



INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

**Ressonância Magnética funcional -
mapeamento do córtex motor através da
técnica BOLD**

Patrícia Ribeiro Nunes

Doutora Sandra Tecelão, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Doutora Rita Nunes, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Mestrado em Radiações Aplicadas às Tecnologias da Saúde

Lisboa, 2012

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

Ressonância Magnética funcional - mapeamento do córtex motor através da técnica BOLD

Patrícia Ribeiro Nunes

Doutora Sandra Tecelão, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Doutora Rita Nunes, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Júri:

Mestre Margarida Ribeiro, Prof^a. Adjunta - Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa – ESTeSL;

Doutora Sónia Isabel Gonçalves – Prof^a. Auxiliar Convidada – Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra;

Doutor Luís Freire – Prof. Adjunto – Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa – ESTeSL.

Mestrado em Radiações Aplicadas às Tecnologias da Saúde

Lisboa, 2012

Esta dissertação não está de acordo com o Acordo Ortográfico.

Agradecimentos

A realização deste Projecto está longe de ser um trabalho solitário. Gostaria de expressar o meu agradecimento a todos aqueles que me acompanharam e contribuíram para que este estudo fosse hoje uma realidade.

Em primeiro lugar quero agradecer à Professora Sandra Tecelão e à Professora Rita Nunes, por todo o saber, ajuda, conselhos, o modo como sempre me apoiaram e incentivaram, e acima de tudo pela paciência e simpatia com que sempre me receberam.

Gostaria de agradecer à Dra. Ana Braz, Médica Neurorradiologista, ao Dr. Herculano Carvalho, Médico Neurocirurgião, e à Técnica Coordenadora Carla Sá, da Clínica Quadrantes, pelo apoio dado durante a realização deste Projecto.

Gostaria também de agradecer a todos os voluntários, família, amigos e colegas de trabalho, que de forma simpática colaboraram para a realização deste Projecto.

Não poderia esquecer das colegas de Mestrado, com quem partilhei muitas dúvidas e angústias durante a elaboração deste Projecto.

O meu agradecimento final é para a minha Família, que apesar de longe, foi sempre a primeira a me apoiar e incentivar, esteve sempre presente nos momentos de maior desalento.

A todos, muito Obrigado!

RESUMO

A Ressonância Magnética funcional (RMf) é hoje uma ferramenta fundamental na investigação funcional do cérebro humano, quer em indivíduos saudáveis quer em pacientes com patologias diversas. É uma técnica complexa que necessita de uma aplicação cuidada e rigorosa, e uma compreensão dos mecanismos biofísicos a ela subjacentes, de modo a serem obtidos resultados fiáveis e com melhor aceitação clínica.

O efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*) é o método mais utilizado para medir e estudar a actividade cerebral e baseia-se nas alterações das propriedades magnéticas da molécula hemoglobina.

Com este Projecto propomo-nos otimizar um protocolo de RMf realizada com o efeito BOLD, em voluntários saudáveis, de modo a que este possa ser aplicado em futuros estudos de pacientes com patologias. Pretende-se identificar o córtex motor através de um determinado paradigma experimental. A optimização do protocolo foi feita manipulando diferentes parâmetros (TE e paradigma). Foram estudados 34 voluntários saudáveis divididos em 2 grupos de estudo, dos quais 15 realizaram o protocolo BOLD 1 e 19 realizaram o protocolo BOLD 2, com a variação dos parâmetros respectivos. Para as várias condições, foram comparados os volumes da região activada e os níveis de activação obtidos.

O objectivo foi atingido, tendo sido observada activação no córtex motor em todos os voluntários estudados. Quanto à optimização do protocolo, não foram detectadas diferenças estatisticamente significativas quando comparados os resultados obtidos com diferentes parâmetros de aquisição.

Perante estes resultados, o protocolo foi optimizado tendo em conta o nível de conforto reportado pelos voluntários. Uma vez que se pretende aplicar este mesmo protocolo no estudo de pacientes, este factor torna-se particularmente relevante.

PALAVRAS-CHAVE

BOLD, Córtex motor, paradigma, Ressonância Magnética funcional (RMf), TE (tempo de eco).

ABSTRACT

Nowadays functional magnetic resonance imaging (fMRI) is a fundamental tool for the research of human brain function of healthy subjects or patients with several pathologies. It is a complex technique that requires a careful and rigorous application, and an understanding of its biophysical mechanisms, so that reliable results can be obtained with better clinical acceptance.

The BOLD effect (Blood oxygenation Level Dependent) is the most widely used method to measure and study the brain activity and is based on changes in magnetic properties of the hemoglobin molecule.

The aim of this project was to optimize a BOLD fMRI protocol on healthy subjects, so it can be applied in future studies of patients with pathologies. We want to be able to identify the motor cortex using a specific task. To optimize the protocol several parameters (TE and activation paradigm) were manipulated. We studied 34 healthy volunteers divided into two study groups, of which 15 underwent protocol BOLD 1 and 19 underwent protocol BOLD 2, varying either the TE or the structure of the paradigm. For different set of tested conditions, we compared the volumes of the active region and the activation levels obtained.

The first goal was achieved, with motor cortex activation observed for all studied volunteers. Regarding the optimization of the protocol, no statistically significant differences were detected when comparing the results obtained with different acquisition parameters.

Given these results, the protocol has been optimized taking into account the level of comfort reported by the volunteers. As we want to apply this same protocol for the study of patients, this factor becomes particularly relevant.

KEYWORDS

BOLD, motor cortex, paradigm, functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI), TE (echo time)

ÍNDICE

II-INDICE DE FIGURAS	IX
III-INDICE DE TABELAS	X
IV-LISTA DE SIGLAS	XI
Capítulo 1 – Introdução	1
1.1 – Efeito de contraste BOLD	1
1.2 – Organização	2
Capítulo 2 - RM funcional e o efeito contraste BOLD	4
2.1 – Conceitos	4
2.1.1- RM funcional	4
2.1.2 – Efeito de contraste BOLD	5
2.1.3 - Sequência de Aquisição	7
2.1.4 – Paradigma	7
2.1.5 – Neuroanatomia	9
Capítulo 3 - Metodologia	12
3.1- Recolha de dados	12
3.1.1 – Equipamento utilizado	12
3.1.2 - Caracterização da amostra	12
3.1.3 - Procedimento exame	13
3.2 – Otimização do efeito de contraste BOLD	15
3.2.1 – Protocolo	15
3.3 - Processamento de imagem	18
3.3.1 – Processamento dos dados funcionais no <i>FSL</i>	19
3.3.2 – Processamento dos dados funcionais na <i>Workstation</i> Leonardo	21
3.4 - Ferramenta de análise estatística	22
Capítulo 4 – Resultados	24
4.1 – Resultados do paradigma	25

4.2 – Resultados do TE	30
4.3 – Resultados do paciente	35
4.4 – Resultados dos dados complementares	36
Capítulo 5 - Discussão/Conclusão	38
5.1 – Variação tipo de paradigma	38
5.2 – Variação TE	41
Capítulo 6 - Pesquisa Futura	44
Capítulo 7 - Referencias Bibliográficas	46
Anexo I	49
Anexo II	50

III-INDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros técnicos utilizados para a aquisição dos protocolos	16
Tabela 2 – Parâmetros dos paradigmas	17
Tabela 3 - Resultados estatísticos obtidos da variação do paradigma	29
Tabela 4 - Resultados estatísticos obtidos da variação do TE	34

II-INDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Principio do efeito BOLD	6
Figura 2 – Diagrama do paradigma em blocos (A – activo, R - repouso)	8
Figura 3 - Representação dos lobos cerebrais	9
Figura 4 – Representação anatómica córtex motor	10
Figura 5 – Localização das referências anatómicas	11
Figura 6 – Esquema representativo dos vários paradigmas	18
Figura 7 – Sala de RM	15
Figura 8 – Imagens RM ponderadas em T1 de alta resolução	24
Figura 9 – Imagens de RM eco de gradiente – 2 tempos de eco diferentes	24
Figura 10 – Mapa de activação obtidos no FSL	26
Figura 11 – Mapa de activação obtidos na workstation Leonardo	27
Figura 12 – Mapa de activação obtidos no FSL	31
Figura 13 – Mapa de activação obtidos na workstation Leonardo	32
Figura 14 – Mapa de activação obtido na workstation Leonardo – mapeamento córtex do córtex motor do paciente com MAV	35
Figura 15 – Mapa de activação obtido no FSL – mapeamento do córtex motor do paciente com MAV	35
Figura 16 – Mapa de activação obtido na workstation Leonardo – Mapeamento do córtex motor da língua	36
Figura 17 – Mapa de activação obtido no FSL – Mapeamento do córtex motor da língua	36
Figura 18 – Mapa de activação obtido na workstation Leonardo – Mapeamento do córtex motor do pé	37
Figura 19 – Mapa de activação obtido no FSL – Mapeamento do córtex motor do pé	37
Figura 20 - Diagrama do paradigma em blocos	40

IV-LISTA DE SIGLAS

Sigla	Significado
AMS	Área motora suplementar
ASL	<i>Arterial Spin Labeling</i>
B₀	Campo Magnético
BOLD	<i>Blood Oxygen Level Dependent</i>
d-Hb	Desoxihemoglobina
DICOM	<i>Digital Imaging and Communication in Medicine</i>
DTI	Tensor Difusão
EPI	<i>Echo Planar Imaging</i>
FEAT	<i>FMRI's Expert Analysis Too</i>
FLAIR	<i>Fluid Attenuation Inversion Recovery</i>
FSL	<i>FMRI's Software library</i>
GE-EPI	Gradient-echo EPI
GRE	Eco de Gradiente
HbO₂	Oxihemoglobina
IR-EPI	<i>Inversion-Recovery EPI</i>
M1	Córtex motor primário
MAV	Mal formação Artério-Venosa
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética funcional
RSR	Relação sinal-ruído
SE-EPI	<i>Spin-echo EPI</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
T1	Tempo de relaxação longitudinal
T2	Tempo de relaxação transversal
TE	Tempo de eco
TR	Tempo de repetição

Capítulo 1

Introdução

1.1 – Efeito de contraste BOLD

A evolução da técnica de Ressonância Magnética (RM) nos últimos anos levou a que esta seja uma das técnicas de imagem mais requeridas a nível clínico. A sua elevada resolução espacial e de contraste, associada ao facto de não utilizar radiação ionizante, faz com que esta técnica seja actualmente a escolha de eleição no auxílio do planeamento neurocirúrgico de tumores cerebrais e em outras patologias^{1,2}.

A Ressonância Magnética funcional (RMf) reflecte o nível de actividade das células nervosas em cada região. O princípio fisiológico fundamental subjacente é a relação existente entre a actividade destas células e a dinâmica dos vasos sanguíneos na sua proximidade, sendo que esta foi originalmente postulada por *Roy* e *Sherrington* no século XIX.³

Existem vários efeitos para realizar a RMf, nomeadamente o efeito de contraste BOLD (*blood-oxygen-level-dependent*), a mais frequentemente utilizada², e ASL (*arterial spin labeling*). Esta última permite o estudo de perfusão cerebral utilizando as moléculas de água como traçador endógeno⁴. O efeito de contraste BOLD obtém informação da actividade hemodinâmica, detectando variações da oxigenação sanguínea ao tirar partido das propriedades magnéticas da hemoglobina¹.

A RMf é hoje uma ferramenta fundamental na investigação funcional do cérebro humano, tendo já revolucionado o conhecimento em áreas das Neurociências até há pouco difíceis de abordar¹.

Este Projecto tem como objectivo a optimização do efeito BOLD no mapeamento do córtex motor, em voluntários saudáveis, e a sua aplicação em pacientes com patologia.

A possibilidade de estudar esta técnica de forma mais detalhada, ainda pouco desenvolvida no nosso país, mostra a importância da RMf usando o efeito BOLD na avaliação de pacientes com patologia.

Os estudos funcionais têm grande utilidade para o mapeamento cortical do cérebro em voluntários saudáveis e em pacientes com patologia diversa. Em pacientes com doença oncológica, a RMf usando o efeito BOLD na avaliação pré-operatória no estudo do córtex motor, tem demonstrado ser uma mais-valia.

