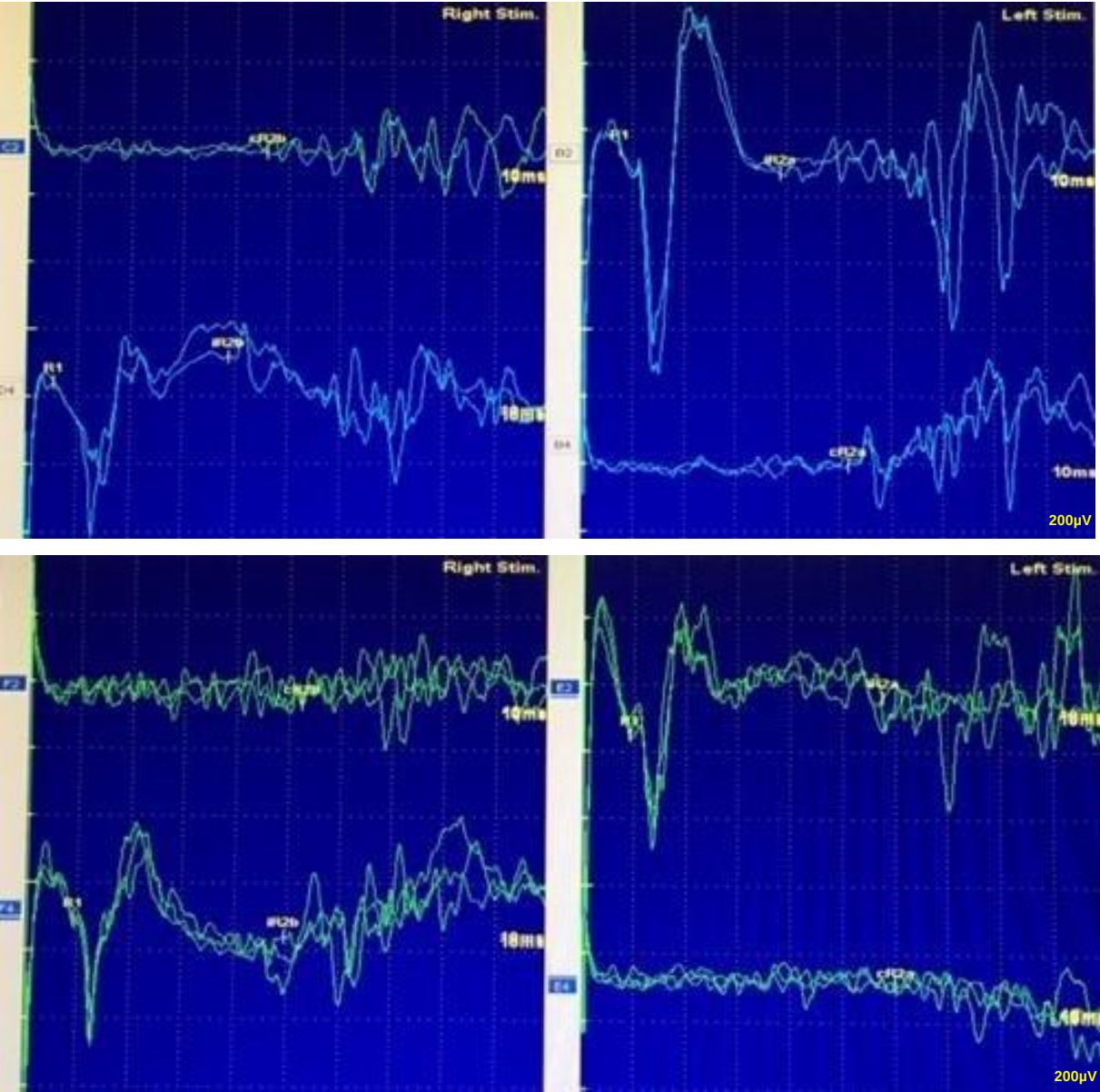
J



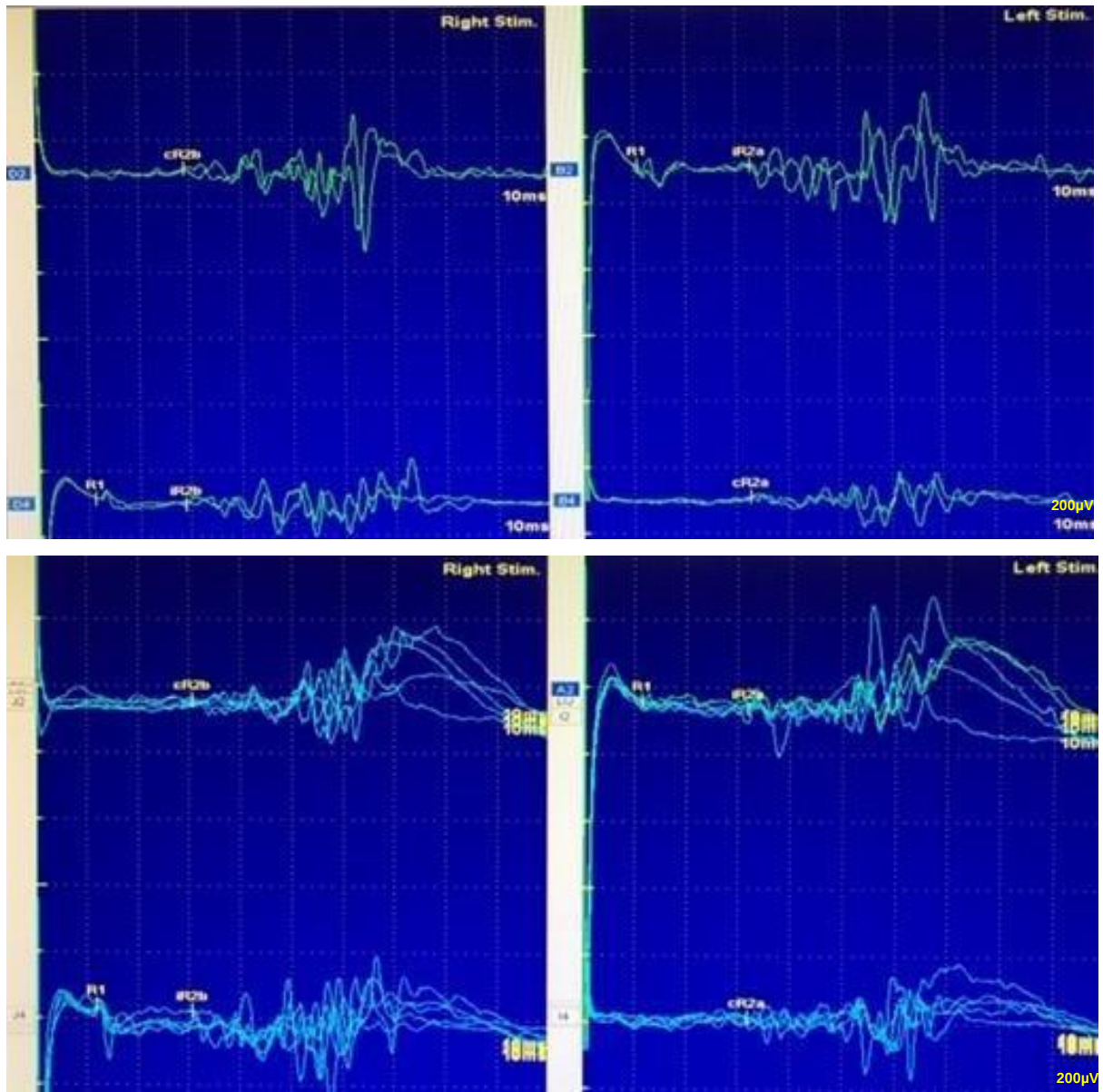
K



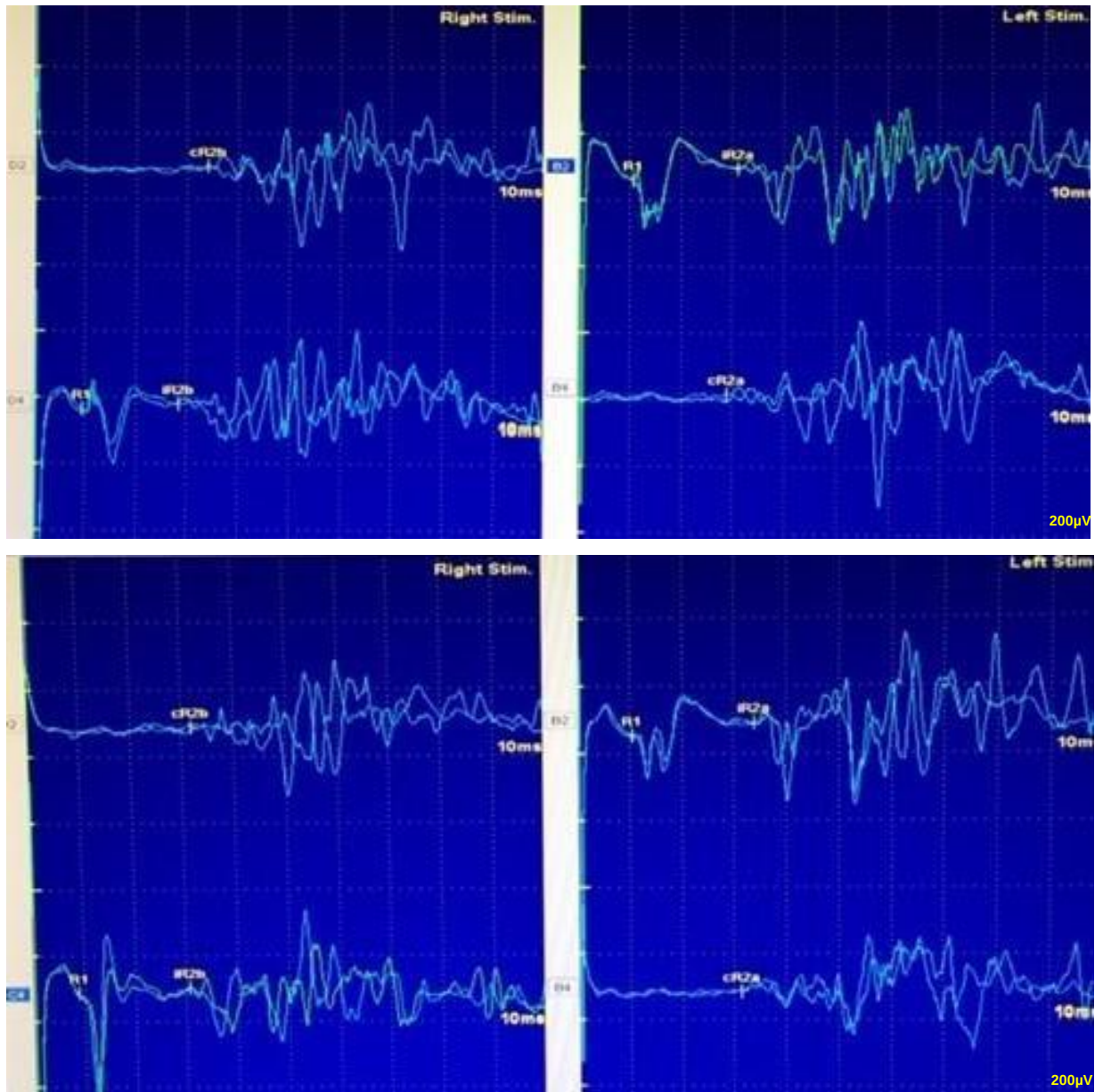
L



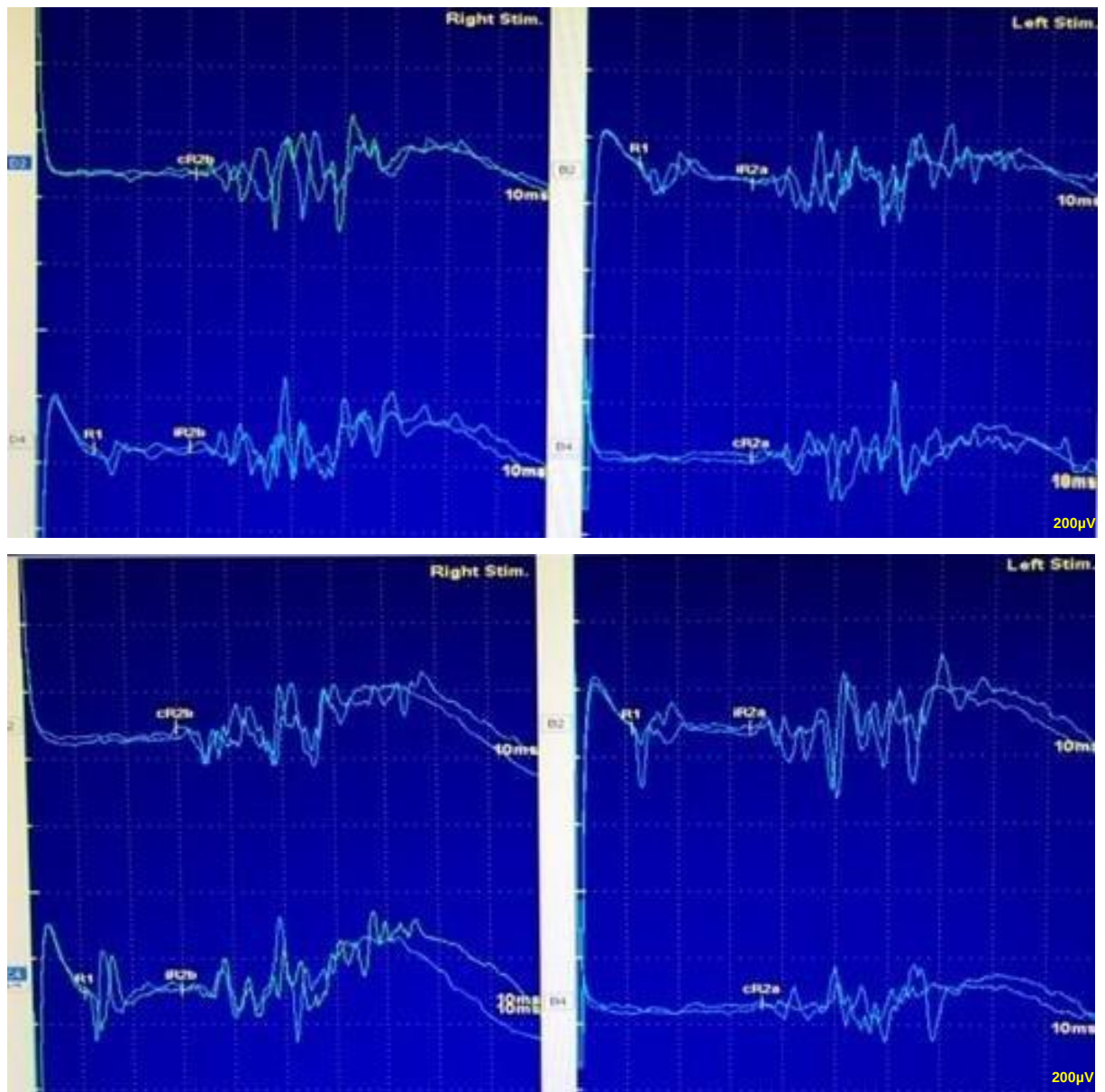
M



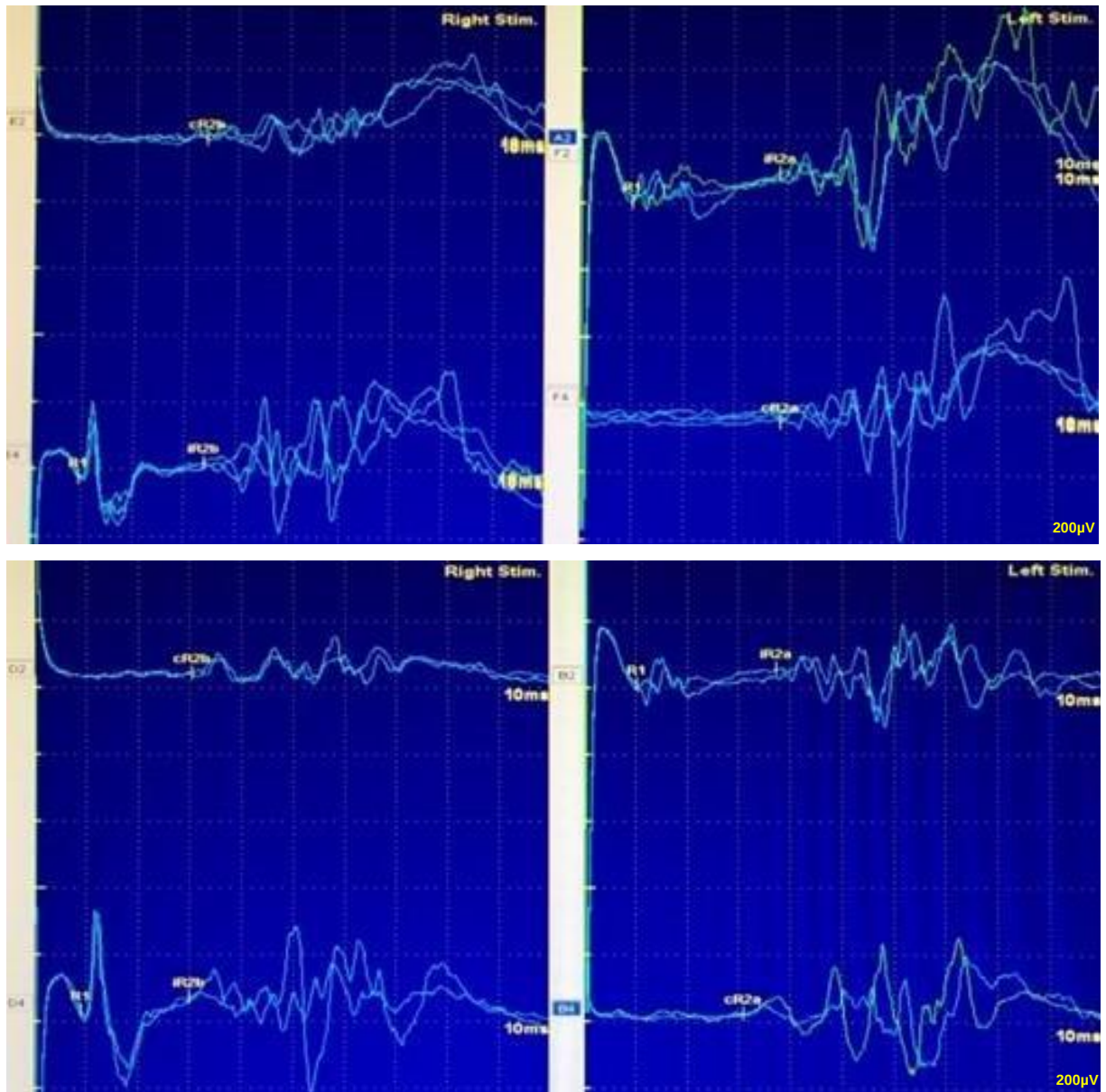
N