Em pacientes com Malformação Artério-Venosa (MAV), a RMf é também útil na avaliação pré-operatória. A MAV é um conjunto de artérias e veias que estão interligadas de forma diferente, formando uma rede de pequenos vasos, e é considerada uma lesão congénita. O estudo destes casos tem demonstrado alguns problemas se estas forem tratadas, pois a possibilidade de surgirem artefactos de susceptibilidade aumenta, quando são utilizadas sequências eco planares⁴.

Esta avaliação pode ser utilizada como um método auxiliar no planeamento pré-operatório, mapeando as funções das zonas adjacentes ao tumor ou MAV. Desta forma pretende-se poupar as regiões funcionalmente activas, de forma a minimizar o impacto da cirurgia¹.

1.2 – Organização

O presente trabalho encontra-se dividido em seis capítulos e anexos, sendo que o material nele apresentado abrange aspectos relacionados com a técnica e aplicação da RMf por efeito BOLD.

Após uma breve introdução, onde é apresentada a motivação subjacente à realização deste trabalho, é também definido o objectivo a atingir. No segundo capítulo são apresentados conceitos relacionados com a RMf, focando os aspectos considerados fundamentais para este trabalho.

No terceiro capítulo é descrita toda a metodologia utilizada para a aquisição de dados funcionais. A amostra é caracterizada, e são referidos os programas computacionais utilizados e explicado o protocolo seguido para a obtenção de imagens funcionais. É também apresentado o design do paradigma e os parâmetros utilizados para a optimização do protocolo experimental.

No quarto capítulo, são apresentados os resultados obtidos após a análise dos dados funcionais correspondentes a cada protocolo utilizado.

No quinto capítulo são discutidos os resultados obtidos no estudo da função motora por RMf em voluntários saudáveis, com as principais conclusões deste estudo. Também as limitações deste estudo são aqui apresentadas.

Finalmente no capítulo seis são apresentadas as sugestões para estudos futuros.

Para completar este projecto apresentam-se dois anexos. O Anexo I é constituído pela minuta do consentimento informado, pelo questionário utilizado na clínica para a realização da RM bem como informação complementar relativa aos dados adquiridos no estudo. No Anexo II é apresentada a autorização dada pelo Conselho de Administração da Clínica Quadrantes para a realização deste Projecto.

Capítulo 2

RM funcional e o efeito de contraste BOLD

Nos últimos anos a RM, técnica não invasiva e sem a utilização de radiação ionizante, tornou-se rigorosa e sofisticada². Tal deve-se fundamentalmente à sua elevada resolução espacial e de contraste, e à possibilidade de obtenção de imagens funcionais, espectroscópicas e de tensor de difusão (DTI), revolucionando assim o estudo do cérebro humano^{2,3}.

A vertente funcional da RM, um dos mais recentes desenvolvimentos ocorridos, permite medir indirectamente a actividade cerebral, pois é sensível às alterações na oxigenação e no fluxo sanguíneo que ocorrem em resposta à actividade neuronal, através do efeito de contraste BOLD (*blood-oxygen-level-dependent*)¹.

A RMf pode ser integrada nas imagens de rotina de RM desde que os protocolos estejam padronizados e otimizados¹.

2.1 – Conceitos

2.1.1 RM funcional

A RMf permite medir e localizar funções específicas do cérebro humano⁵, tendo um papel importante no planeamento cirúrgico com delimitação de áreas cerebrais circundantes a patologias², nomeadamente em oncologia⁶. O mapeamento das áreas cerebrais através da RMf é cada vez mais utilizado na avaliação pré-operatória em pacientes oncológicos. Esta técnica auxilia o planeamento pré-operatório de modo ser feita uma avaliação do risco-benefício. Pretende-se avaliar a posição relativa dos limites da lesão e as zonas funcionais para que a intervenção possa ser planeada de forma a que se evite induzir qualquer défice funcional no paciente¹.

Até 1990 não existia uma técnica não invasiva que possibilitasse a avaliação do fluxo sanguíneo nas áreas corticais¹. Nesse ano, Ogawa realizou estudos em ratos demonstrando que os níveis de oxigénio no sangue actuam como agente de contraste endógeno nas imagens de RM, podendo substituir a utilização de agentes de contraste paramagnéticos⁷. Em 1999 esta técnica foi adaptada à prática clínica¹.

A RM possibilita a visualização anatômica e funcional do cérebro humano. O exame é realizado num scanner em forma de tubo cilíndrico que produz um campo magnético homogéneo (B_0) que, para a realização da RMf tem que ter uma intensidade mínima de 1.5 T⁷.

2.1.2- Efeito de contraste BOLD

A resposta hemodinâmica visualizada nas imagens de RMf resulta das propriedades magnéticas da hemoglobina. Quando esta transporta oxigénio é designada por oxihemoglobina (HbO_2) e quando não transporta oxigénio toma a designação de desoxihemoglobina (dHb). Enquanto a rede arterial contém sobretudo oxihemoglobina, a rede capilar e a rede venosa contém uma mistura de oxihemoglobina e desoxihemoglobina^{1,7,8,9,10}.

Quando o indivíduo realiza uma tarefa, a sua actividade neuronal aumenta produzindo uma resposta hemodinâmica. Em resposta ao aumento local do consumo de oxigénio ocorre um aumento do fluxo e do volume sanguíneos no cérebro. Como o aumento da concentração de HbO_2 ultrapassa o aumento do consumo de O_2 , o resultado final é uma redução da concentração de dHb^{1,10}.

O efeito de contraste BOLD explora o facto de a HbO_2 ser mais diamagnética enquanto a dHb é paramagnética. Assim a presença de dHb causa uma distorção do campo magnético B_0 , levando a um aumento local da heterogeneidade deste e a uma redução do T_2^* . A constante de relaxação T_2^* para além das características intrínsecas aos tecidos depende também de factores externos, nomeadamente das heterogeneidades do campo magnético que podem estar relacionadas com a proximidade a vasos sanguíneos. A taxa de decaimento T_2^* é substancialmente

inferior a T2, sendo que a RMf explora as alterações produzidas como resultado da variação da concentração relativa de dHb e HbO₂^{10,11,12}.

Quando é aplicado um paradigma de activação, podemos detectar indirectamente o aumento da actividade cerebral, comparativamente com o período de repouso. Durante a actividade cerebral ocorre um aumento do fluxo sanguíneo. Esta resposta, que ocorre alguns segundos após o início da actividade, supera rapidamente o ligeiro aumento da extracção de oxigénio da rede capilar, resultando no seu fornecimento excessivo. Um aumento de actividade cerebral está por isso associado a um aumento da concentração local de HbO₂, a uma diminuição da concentração de dHb e consequentemente a um aumento do sinal de RM. Utilizando sequências com ponderação em T2* é possível a detecção deste aumento do sinal, que por sua vez pode ser correlacionado com a tarefa efectuada pelo sujeito^{10,11,12}.

O princípio do efeito BOLD encontra-se resumido na Figura 1.

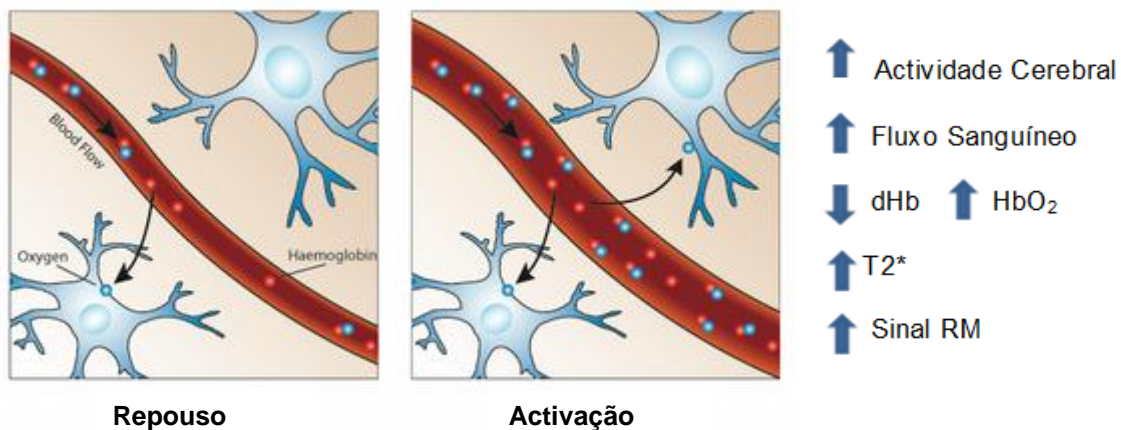


Figura 1 – Princípio do efeito BOLD. Adaptado de www.fmrib.ox.ac.uk¹⁰

Com o fim da actividade neuronal, a perfusão volta ao seu valor de repouso. Consequentemente a relação de oxigenação do sangue volta ao normal assim como o sinal de RM⁸.

2.1.3- Sequência de Aquisição

Para obter uma resolução temporal elevada, o efeito BOLD utiliza sequências ultra-rápidas. A mais utilizada é a sequência de imagem eco planar, conhecida por EPI (*Echo Planar Imaging*). Esta técnica utiliza um esquema de leitura que rapidamente preenche o espaço-K (espaço recíproco), e permite obter imagens SE-EPI (*Spin-echo EPI*), GE-EPI (*Gradient-echo EPI*) e IR-EPI (*Inversion-Recovery EPI*) adicionando o respectivo módulo à sequência¹¹. A sequência GE-EPI (a utilizada neste projecto) permite normalmente captar um sinal mais elevado e principalmente de origem venosa, enquanto as sequências SE-EPI medem um sinal mais baixo que provém também da rede vascular no parênquima cerebral⁷.

As principais vantagens da utilização da sequência EPI incluem uma rápida aquisição, o que permite alcançar uma boa resolução temporal, uma alta sensibilidade a T2* e uma baixa sensibilidade a artefactos de movimento e fluxo. Algumas das desvantagens são: a distorção geométrica devido a diferenças de susceptibilidade magnética entre os tecidos (interfaces cérebro/ar)⁹, e, uma vez que o espaço-K é preenchido de uma só vez, a baixa resolução espacial alcançada. Infelizmente a activação cerebral traduz-se numa pequena alteração do sinal de RM sendo crucial realizar múltiplas e repetidas estimulações durante uma avaliação através da RMf, de modo a obter um bom mapa de activação BOLD^{8,10}.

A intensidade do sinal e a resolução espacial variam com a intensidade do campo magnético. Os equipamentos de RM com 1.5 T, os mais frequentes nos Serviços de Imagiologia, possibilitam uma avaliação credível da actividade cortical. No entanto, novos equipamentos com campos magnéticos de 3 T ou mais elevados, permitem a aquisição de imagens funcionais de estruturas subcorticais e do tronco cerebral¹.

2.1.4 – Paradigma

A escolha de um paradigma é determinado pela interacção entre as propriedades fisiológicas medidas e as limitações metodológicas¹³. A aquisição da imagem funcional em RMf é efectuada continuamente enquanto o sujeito realiza uma determinada tarefa, sendo esta designada por paradigma. O seu planeamento é fundamental para a obtenção de bons resultados, de modo a reflectir a actividade da região de interesse¹⁰.

Existem vários tipos de paradigmas, nomeadamente, paradigmas em bloco, explicados mais adiante, são os mais usados de acordo com a literatura¹³ e paradigmas contínuos, que envolvem a apresentação contínua dos estímulos e paradigmas evento-relacionados nos quais os estímulos são intercalados com períodos de repouso, sendo a duração dos estímulos muito mais curta do que os períodos de repouso¹¹.

Os paradigmas em bloco, ilustrados na Figura 2, são constituídos por períodos de actividade (“on”) alternados com períodos de repouso (“off”), que podem também corresponder a períodos em que o tipo de tarefa executada é diferente. A função da resposta hemodinâmica, também representada na Figura 2, é tida em conta para modelar o tempo de transição entre os períodos de actividade e os períodos de repouso ou vice-versa. Os estímulos são apresentados em blocos, alterando entre o bloco de activação e o de repouso, sendo o objectivo dar origem à actividade neuronal que se pretende estudar. Os períodos de actividade são o intervalo de tempo durante o qual o paciente realiza uma tarefa, ou lhe é apresentado um determinado tipo de estímulo^{11,12}.



Figura 2 – Diagrama do paradigma em blocos (A – activo, R - repouso). Fonte: Siemens¹⁵

A duração dos períodos de activação deve ser suficientemente longa, de modo a ter em conta o atraso no aumento de sinal de RMf, após o início da execução da tarefa. Este atraso temporal do sinal relativamente à actividade neuronal corresponde à resposta hemodinâmica e implica que, de forma a detectar o sinal de RMf máximo, o período de activação deva ter uma duração mínima de 8 segundos, sendo 16 segundos a duração mais usada. Para obter o contraste suficiente e de modo a comparar o sinal de RMf durante a activação e o período de repouso, o conjunto dos dois períodos é repetido diversas vezes^{10,11,12}.

O objectivo da utilização do paradigma em bloco, em que a tarefa é continuamente executada durante um período de activação relativamente longo, é manter a função BOLD no máximo, por um período de tempo considerável, de modo a que o sinal de activação possa ser comparado de forma mais fidedigna com o sinal medido durante a linha de base^{1,10,11,12}.

Para este trabalho foram desenvolvidos paradigmas em bloco, com o intuito de criar o mapeamento do córtex motor da mão dominante¹².

2.1.5 - Neuroanatomia

O cérebro é o principal órgão do Sistema Nervoso Central (SNC) e o centro de controlo de inúmeras actividades voluntárias e involuntárias do nosso corpo. Este é também o centro onde se integram e elaboram as grandes funções motoras, sensitivas e associativas do Sistema Nervoso¹⁰.

O cérebro é dividido em dois hemisférios cerebrais, direito e esquerdo, separados pela fissura longitudinal do cérebro^{1,10}.

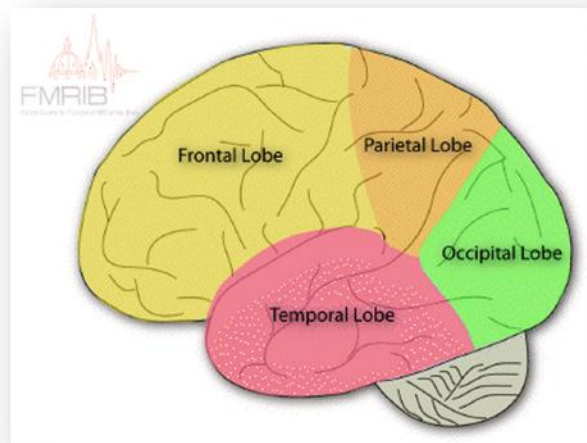


Figura 3 – Representação dos lobos cerebrais. Fonte: www.fmrib.ox.ac.uk¹⁰

Cada hemisfério é constituído por 5 lobos ver figura 3 - lobo frontal, lobo parietal, lobo temporal, lobo occipital e o lobo insular, este último situado na face interna do lobo temporal. Os hemisférios cerebrais apresentam depressões, “os sulcos”, que delimitam os giros ou circunvoluções, o que permite que uma grande quantidade de substância cinzenta ocupe uma pequena área¹⁰.

À procura do entendimento da organização funcional do cérebro humano, o mapeamento detalhado deste tem sido conseguido através da RMf e da neurofisiologia.

O córtex cerebral pode ser dividido segundo as áreas correspondentes a cada função específica - áreas de projecção e áreas de associação¹. As áreas de projecção são as que recebem ou dão origem a fibras relacionadas com a sensibilidade e a motricidade. Estas áreas podem ser divididas em áreas motoras e áreas sensitivas¹.

Existem assim áreas primárias, que recebem e produzem informações sensoriais (visuais, auditivas, frio, calor, dor...) e motoras (ordens para os músculos efectuarem os movimentos). As áreas secundárias, interpretam as informações recebidas pelas áreas primárias coordenando os dados sensoriais, funções motoras e ainda relacionando-as com informações da memória¹.

A área motora está localizada sobre o lobo frontal, ocupando uma porção adjacente ao sulco central, região essa responsável por movimentos de regiões colaterais do corpo, como a mão e o pé.

A área motora assume uma representação distinta das diferentes partes do corpo humano e em diferentes locais no giro - mapeamento somatotópico. Este termo refere-se à organização topográfica da função ao longo do córtex¹.

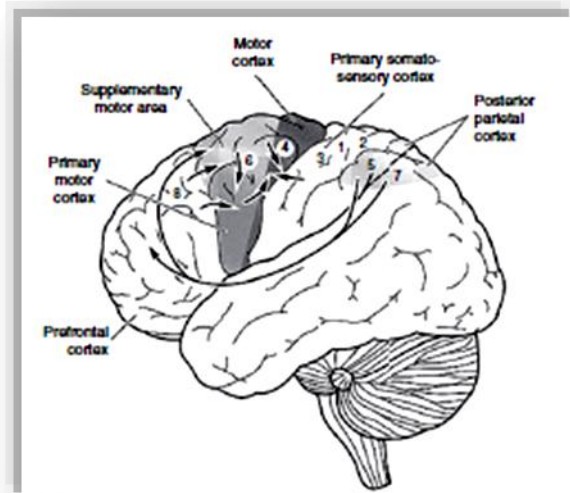


Figura 4 – Representação anatómica córtex motor.
Fonte: Stippich,2007 ¹

De acordo com a funcionalidade de cada área, podem identificar-se quatro regiões no córtex cerebral relacionadas com a função motora: o córtex motor primário (M1), o córtex pré-motor, a área motora suplementar (AMS) e a área motora cingulada (ver Figura 4) ^{1,10}.

O M1 está situado no giro pré-central, anterior ao sulco central e controla os movimentos contra laterais voluntários, em particular os movimentos finos da mão e da face^{1,16}. O córtex pré-motor e a área motora suplementar encontram-se localizados anteriormente a M1, no lobo frontal e ocupam toda a circunvalação pré-central^{17,18} - Figura 4a. O córtex pré-motor é responsável pela escolha, preparação, aprendizagem

de movimento e manutenção do movimento rápido e a AMS pelo mecanismo de inicialização do movimento. Ambas as regiões existem nos dois hemisférios cerebrais, em localizações inter-hemisféricas equivalentes^{1,10}.

Está descrito na literatura que mesmo num cérebro normal existem variações consideráveis entre a função e a anatomia. Nos casos de tumores cerebrais pode existir distorção anatômica, e conseqüentemente as áreas funcionais podem ser desempenhadas por outras áreas do cérebro^{4,17}. Assim as áreas anatômicas são identificadas através de referências morfológicas⁴

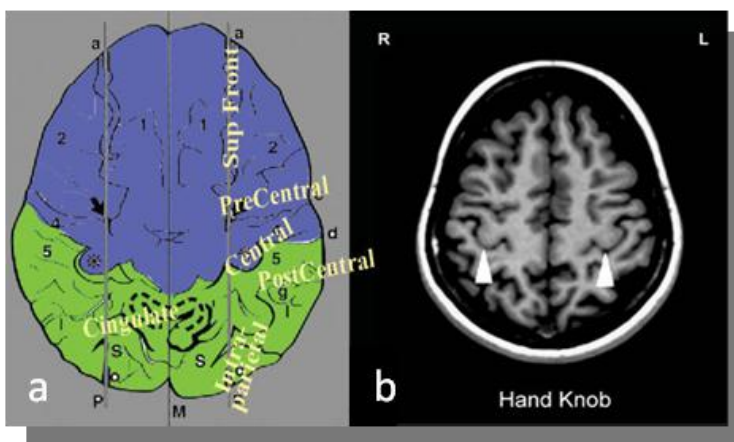


Figura 5 – Localização das referências anatômicas.
a – Sulco central, circunvalação pré-central e circunvalação pós-central.
b- Imagem de RM evidenciando a localização do *hand knob*.
Fonte: Sunaert, 2006¹⁸

A referência morfológica mais acentuada é da área motora, onde é visível, no plano axial, a estrutura “*hand knob*” ou “*ómega invertido*”^{1,18} - Figura 5b.

A correcta identificação das áreas corticais eloquentes, tem um papel fundamental no planeamento cirúrgico do tumor de modo a evitar danos permanentes na função neurológica^{1,7}.

Capítulo 3

Metodologia

Neste capítulo é descrito todo o procedimento efectuado para a aquisição das imagens funcionais, nomeadamente os dois protocolos, BOLD 1 e BOLD 2, que foram utilizados.

3.1 – Recolha de dados

3.1.1 – Equipamento utilizado

A clínica onde o projecto foi desenvolvido, possui um equipamento de RM 1,5 T, *MAGNETOM Symphony a Tim System – Siemens*®, com uma bobine de transmissão/recepção de crânio com 8 canais.



Figura 7 – Sala de RM

3.1.2 - Caracterização da amostra

Neste projecto foram estudados 34 voluntários saudáveis (sem queixas cognitivas), 23 mulheres e 11 homens, com idades entre os 18 e 63 anos. O estudo teve um período de duração de 3 meses, entre Junho e Setembro de 2011, e foi realizado na Clínica Quadrantes – Grupo Joaquim Chaves.

Antes da realização do exame, os voluntários foram esclarecidos sobre todos os detalhes do exame e também responderam a um questionário específico para a realização da RM (em anexo). Este estudo foi autorizado pelo Conselho de Administração da Clínica Quadrantes e aprovado em comissão de ética. O consentimento informado foi dado a todos os voluntários do estudo (em anexo).

Critérios de inclusão: Homens e mulheres saudáveis.

Critérios de exclusão: homens ou mulheres com doenças neurológicas, com tratamentos que pudessem interferir com a função cognitiva, com pacemaker ou com material metálico.

Critérios de eliminação: homens ou mulheres que fossem claustrofóbicos ou que tivessem dificuldade em colaborar na correcta realização do exame.

3.1.3 - Procedimento exame

3.1.3.1 - Preparação do voluntário

Cada voluntário foi preparado para a realização de exame, sendo devidamente instruído relativamente à metodologia do paradigma – movimentar o dedo indicador da mão dominante para cima e para baixo.

Já com o voluntário dentro da sala de exame, foi simulada novamente a tarefa a realizar e esclarecidas quaisquer dúvidas ainda existentes. A fim de evitar a ansiedade, o movimento da cabeça, possíveis erros na execução do protocolo e consequentemente artefactos nas imagens, houve um cuidado especial em posicionar os voluntários de forma confortável.

3.1.3.2 – Aquisição dos dados em voluntários

Para cada voluntário foi realizado o protocolo estabelecido, sendo realizadas 3 séries de paradigmas de acordo com o protocolo BOLD 1 ou BOLD 2, de modo a adquirir as imagens funcionais.

Durante a aquisição das imagens, e antes de cada bloco, foram dadas as seguintes instruções ao voluntário: “mexer” para o período de actividade e “parar” para o período de repouso. Estas ordens eram dadas pelo Técnico através do intercomunicador da RM.

As aquisições das imagens, com os vários valores de TE e vários paradigmas foram adquiridas de forma alternada de modo a que não existisse qualquer tipo de influência

nos resultados. Por exemplo, para o voluntário 1 foram adquiridas as imagens com a seguinte ordem de valores de TE (45,50,55) enquanto para o voluntário 2 foi utilizada outra ordem de valores de TE (50,55,45).

3.1.3.3 – Aquisição dos dados em pacientes

O estudo inicialmente tinha como objectivo a aplicação do efeito BOLD já optimizada em pacientes oncológicos. Infelizmente, no espaço temporal em que este projecto foi realizado (apenas 3 meses) não foi possível ter acesso a nenhum paciente com patologia oncológica, mas foi possível obter imagens num paciente com uma MAV (malformação arteriovenosa).

Paciente do sexo masculino, com 15 anos de idade, com MAV fronto Rolândia esquerda residual. O doente havia sido submetido a uma embolização e a radiocirurgia 3 anos antes, tendo efectuado posteriormente uma angiografia cerebral. O procedimento do exame realizado foi igual ao dos voluntários.

Neste paciente realizámos uma sequência de alta resolução anatómica ponderada em T1, para ser sobreposta às imagens funcionais, uma sequência eco de gradiente para medição do campo estático B0 e finalmente a sequência EPI funcional, em que foi utilizado TE = 50 ms e um paradigma de 3 repetições.

3.1.3.4 – Aquisição de dados complementares

Neste projecto foi realizado o mapeamento do córtex motor responsável pelo movimento da mão dominante através do efeito BOLD. Como estudo adicional, foi recrutado um voluntário para avaliar se o protocolo em desenvolvimento seria o adequado para realizar o mapeamento do córtex da língua e do pé.

Foi pedido ao voluntário, com o objectivo do mapeamento do córtex da língua, com a cavidade bucal fechada, fazer movimentos ascendentes e descendentes com a língua. Para o mapeamento do córtex do pé, foi pedido para movimentar os dedos dos pés de forma ascendente e descendente.