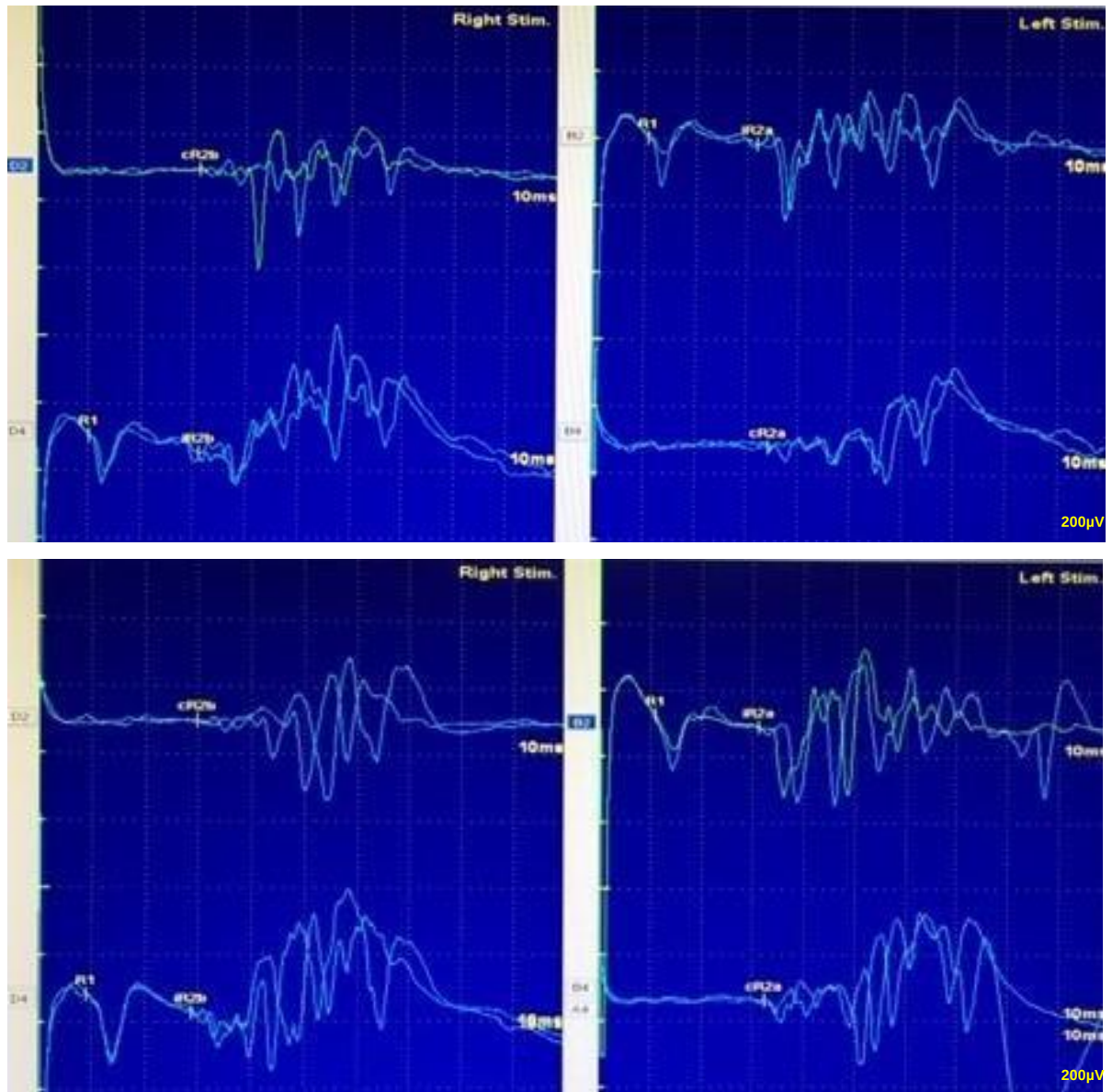
O



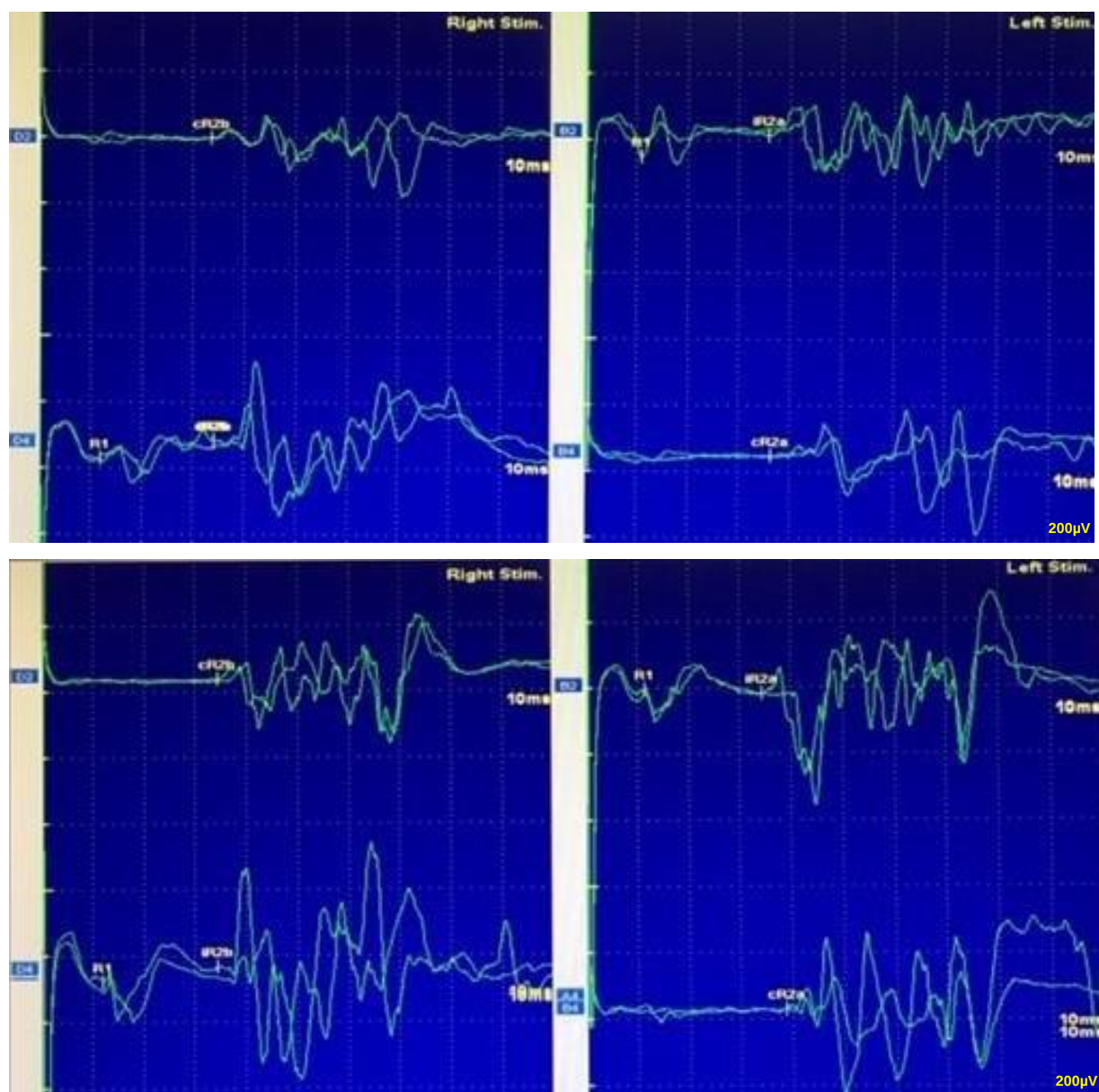
P



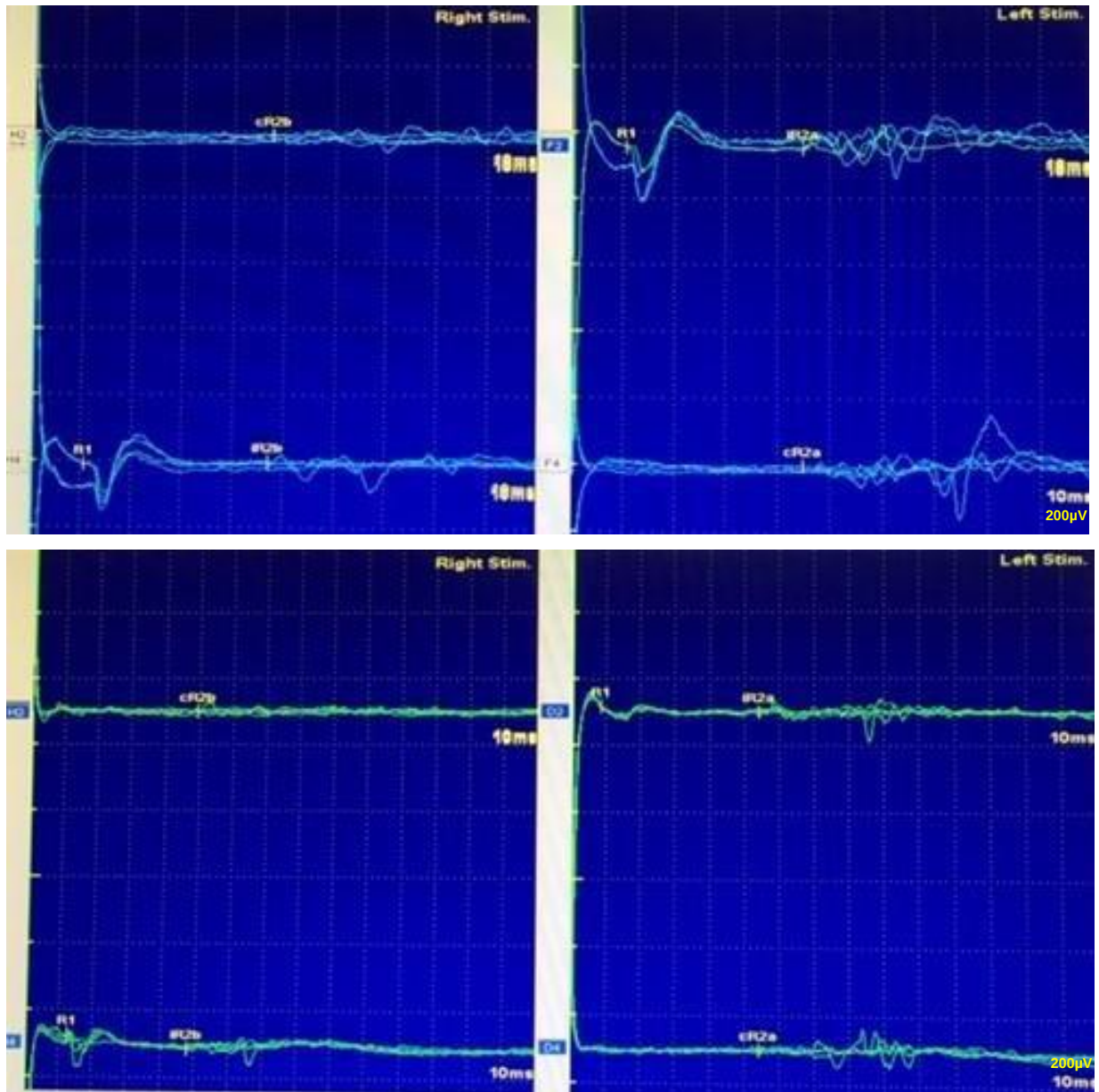
Q



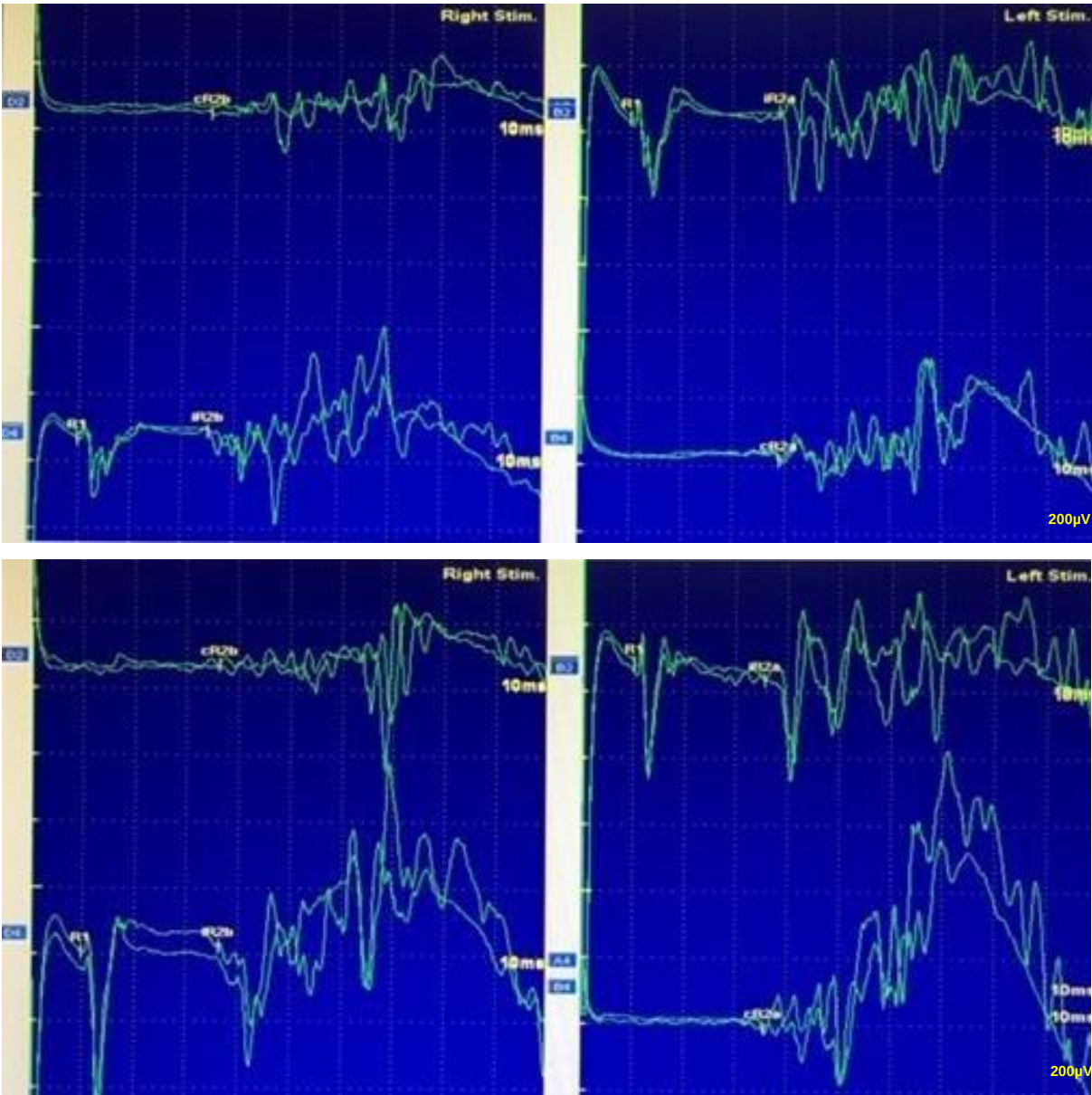
R



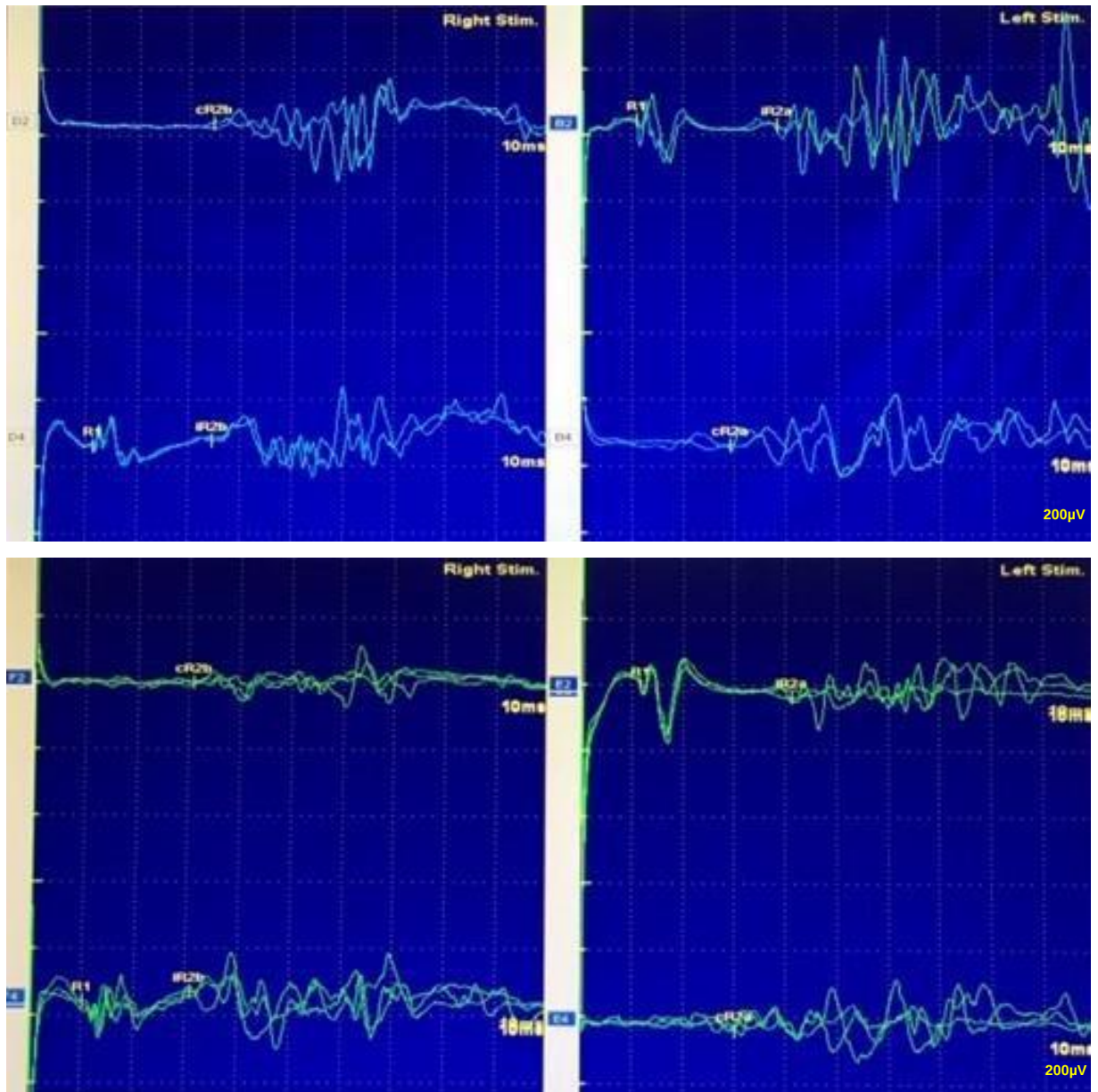
S



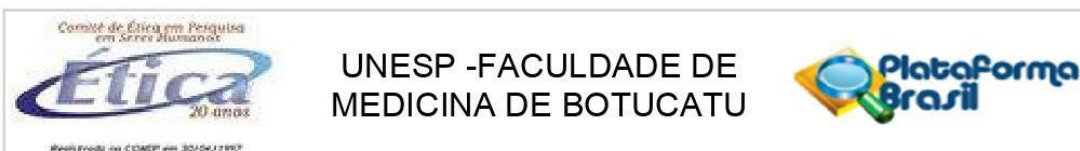
T



U



Anexo 2 – Parecer Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDOS NEUROFISIOLÓGICOS E DE IMAGEM NA CIRROSE HEPÁTICA

Pesquisador: Natália Fim

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 85569718.7.0000.5411

Instituição Proponente: Departamento Neurologia, Psicologia e Psiquiatria

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.648.667

Apresentação do Projeto:

A substância reticular ativadora ascendente (SRAA) é fundamental para regulação do nível de consciência. O reflexo trigêmeo-facial (RTF) é método quantitativo, acessível, não-invasivo, que avalia neurônios da região bulbo-pontina relacionados com a SRAA. Não foram encontrados estudos de RTF nas hepatopatias. No presente trabalho a correlação do estado funcional do tronco encefálico avaliado pelo RTF com outras alterações clínicas e de exames complementares poderá trazer importantes contribuições para o melhor conhecimento e avaliação de pacientes com cirrose hepática.