Neste estudo foi adquirida a RM anatómica, com os parâmetros já referidos, e a RM funcional com um TE de 50 ms e um paradigma de 3 repetições.

3.2- Otimização do efeito de contraste BOLD

3.2.1 – Protocolo

Foi realizado um protocolo standard para os voluntários saudáveis, sendo este composto por uma RM anatómica e RM funcional. A RM anatómica é necessária para avaliar a anatomia cerebral, enquanto a RM funcional foi utilizada para obter os mapas funcionais dos córtex motor da mão dominante, tendo o exame uma duração total média de 20 minutos.

Localizador	0:10 min.
FLAIR axial	3:38 min.
T1 3D alta resolução	3:16 min.
GRE-Field-mapping axial	1:10 min.
EPI-GRE_ TE = 45,50,55 ou 2, 3 e 5 repetições	4.18 x 3 = 12.54 min.
<hr/>	
<i>Total exame RMf</i>	<i>20:28 min.</i>

A RM anatómica foi realizada com o seguinte protocolo: para exclusão de doenças neurológicas foram adquiridas imagens com ponderação FLAIR (*Fluid Attenuation Inversion Recovery*) utilizando cortes axiais. Foi também utilizada uma sequência de alta resolução anatómica ponderada em T1, para permitir a sobreposição das regiões funcionais no espaço anatómico.

Na RM funcional foi primeiro realizada uma sequência eco de gradiente, com dois tempos de eco diferentes (TE = 4.76 ms / TE = 9.52 ms). O objectivo era medir a diferença de fase correspondente ao período Δ TE (4.76 ms) de forma a medir o campo magnético principal (B0). Para a aquisição funcional foi utilizada uma sequência EPI, com 36 cortes, TE (ms) = 45, 50 e 55 (varia de acordo com o protocolo utilizado), TR = 4000 ms, 63 volumes, campo de visão (*Field of View* - FOV) 250 x 250 mm², e a matriz de 64 x 64.

Foram estudados 2 grupos de voluntários com protocolos diferentes, BOLD 1 com 15 voluntários e BOLD 2 com 19 voluntários, em que a metodologia variou de acordo com o TE ou com o tipo de paradigma. Assim foram utilizados 3 valores de TE e 3 tipos de paradigmas.

Os parâmetros da sequência EPI são apresentadas na Tabela 1, para os diferentes paradigmas e com os diferentes valores de TE utilizados.

Protocolo	TE (ms)	Paradigma	Nº volumes durante cada bloco de activação
BOLD 1	50	2 Repetições	15
	50	3 Repetições	10
	50	5 Repetições	6
BOLD 2	45	3 Repetições	10
	50	3 Repetições	10
	55	3 Repetições	10

Tabela 1 – Parâmetros técnicos utilizados para a aquisição dos protocolos

Foram efectuados 2 protocolos, como já foi referido. No protocolo BOLD 1 fez-se variar o paradigma (repetindo o bloco de activação 2, 3 ou 5 vezes mantendo constante o número total de volumes adquiridos), enquanto para o protocolo BOLD 2 se fez variar o valor de TE (45,50 e 55 ms).

As imagens EPI adquiridas são ponderadas em T2*, de modo a evidenciar a diferença de sinal entre os estados de activação e de repouso. A ponderação T2* depende do valor de TE utilizado, pelo que a escolha de um valor de TE óptimo permitirá maximizar o contraste entres os dois sinais medidos.

Se o TE é muito curto, não haverá diferença significativa entre as curvas do estado de repouso e do estado de activação, logo o contraste BOLD é reduzido. Por outro lado

se o TE for demasiado longo, há menos sinal disponível para qualquer um dos estados devido à relaxação. De forma a obter o sinal máximo do efeito BOLD para uma determinada região, o valor do TE deve ser aproximadamente igual ao T2* da matéria cinzenta ¹⁹.

Após uma pesquisa na literatura para ver que valor de TE é normalmente utilizado a 1.5T e tendo como referência o protocolo disponibilizado pelo fabricante, foi inicialmente escolhido o valor de TE=50 ms, sendo este o valor utilizado no protocolo BOLD 1 nos vários paradigmas. No protocolo BOLD2, fez-se variar o valor de TE de forma a maximizar o sinal BOLD. Estudos efectuados¹⁰ em equipamentos de 3.0T mencionam que para esse valor de campo, o TE óptimo pode ir até aos 40 ms. Sendo esperado um valor de T2* mais longo a 1.5T uma vez que a intensidade do campo é mais baixa, o valor mínimo de TE testado foi de 45 ms. Foi escolhido um valor superior de TE de 55 ms, de modo a que os intervalos estudados fossem simétricos.

Para o estudo do córtex motor, foram seleccionados 36 cortes orientados tangencialmente à superfície cerebral. Para cada plano de corte foi obtida uma imagem funcional e a aquisição repetida, para se obterem 60 volumes divididos em períodos de activação e períodos de repouso. Para permitir que o sinal fosse medido após se ter atingido um estado estacionário foram adquiridos 3 volumes extra no início de cada paradigma. Estes volumes foram excluídos da análise.

Neste projecto, os paradigmas em bloco utilizados variaram de acordo com alguns parâmetros, apresentados na Tabela 2. Os números de blocos de activação utilizados foram 2, 3 e 5, representados na Figura 6, em que os períodos de activação e de repouso, variaram entre os 24 e 60 segundos.

Número de blocos de Activação	Duração (segundos)	Nº de volumes
2	60	15
3	40	10
5	24	6

Tabela 2 – Parâmetros dos paradigmas

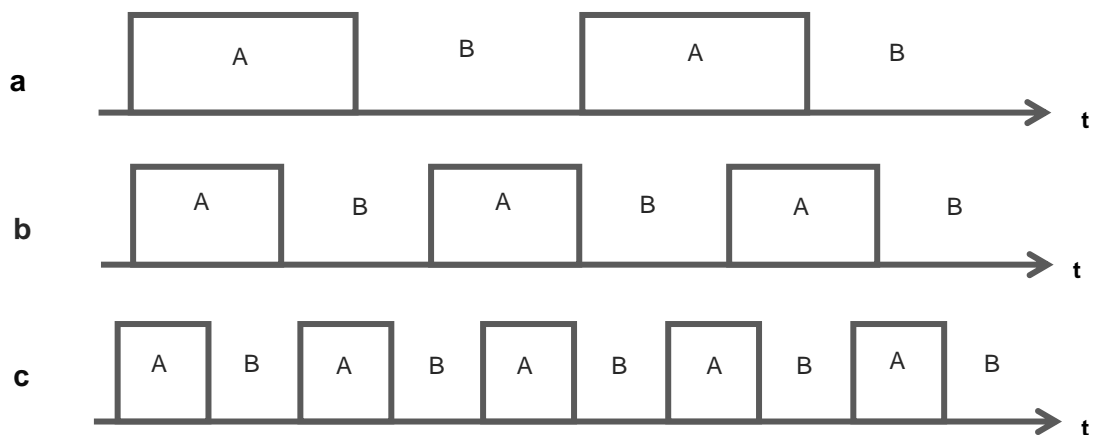


Figura 6 – Esquema representativo dos vários paradigmas: a – 2 repetições; b – 3 repetições; c – 5 repetições.

A – Período de activação, B – Período de repouso

O objectivo do protocolo BOLD 2 foi estudar o impacto da variação do valor do TE. Para tal foi utilizado o paradigma em bloco de 3 repetições, visto ser este que mostrava maior conforto aos voluntários.

3.3 - Processamento de imagem

Após a aquisição das imagens de RM anatómicas e funcionais, é necessário realizar o pré e pós-processamento destes. Foi realizada na Workstation Leonardo - NEURO 3D e de forma complementar utilizando a *FMRIB Software Library* - (FSL) ¹⁰.

O FSL foi utilizado para a confirmação da activação de cada voluntário, tendo a vantagem de permitir um maior controlo do utilizador sobre todos os parâmetros utilizados na análise. O programa FSL é composto por vários módulos para a análise de imagens médicas e foi utilizado em particular o FEAT (*FMRI Expert Analysis Tool*), versão 5.98, para detectar a activação cerebral baseada nas alterações do sinal BOLD¹⁰.

Para a análise dos dados de RMf existem 3 etapas fundamentais: pré-processamento, análise estatística e a apresentação das imagens de activação.

3.3.1 – Processamento dos dados funcionais no FSL

A etapa do pré-processamento é importante de modo a eliminar alguns artefactos nas imagens de forma a aumentar a sensibilidade na análise estatística, permitindo assim obter melhores resultados. A análise estatística é o processo mais importante na análise dos dados de RMf.

Assim, antes da análise estatística são realizadas algumas etapas de pré-processamento, independentes entre si. Estes passos incluem: correcção de movimentos, correcção temporal, filtragem espacial e filtragem temporal^{1,10}.

Correcção do movimento

O movimento da cabeça, durante a aquisição das imagens é uma das principais fontes de artefactos. Movimentos respiratórios, ou outros movimentos involuntários podem provocar alterações na intensidade dos pixels das imagens adquiridas. Além disso, uma vez que a análise estatística é realizada individualmente para cada pixel tendo em conta a evolução temporal do sinal, antes de iniciar esta análise, é necessário assegurar que todos os volumes adquiridos se encontram alinhados. São por isso realizadas correcções dos movimentos, tendo em conta possíveis translações e rotações da cabeça^{1,10}.

Correcção temporal

De modo a que a análise dos dados seja o mais correcta possível é também importante realizar uma correcção temporal do sinal. Na RMf são adquiridos volumes de imagens. Cada volume contém várias imagens, mas estas não são todas adquiridas ao mesmo tempo. As séries temporais podem por isso ser corrigidas de modo a que fiquem alinhadas, em fase. O método mais frequentemente utilizado neste tipo de correcção é a interpolação temporal^{1,10}.

Filtragem espacial

A aplicação de um filtro espacial nas imagens, permite aumentar a relação sinal-ruído (RSR) das imagens. Contudo, os filtros de suavização eliminam ou atenuam as altas frequências da imagem, resultando numa redução da resolução espacial. Deve procurar-se, por isso, um equilíbrio entre aumentar a RSR a manter a resolução espacial da imagem funcional^{1,10}.

Filtragem temporal

Uma melhoria da RSR pode ser realizada também com a filtragem temporal. Este filtro tem como objectivo remover as oscilações de alta frequência na série temporal como, por exemplo, oscilações associadas aos ciclos cardíaco e respiratório, ao mesmo tempo que é preservado o sinal de interesse, nomeadamente as frequências definidas pela estrutura temporal do paradigma utilizado.

Como todas as imagens adquiridas são exportadas pelo scanner em formato DICOM (*Digital Imaging and Communication in Medicine*), antes de mais é necessário convertê-las para o formato *NiftI* (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*) de modo a que os dados possam ser analisados no FSL. Seguidamente foi removido o osso do crânio das imagens anatómicas usando o *Brain Extraction Tool* (BEAT). Para a análise estatística foi utilizada a ferramenta FEAT. Esta é uma ferramenta que realiza também as fases de pré-processamento, sendo aplicada a correcção do movimento (MCFLIRT), são também inseridos os valores de TE (na opção "Data") e o tipo e características do paradigma usado (opção "Stats")¹⁰.

Após estar concluída a análise efectuada pelo FEAT, são obtidas as imagens resultantes do *t-test* efectuado, indicando as regiões onde o sinal variou de forma significativa quando comparados os períodos de activação e repouso. O programa calcula, para cada pixel, o coeficiente de activação e o correspondente Z-score.

Com os dados totais registados da activação, com a média (μ) da população e com o desvio padrão (σ) da mesma, é possível calcular Z-score através da fórmula:

$$Z = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

Este está relacionado com a intensidade da activação obtida nas imagens funcionais, e foi por isso utilizado como um indicativo do nível de activação atingido. O z-score médio foi registado e comparado para cada voluntário nas regiões activadas.

Foi utilizado um limiar mínimo de 2.3 para definir que voxels foram activados durante a realização da tarefa pelo que pixels com valores de z-score inferiores a 2.3 não aparecem nos mapas de activação. Este valor é utilizado por defeito mas pode ser alterado para o valor que for pretendido.

Para cada voluntário foi registado o número de pixels com activação, de acordo com o TE ou paradigma estudado, e estes foram comparados entre si.