Devido a capacidade do reflexo trigêmeo-facial avaliar a integridade funcional da região bulbo-pontina, este método pode ser útil para avaliação e quantificação da encefalopatia hepática (EH) em pacientes com cirrose hepática (CH). Os resultados obtidos por esta técnica podem estar correlacionados com outros métodos funcionais e estruturais como o eletroencefalograma (EEG) e a Ressonância magnética (RM).

Após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana de nossa Instituição e preenchimento do termo de consentimento livre e esclarecido, serão selecionados pacientes com diagnóstico de CH, de etiologias e graus variáveis, atendidos no Ambulatório de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP (HC-FMB). Dados clínicos e laboratoriais serão coletados de prontuário e diretamente

com os pacientes e acompanhantes. Em seguida os pacientes serão submetidos a EEG,

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.648.667

eletroencefalografia / RTF e RM (conectividade funcional). Baseado em estudos anteriores serão incluídos 20 indivíduos controles saudáveis sem histórico de doenças neurológicas ou patologias sistêmicas e 20 pacientes. Os controles serão submetidos apenas ao exame de RM. Os critérios de inclusão serão: pacientes com idades de 20 a 59 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de CH com ou sem EH. Os critérios de exclusão serão: pacientes com diagnósticos e/ou suspeita clínica de encefalopatias por outras causas, estruturais ou metabólicas, uso de medicações sedativas, insuficiência renal, hipovitaminose B12, traumatismos crânio-encefálicos prévios, doenças neurológicas prévias, como acidentes vasculares encefálicos e outras doenças neuromusculares, evidências clínicas de lesão de nervo trigêmeo, facial, do tronco encefálico ou cirurgia craniofacial prévia. Também serão excluídos pacientes com doenças do sistema nervoso periférico no exame eletroencefalográfico.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Geral:

Investigar fisiopatologia da cirrose hepática com ou sem encefalopatia, por meio de avaliação multimodal neurofisiológica, reflexo trigêmeo-facial (RTF) e EEG, correlacionados a estudos de imagem.

Objetivos Específicos:

- Estudar respostas do RTF;
- Descrever alterações do EEG;
- Realizar estudos de imagem por RM, incluindo quantificações do volume cerebral e avaliação das redes neurais em repouso;
- Procurar correlação dos aspectos clínicos com achados da avaliação multimodal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Eletroencefalograma - possível incômodo com a presença de resquícios de pasta no couro cabeludo após o término do exame; Eletroencefalografia - possível sensação de desconforto durante a aplicação dos estímulos elétricos; Ressonância magnética - possível sensação de ansiedade por ter que se manter imóvel na primeira etapa do exame e seguir determinados comandos na segunda etapa. Os exames não serão realizados naqueles indivíduos com contra-indicações aos mesmos.

Benefícios:

Endereço: Chácara Butignolli, s/n		CEP: 18.618-970
Bairro: Rubião Junior		
UF: SP	Município: BOTUCATU	
Telefone: (14)3880-1609	E-mail: cep@fmb.unesp.br	



Continuação do Parecer: 2.648.667

Possível avaliação mais aprofundada e diagnóstico mais precoce do acometimento do sistema nervoso central em pacientes com hepatopatias.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta título adequado, objetivos claros, metodologia bem descrita e critérios de inclusão e de exclusão. A pesquisa é relevante, pois a avaliação mais aprofundada poderá permitir o diagnóstico mais precoce do acometimento do sistema nervoso central nos pacientes com cirrose hepática.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos de apresentação obrigatória:

- Folha de rosto: preenchida corretamente;
- Documento de Anuência Institucional da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB): anexado;
- Informações básicas do projeto e projeto completo: adequados e completos;
- TCLEs (grupo paciente e grupo controle) : elaborados na forma de convite, linguagem clara, explicam os objetivos da pesquisa e os procedimentos que serão realizados, garantem o sigilo, descrevem os benefícios, apresentam endereço, telefones e horários de funcionamento do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB - UNESP. Conforme sugerido, foram acrescentados endereços, telefones e emails do pesquisador e do orientador nos TCLEs (grupo paciente e grupo controle). Os TCLEs explicam os procedimentos que serão realizados, e como sugerido os possíveis riscos relacionados aos exames foram melhor descritos. No TCLE (grupo controle), conforme sugerido, foram retirados os exames de eletroencefalograma e eletroneuromiografia, pois os voluntários do grupo controle serão submetidos apenas ao exame de ressonância magnética.
- Cronograma de execução: programado para iniciar em 02/07/2018.

Recomendações:

- Após a realização do projeto de pesquisa, enviar o Relatório Final de Atividades via Plataforma Brasil.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto de pesquisa encontra-se APROVADO.

Considerações Finais a critério do CEP:

Conforme deliberação do Colegiado em reunião ordinária do Comitê de Ética em Pesquisa da FMB/UNESP, realizada em 07 de maio de 2018, o projeto encontra-se APROVADO, sem necessidade de envio à CONEP. No entanto, informamos que ao final da execução da pesquisa, seja enviado o "Relatório Final de

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

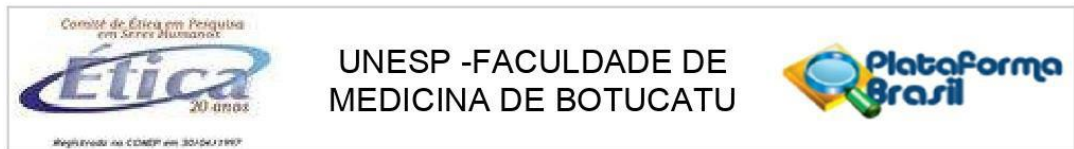
CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br



Continuação do Parecer: 2.648.667

Atividades", na forma de "Notificação", via sistema Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1032569.pdf	23/04/2018 17:33:19		Aceito
Outros	oficio_explicativo.docx	23/04/2018 17:31:47	Natália Fim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_consentimento_controles.docx	23/04/2018 16:30:40	Natália Fim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_consentimento_pacientes.docx	23/04/2018 16:30:29	Natália Fim	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Estudos_neurofisiologicos_e_de_image_m_na_cirroze_hepatica.pdf	19/02/2018 15:23:54	Natália Fim	Aceito
Outros	TermoDeAnuencialInstitucional.pdf	19/02/2018 15:12:45	Natália Fim	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRostoAssinada.pdf	19/02/2018 15:11:55	Natália Fim	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