3.3.2 – Processamento dos dados funcionais na *Workstation* Leonardo

Para comparação, para além do FSL, foi também utilizado o *software da workstation* Leonardo. Após adquiridos os dados funcionais, estes foram enviados para a *workstation* para análise qualitativa.

Os volumes das imagens foram carregados na aplicação *Neuro 3D* de modo a que as imagens funcionais ficassem sobrepostas às imagens anatómicas. O mapa do campo B_0 estimado é utilizado automaticamente de forma a corrigir as distorções geométricas das imagens EPI adquiridas. Os dados funcionais da aquisição BOLD foram processados de modo a avaliar-se o nível de activação atingida. Com as ferramentas disponíveis é possível visualizar as imagens em 2D e/ou 3D, o que permite uma análise mais detalhada da localização da activação.

O limiar de activação utilizado por defeito nesta *workstation* é de 4.0, valor que se optou por manter, uma vez que o mais provável é que futuros utilizadores do protocolo de aquisição utilizem os valores *standard* e não explorem o efeito da variação deste parâmetro.

3.4 - Ferramenta de análise estatística

Os resultados obtidos pela análise de imagens funcionais (volume e nível de activação) processaram-se estatisticamente através do programa SPSS (*Statistic Package for the Social Sciences*).

Neste estudo pretende-se avaliar qual o melhor valor de TE e qual o melhor paradigma a ser utilizado para a aquisição de imagens funcionais. Foi realizado o teste da normalidade, pois no estudo efectuado as amostras são de 15 e 19 voluntários, tendo sido realizados protocolos diferentes como já foi referido.

Como o teste de normalidade não foi positivo em qualquer dos casos, foi utilizado um teste não paramétrico - o teste de *Kruskal-Wallis* ou análise de variância pelos números de ordem, para comparar as medianas entre os grupos²⁰.

Foram efectuados dois testes diferentes com as seguintes hipóteses:

Número de pixels:

Hipótese nula (H0): o número dos pixels activados não varia com o número de repetições no protocolo BOLD 1 (teste 1) e não varia com o valor de TE para o protocolo BOLD 2 (teste 2).

Hipótese alternativa (H1): o número dos pixels activados varia com número de repetições no protocolo BOLD 1 (teste 1) e varia com o valor de TE para o protocolo BOLD 2 (teste 2).

Z-score médio:

Hipótese nula (H0): o z-score médio não varia com o número de repetições no protocolo BOLD 1 (teste 1) e não varia com o valor de TE para o protocolo BOLD 2 (teste2).

Hipótese alternativa (H1): o z-score médio varia com número de repetições no protocolo BOLD 1 (teste 1) e varia com o valor de TE para o protocolo BOLD 2 (teste 2).

O objectivo do teste *Kruskal-Wallis* é verificar se há diferenças significativas, com um nível de significância de 5%, para o número de pixels activos e para o z-score médio em cada sequência de imagens²⁰.

Capítulo 4

Resultados

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos pelos protocolos efectuados durante o estudo, BOLD 1 (variação de paradigma) e BOLD 2 (variação valores TE). Como se pretendia definir qual o melhor valor de TE e qual o melhor paradigma a utilizar para obter imagem funcionais, foi preciso analisar cada conjunto de imagens de modo a verificar se existia ou não activação, e de que forma variou a activação de acordo com os parâmetros em estudo. Foram analisadas a intensidade e extensão da activação.

Da RM anatómica foram obtidas as imagens de alta resolução ponderadas em T1, ver Figura 8, e a partir de uma sequência eco de gradiente com dois tempos de eco diferentes, foi calculado um mapa do campo magnético principal (B_0), figura 9.

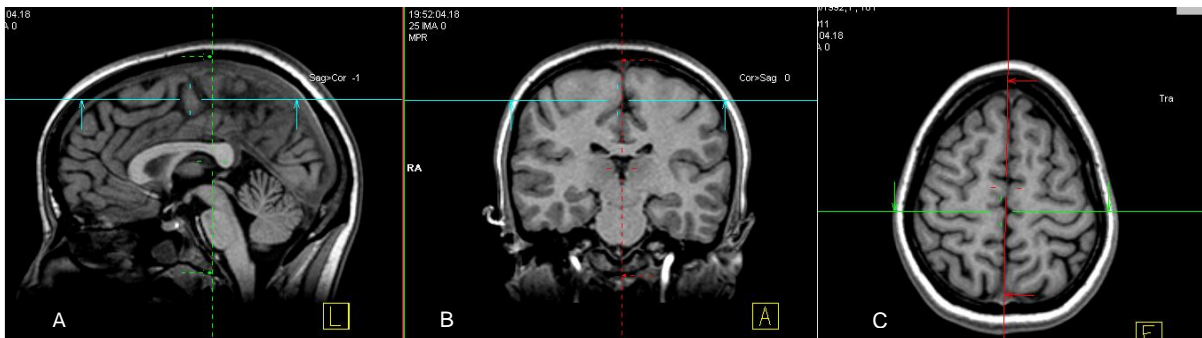
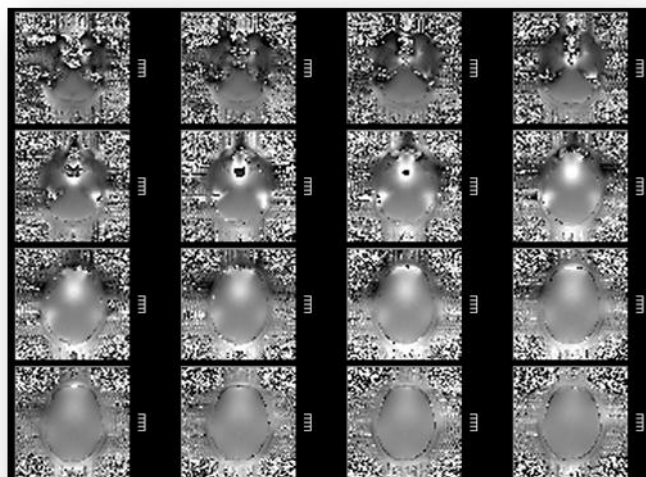


Figura 8 – Imagens RM ponderadas em T1 de alta resolução. A – plano sagital; B – plano coronal; C – plano axial

Figura 9 – Mapa do campo estático B_0 obtido a partir de imagens de eco de gradiente obtidas com 2 tempos de eco diferentes



4.1 – Resultados paradigma

Nos 15 voluntários estudados, que realizaram o protocolo BOLD 1, foi obtida activação em todas as aquisições, com os vários paradigmas, no córtex motor da mão dominante. Como exemplo são apresentadas nas Figuras abaixo (10 e 11), imagens obtidas para o mesmo voluntário, analisadas utilizando o FSL e a *Workstation* Leonardo.

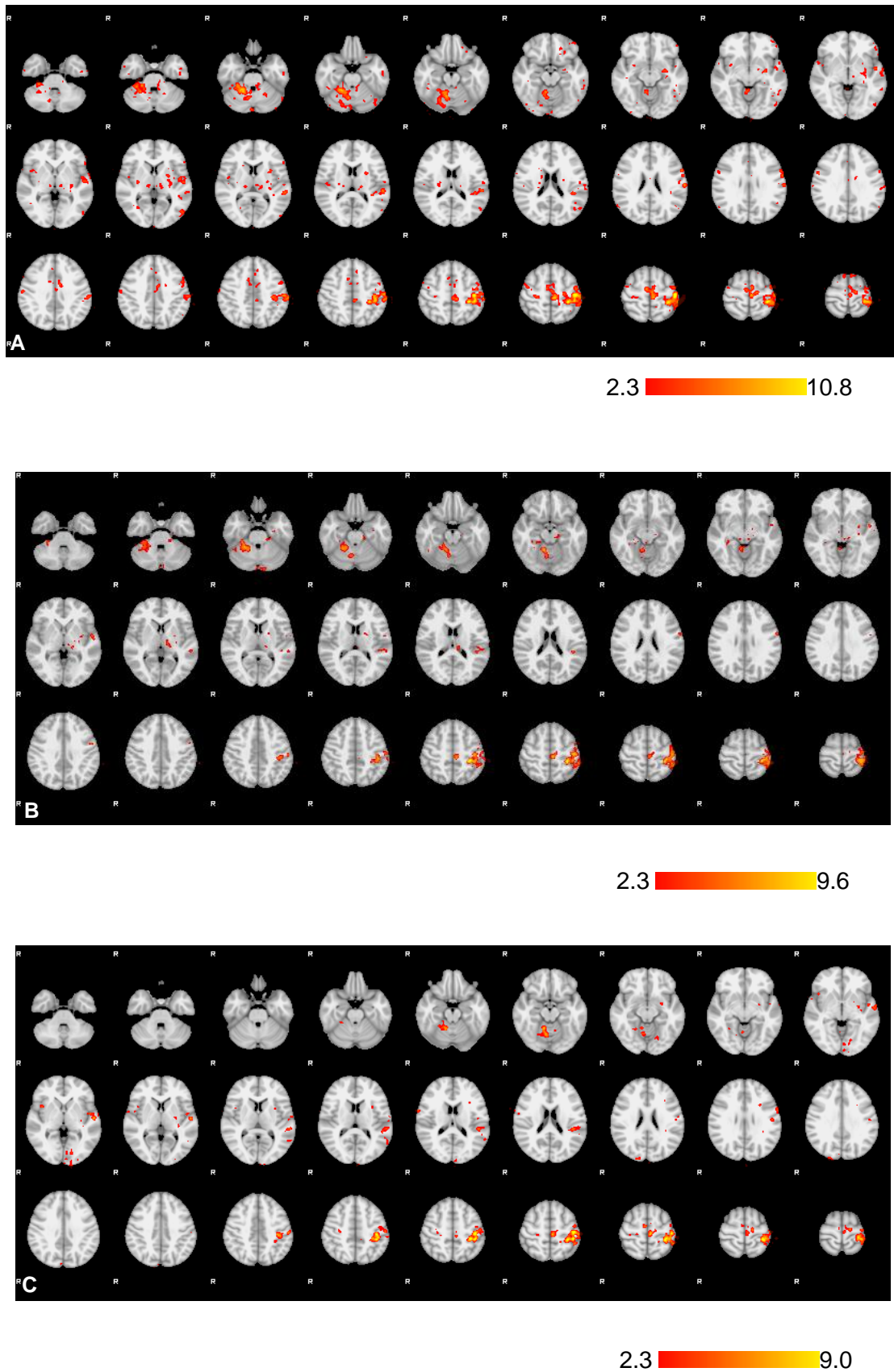


Figura 10 – Mapas de activação obtidos no FSL, com limiar 2.3. A - 2 Repetições TE 50; B – 3 Repetições TE 50; C – 5 Repetições TE 50, para o mesmo voluntário.

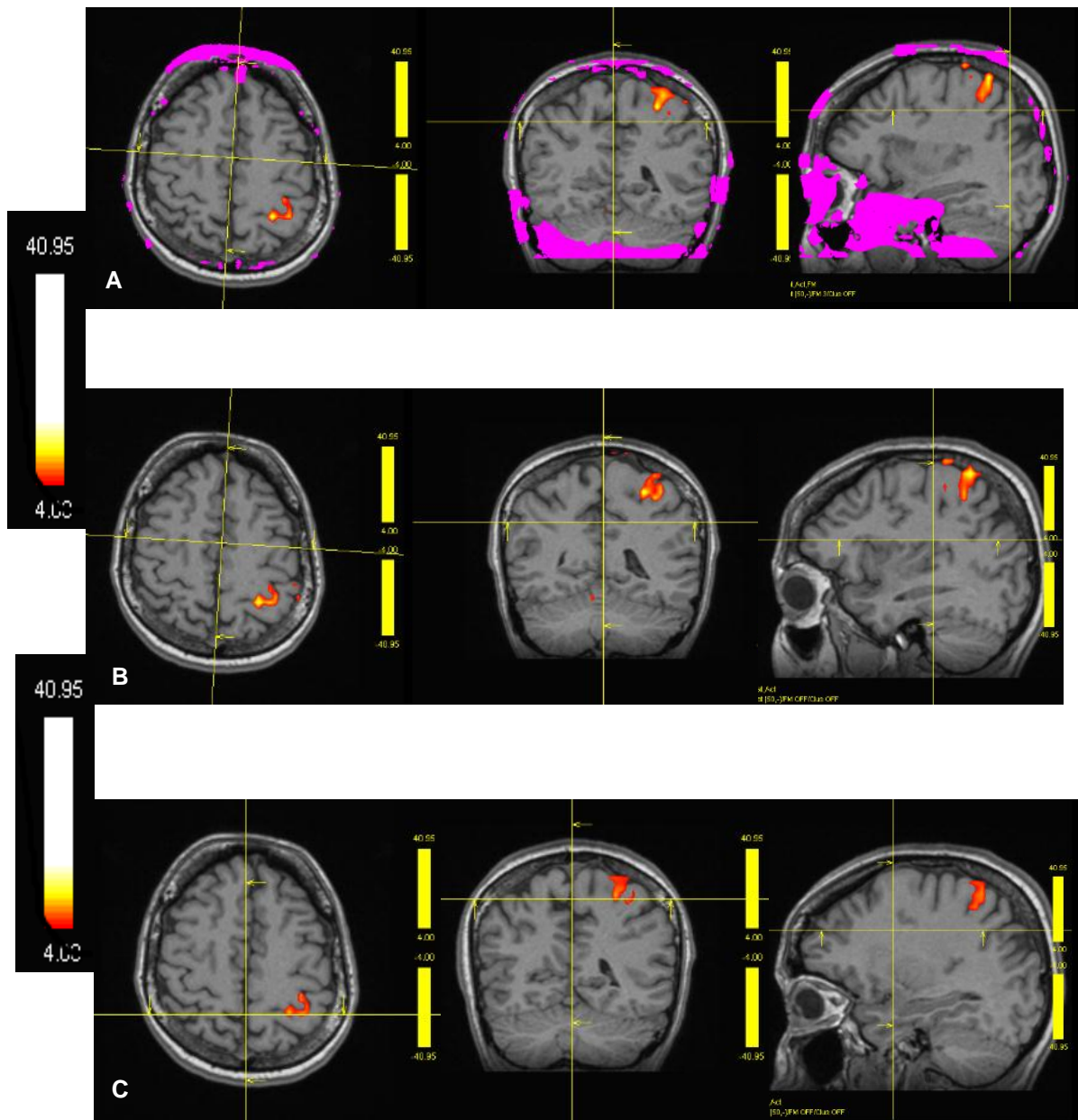
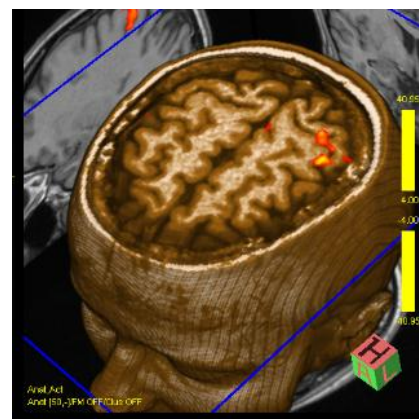


Figura 11 – Mapas de activação obtidos na *workstation Leonardo*, com limiar 4.0. A - 2 Repetições TE 50; B – 3 Repetições TE 50; C – 5 Repetições TE 50, para o mesmo voluntário.



O resultado do número de *pixels* activados com a variação das repetições com limiar 2.3 é apresentado no gráfico 1 e com limiar 4.0 no gráfico 2 (valores em anexo). Os gráficos mostram o número médio de pixels que foram activados, com barras de erro correspondentes ao desvio padrão associado.

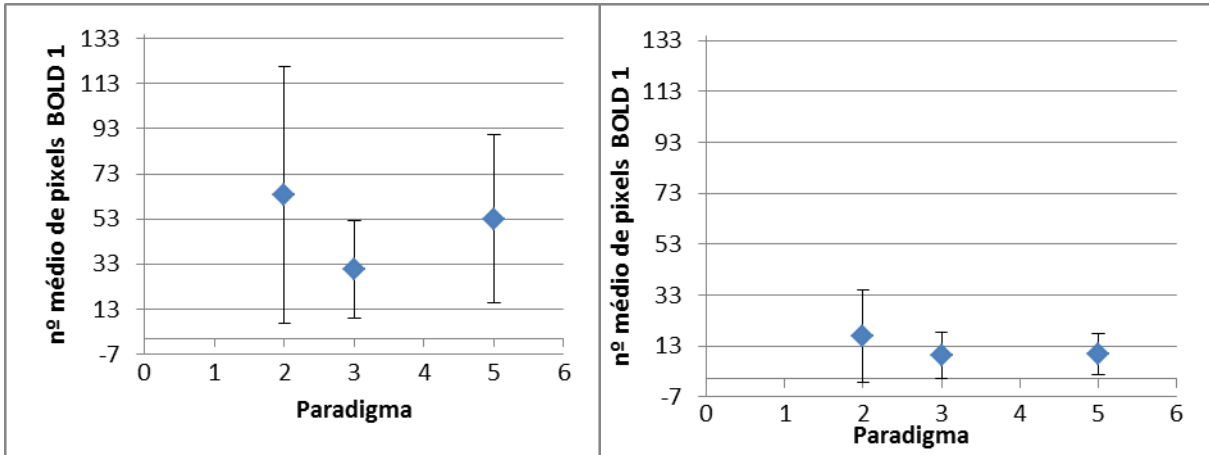


Gráfico 1 – Média do número de *pixels* activados com limiar de 2.3.

Gráfico 2 – Média do número de *pixels* activados com limiar de 4.0.

Nos gráficos abaixo é apresentado o z-score médio para os diferentes paradigmas com barras de erros correspondentes ao desvio padrão (valores em anexo). O limiar de z-score utilizado para definir activação foi de 2.3 no gráfico 3 e 4.0 no gráfico 4.

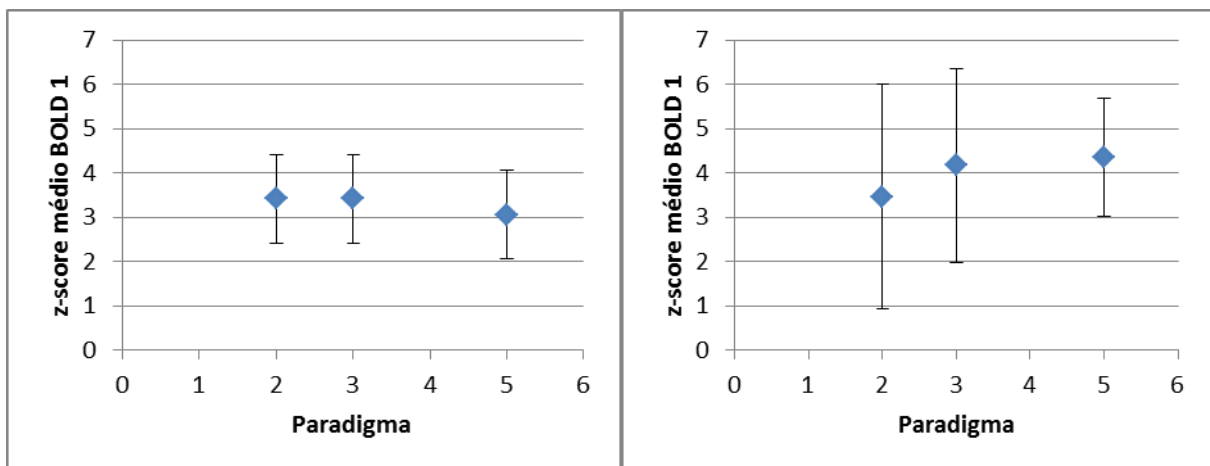


Gráfico 3 – z-score médio com limiar de 2.3.

Gráfico 4 – z-score médio com limiar de 4.0.

Na Tabela 3, são apresentados os resultados obtidos com o teste estatístico de *Kruskal-Wallis*.

2.3	TE =50	4.0	TE =50
	BOLD 1		BOLD 1
Pixel	p = 0,106	Pixel	p = 0,521
Z-score	p = 0,294	Z-score	p = 0,239

Tabela 3 - Resultados estatísticos obtidos relativamente à variação do paradigma

Considerando as várias repetições (2,3,5) e um z-score de 2.3, o valor de p é 0,106, o que significa que as diferenças entre as várias repetições não são significativas para um nível de significância (*valor p*) de 5%, pelo que não é possível rejeitar a hipótese H_0 . Verificamos a mesma situação para o limiar de 4.0, uma vez que o valor p é de 0,521 e portanto igualmente superior a 0,05 (ver tabela acima).

O teste de *Kruskal-Wallis* permite portanto concluir que, para um nível de confiança de 95% os valores obtidos com diferentes tipos de paradigmas não são significativamente diferentes.

4.2 – Resultados TE

Nos 19 voluntários estudados, que realizaram o protocolo BOLD 2, foi obtida activação no córtex motor da mão dominante, em todas as aquisições, como podemos visualizar nas imagens abaixo analisadas através do FSL e na Workstation *Leonardo*, do mesmo voluntário.

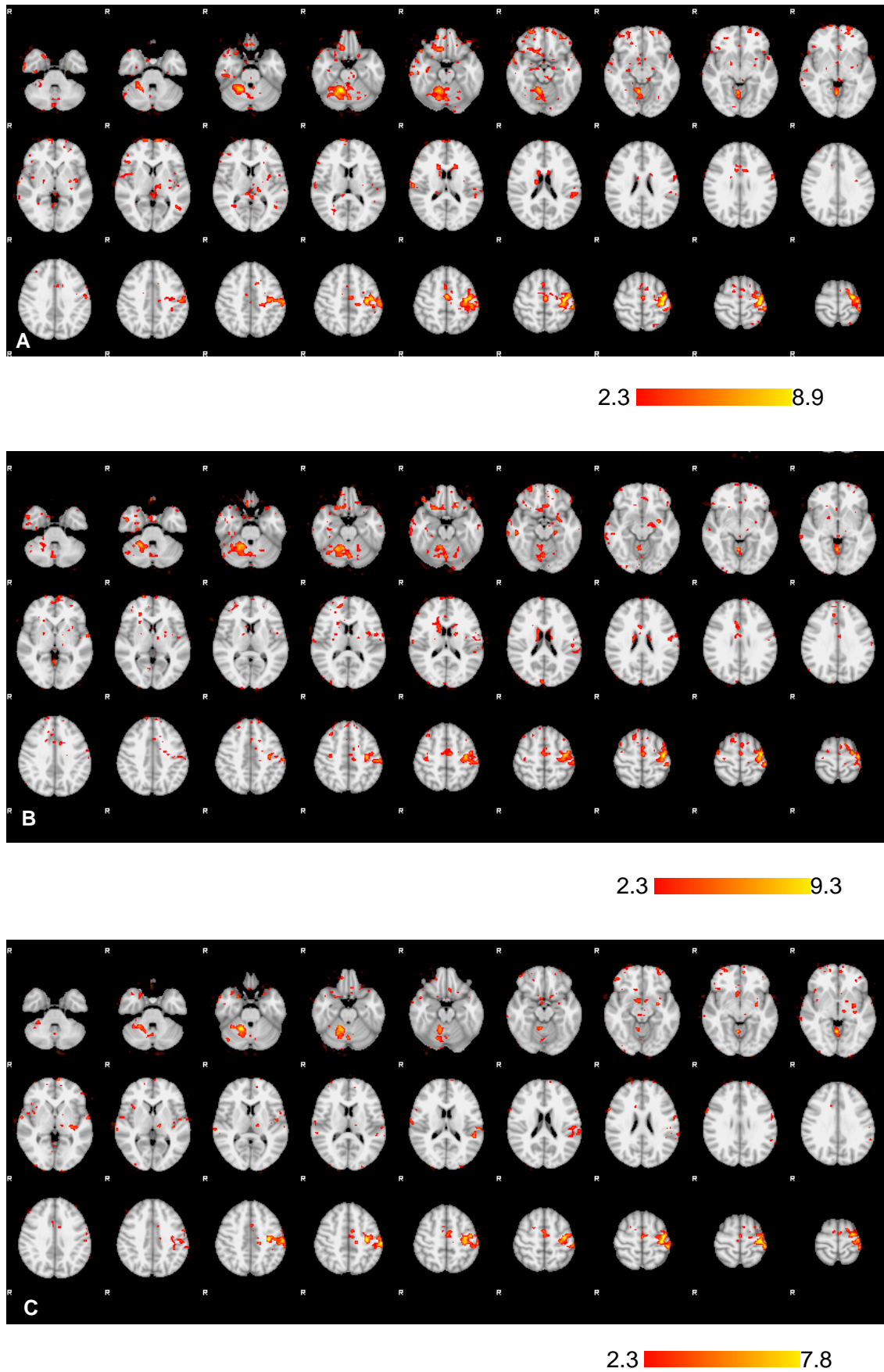


Figura 12 – Mapas de activação obtidos no FSL, com limiar 2.3. A - 3 Repetições TE 45; B – 3 Repetições TE 50; C – 3 Repetições TE 55, para o mesmo voluntário.