BOTUCATU, 10 de Maio de 2018

Assinado por:
SILVANA ANDREA MOLINA LIMA
(Coordenador)

Endereço: Chácara Butignolli, s/n

Bairro: Rubião Junior

CEP: 18.618-970

UF: SP

Município: BOTUCATU

Telefone: (14)3880-1609

E-mail: cep@fmb.unesp.br

Anexo 3 – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
RESOLUÇÃO 466/2012
GRUPO PACIENTES

Convido o (a) senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “Estudos Neurofisiológicos e de Imagem na Cirrose Hepática”, que será desenvolvido por mim, Natália de Castro Fim Nakao, médica neurologista, sob orientação do Professor Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Temos o intuito de avaliar o funcionamento do sistema nervoso neste grupo de pacientes, por meio de exames de eletroencefalograma, eletroneuromiografia e ressonância magnética. O eletroencefalograma é realizado por meio da colocação de eletrodos na superfície da cabeça, com duração de 20 minutos. A eletroneuromiografia será adaptada, com estudos de condução, os quais necessitam de estímulo do nervo periférico com pequenos “choquinhos”, obtendo então uma resposta do mesmo. Em seguida, prosseguiremos para estudos de nervos com estímulo na face e captação com eletrodos colocados superficialmente na mesma. Não serão utilizadas agulhas. Por fim, a ressonância magnética será realizada aos finais de semana, quando o (a) senhor (a) permanecerá deitado em maca para aquisição das imagens inicialmente em repouso e, após, desempenhando determinadas funções.

Solicito também seu consentimento para consultar prontuário médico, a fim de coletar outras informações lá contidas, como referentes a consultas feitas anteriormente pelo (a) senhor (a).

Além disso, o (a) senhor (a) responderá a um pequeno questionário sobre determinados fatores clínicos.

Os resultados poderão beneficiar o (a) senhor (a) e ainda outros pacientes, conforme as informações obtidas puderem ajudar no diagnóstico e consequente tratamento precoce dos quadros neurológicos relacionados à doença hepática.

Quanto aos riscos, não há, até o momento, documentação de efeitos adversos significativos do eletroencefalograma, da eletroneuromiografia e da ressonância magnética no corpo humano de pessoas já previamente selecionadas (serão excluídos aqueles com contra-indicações a qualquer um dos exames, conforme resposta em questionário previamente referido). Ainda assim, é importante pontuar alguns detalhes, como o fato de poder haver resquícios da pasta utilizada no eletroencefalograma para fixar os eletrodos ao couro cabeludo,

podendo ser necessário lavar os cabelos após. Já quanto a eletroneuromiografia, pode causar algum desconforto durante a aplicação dos “choquinhos”.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo na continuidade do seu tratamento.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que 1 via será entregue ao (a) senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609, que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17 horas, na Chácara Butignolli s/nº, em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo com o qual os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem, no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Participante da pesquisa

Pesquisador – Natália de Castro Fim Nakao
UNESP - Campus de Botucatu
Distrito Rubião Júnior, s/n - Botucatu, SP
(14) 3811-6000
nati_fim@hotmail.com

Orientador - Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting
UNESP - Campus de Botucatu
Distrito Rubião Júnior, s/n - Botucatu, SP
(14) 3811-6000
betting@fmb.unesp.br

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)
RESOLUÇÃO 466/2012
GRUPO CONTROLE

Convido o (a) senhor (a) para participar do Projeto de Pesquisa intitulado “Estudos Neurofisiológicos e de Imagem na Cirrose Hepática”, que será desenvolvido por mim, Natália de Castro Fim Nakao, médica neurologista, sob orientação do Professor Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting, da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP.

Sua participação nesta pesquisa se dará por ser uma pessoa saudável, sem nenhum tipo de doença. Todos os dados que obtivermos com sua participação serão usados meramente para compararmos com os dados de outros participantes que possuem a doença que estamos estudando.

Temos o intuito de avaliar o funcionamento do sistema nervoso em pacientes com doença hepática, por meio de exames complementares, cujos resultados serão comparados aos obtidos em indivíduos saudáveis, como o (a) senhor (a). O exame ao qual o senhor (a) será submetido (a) é o de ressonância magnética, que será realizada aos finais de semana, quando o (a) senhor (a) permanecerá deitado em maca para aquisição das imagens inicialmente em repouso e, após, desempenhando determinadas funções.

Solicito também seu consentimento para consultar prontuário médico, a fim de coletar outras informações relevantes lá contidas.

Além disso, o (a) senhor (a) responderá a um pequeno questionário antes da realização dos exames.

Quanto aos riscos, não há, até o momento, documentação de efeitos adversos significativos da ressonância magnética no corpo humano de pessoas já previamente selecionadas (serão excluídos aqueles com contra-indicações, conforme resposta em questionário previamente referido).

O (A) senhor (a) não terá nenhum benefício específico em participar desta pesquisa, porém poderá ajudar outras pessoas, conforme os resultados obtidos.

Fique ciente de que sua participação neste estudo é voluntária e que mesmo após ter dado seu consentimento para participar da pesquisa, você poderá retirá-lo a qualquer momento, sem qualquer penalidade.

Este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido será elaborado em 2 vias de igual teor, sendo que 1 via será entregue ao (a) senhor (a) devidamente rubricada, e a outra via será arquivada e mantida pelos pesquisadores por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Qualquer dúvida adicional você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa através dos telefones (14) 3880-1608 ou 3880-1609, que funciona de 2ª a 6ª feira das 8.00 às 11.30 e das 14.00 às 17 horas, na Chácara Butignolli s/nº, em Rubião Júnior – Botucatu - São Paulo.

Após terem sido sanadas todas minhas dúvidas a respeito deste estudo, CONCORDO EM PARTICIPAR de forma voluntária, estando ciente que todos os meus dados estarão resguardados através do sigilo com o qual os pesquisadores se comprometeram. Estou ciente que os resultados desse estudo poderão ser publicados em revistas científicas, sem, no entanto, que minha identidade seja revelada.

Botucatu, ____/____/____

Pesquisador

Participante da pesquisa

Pesquisador – Natália de Castro Fim Nakao
UNESP - Campus de Botucatu
Distrito Rubião Júnior, s/n - Botucatu, SP
(14) 3811-6000
nati_fim@hotmail.com

Orientador - Luiz Eduardo Gomes Garcia Betting
UNESP - Campus de Botucatu
Distrito Rubião Júnior, s/n - Botucatu, SP
(14) 3811-6000
betting@fmb.unesp.br