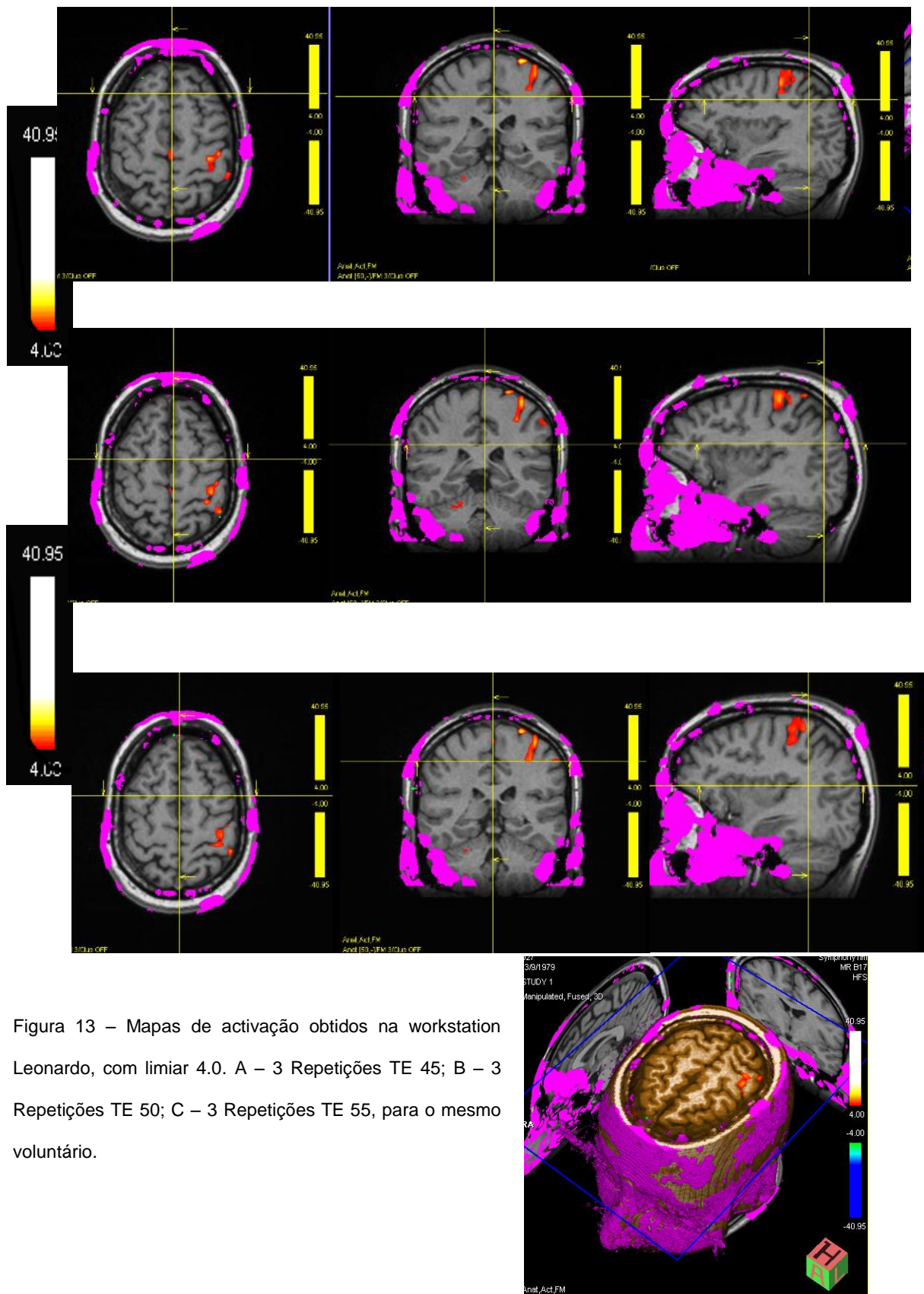


Figura 13 – Mapas de activação obtidos na workstation Leonardo, com limiar 4.0. A – 3 Repetições TE 45; B – 3 Repetições TE 50; C – 3 Repetições TE 55, para o mesmo voluntário.

O resultado para o número de *pixels* activados com a variação do TE com limiar 2.3 é apresentado no gráfico 5 e com limiar 4.0 no gráfico 6 (valores em anexo). Os gráficos mostram o número médio de *pixels* que foram activados e o respectivo desvio padrão.

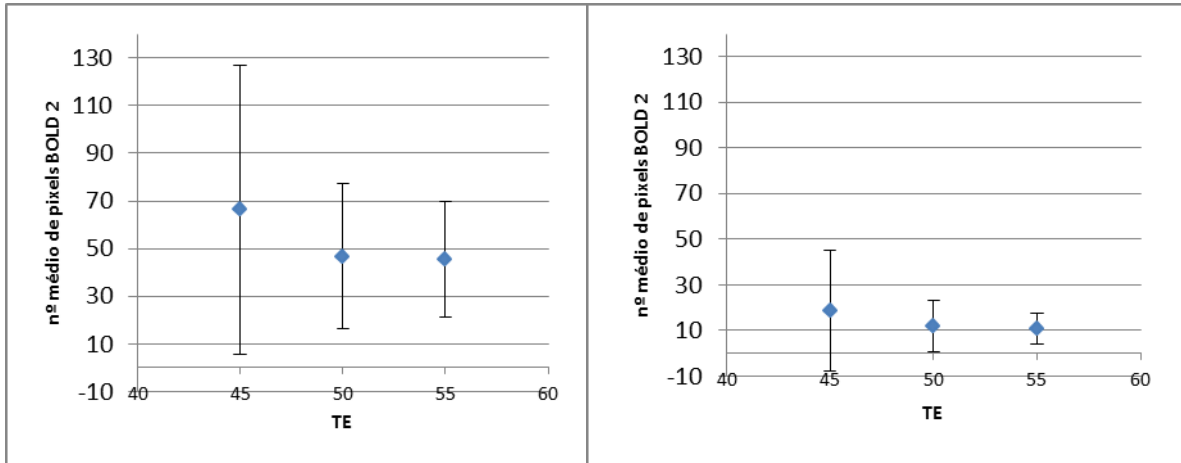


Gráfico 5 – Média do número de *pixels* activados com limiar de 2.3.

Gráfico 6 – Média do número de *pixels* activados com limiar de 4.0.

Resultados para o Z-score com a variação do TE, com limiar 2.3 é mostrado no gráfico 7 e com limiar 4.0 no gráfico 8 (valores em anexo). Os gráficos mostram a média do Z-score e o respectivo desvio padrão.

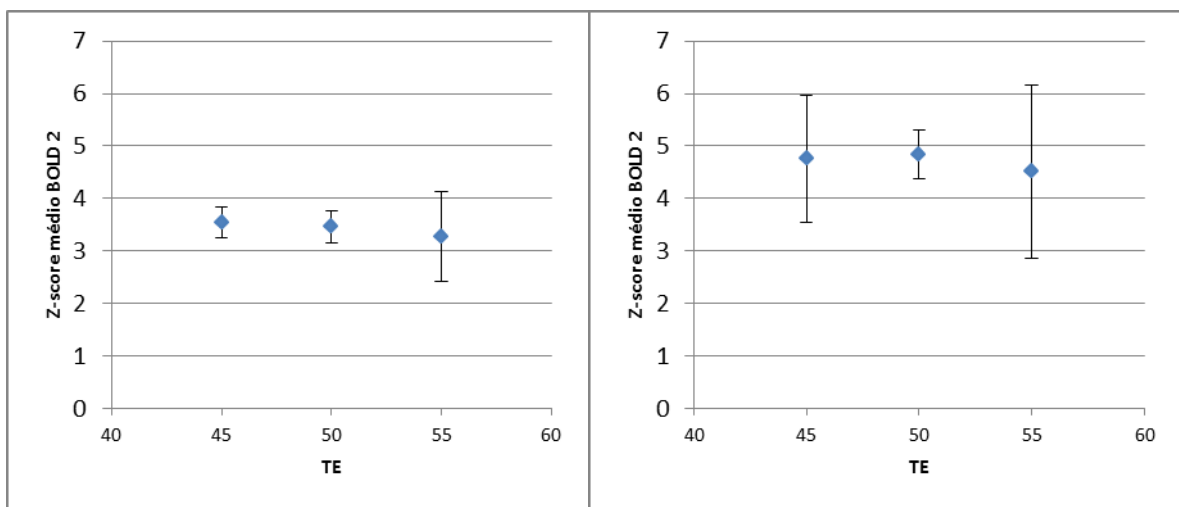


Gráfico 7 – z-score médio com limiar de 2.3.

Gráfico 8 – z-score médio com limiar de 4.0.

De acordo com o teste estatístico de Kruskal-Wallis, se for aceite a hipótese nula (H0) é possível concluir que o número de *pixels* activados durante a realização do paradigma não varia com os diferentes valores de TE.

Se a hipótese alternativa (H1) for aceite, significa que o número de *pixels* activados varia com os diferentes valores de TE. Na Tabela 4 são apresentados os resultados obtidos para este teste.

<u>2.3</u>	<u>Paradigma 3</u>	<u>4.0</u>	<u>Paradigma 3</u>
	<u>BOLD 2</u>		<u>BOLD 2</u>
<u>pixel</u>	p = 0,524	<u>pixel</u>	p = 0,401
<u>Z-score</u>	p = 0,228	<u>Z-score</u>	p = 0,354

Tabela 4 - Resultados estatísticos obtidos relativamente à variação do TE

Para um nível de significância (*P-value*) de 5%, para os 3 valores de TE (45, 50, 55) com limiar de 2.3, o valor de *p* é de 0,524 pelo que verificamos que as diferenças não são significativas entre os 3 valores de TE e não podemos por isso rejeitar a hipótese H0. O mesmo acontece para o limiar de 4.0, uma vez que *P-value* é superior a 0,05 (ver tabela acima).

Assim, o teste de *Kruskal-Wallis* permite concluir que para um nível de confiança de 95%, os valores obtidos com diferentes valores de TE, não são significativamente diferentes.

4.3 – Resultados do paciente com MAV

No paciente estudado, foi obtida activação no córtex motor da mão dominante. A aquisição das imagens foi realizada com valor de TE de 50 ms e um paradigma de 3 repetições, como podemos visualizar nas imagens apresentadas abaixo, analisadas através do FSL e na *Workstation* Leonardo.

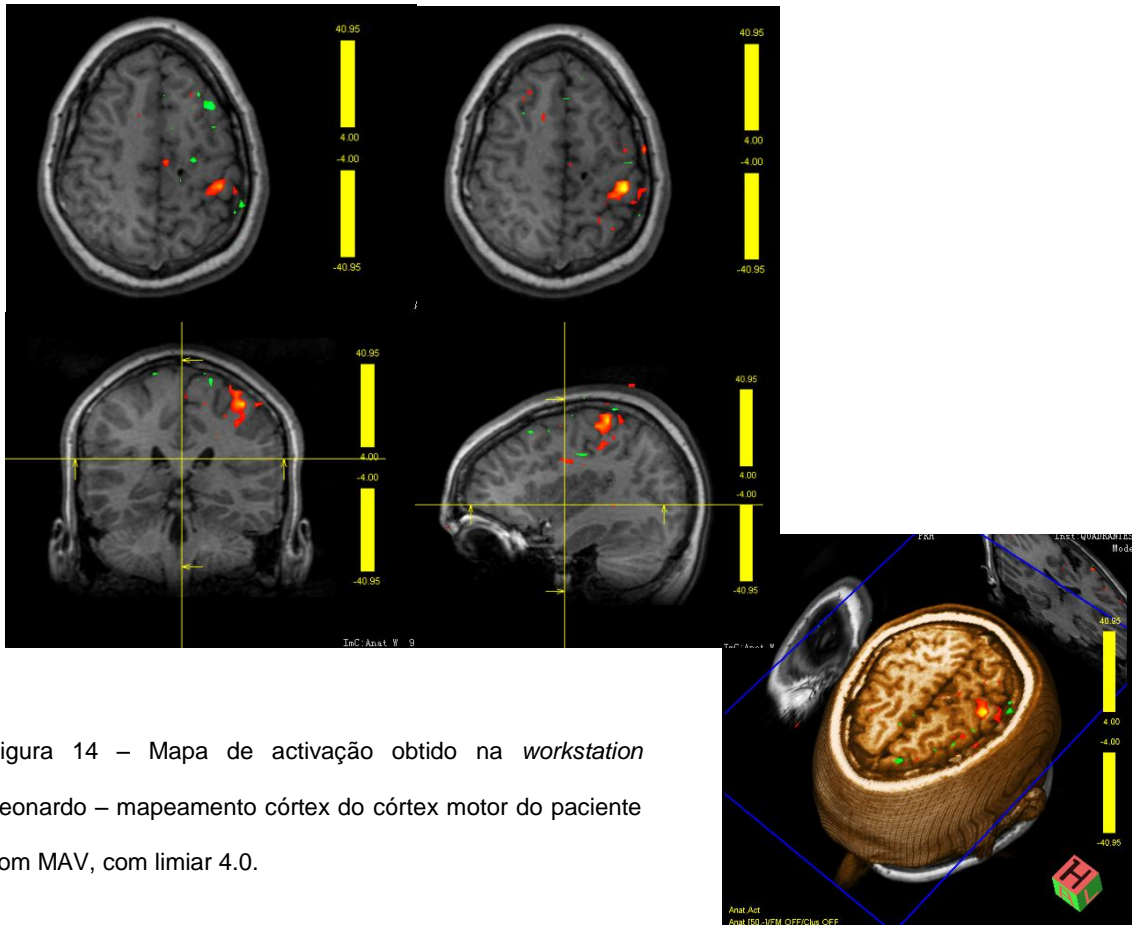


Figura 14 – Mapa de activação obtido na *workstation* Leonardo – mapeamento córtex do córtex motor do paciente com MAV, com limiar 4.0.

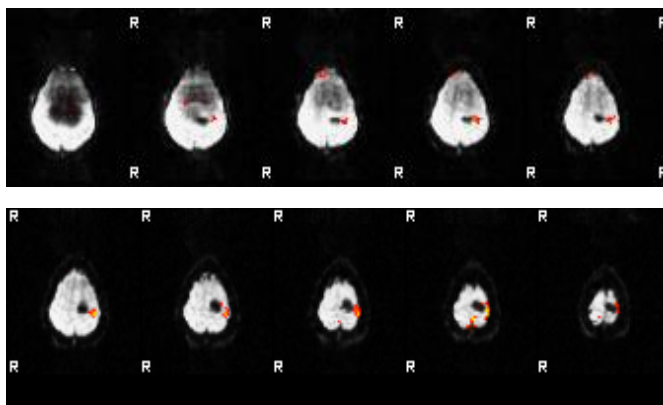


Figura 15 – Mapa de activação obtido no FSL – mapeamento córtex do córtex motor do paciente com MAV, com limiar 2.3.



4.4 – Resultados dos dados complementares

No voluntário estudado para a aquisição de dados funcionais da língua e do pé, foi obtida activação nos dois casos.

Foram analisadas as imagens funcionais obtidas e verificamos que houve activação na zona esperada, de acordo com o mapa somatotópico. Isso mostra que o efeito de contraste BOLD, tem resultado não só no córtex motor da mão mas também nas regiões que controlam a língua e o pé, ver figuras 16 e 17.

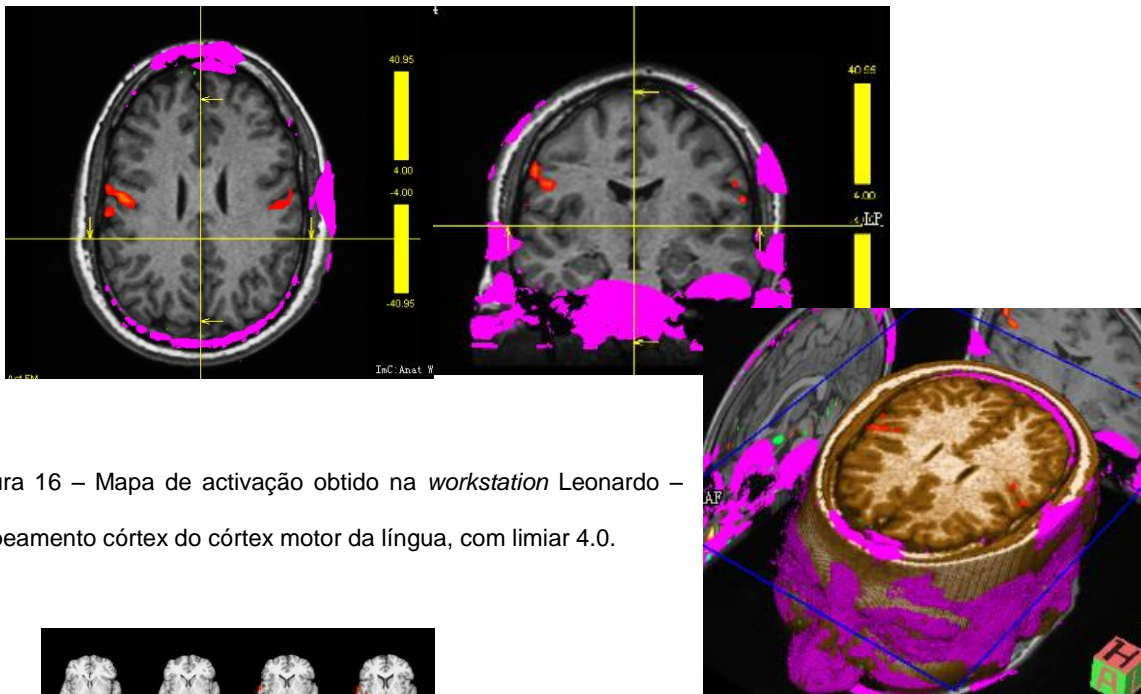


Figura 16 – Mapa de activação obtido na *workstation* Leonardo – mapeamento córtex do córtex motor da língua, com limiar 4.0.

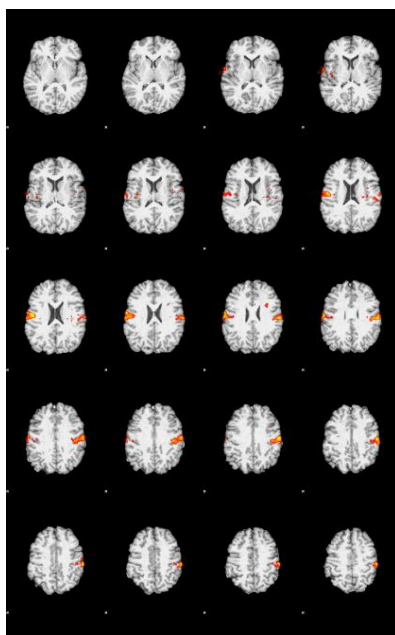


Figura 17 – Mapa de activação obtido no FSL – mapeamento córtex do córtex motor da língua, com limiar 2.3.



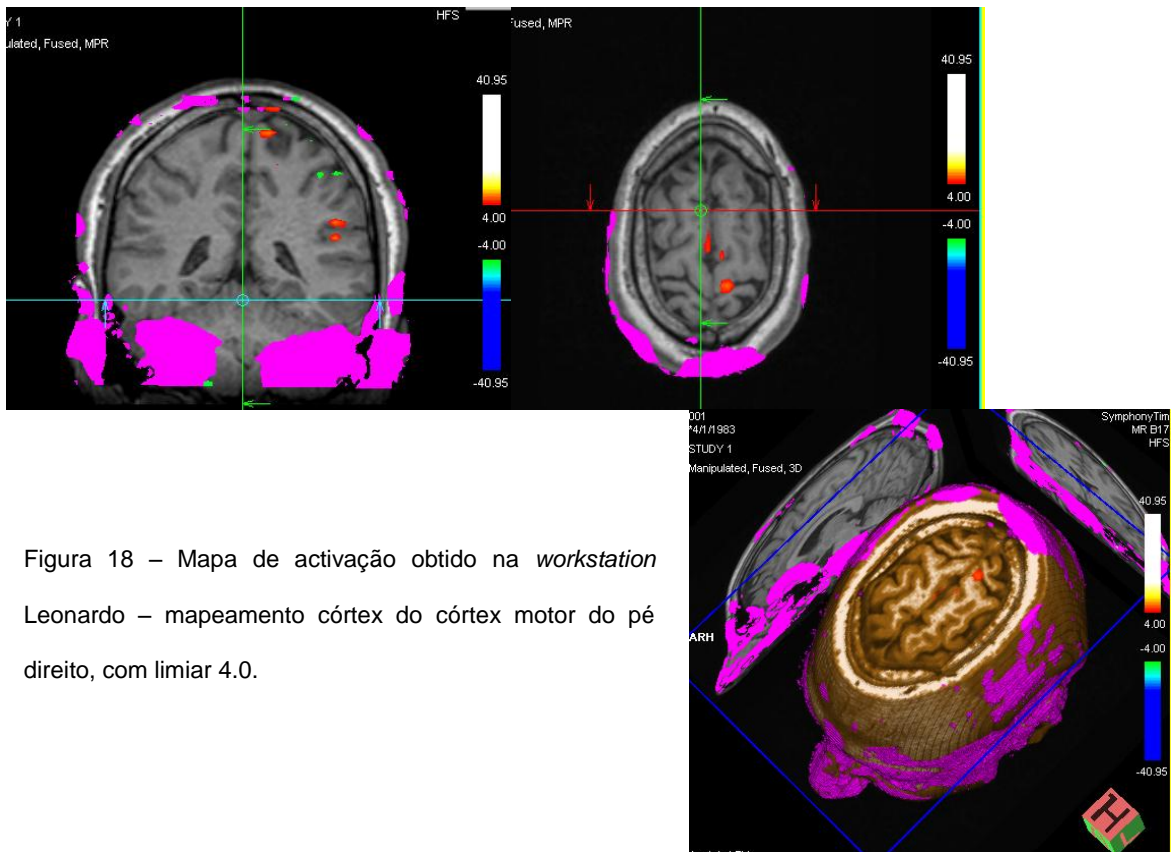


Figura 18 – Mapa de activação obtido na *workstation* Leonardo – mapeamento córtex do córtex motor do pé direito, com limiar 4.0.

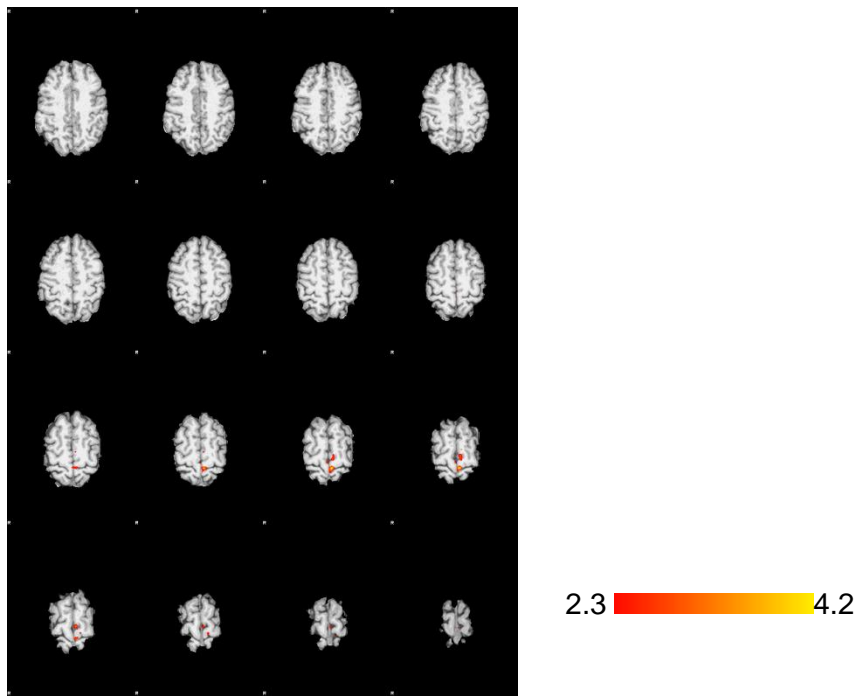


Figura 19 – Mapa de activação obtido no *FSL* – mapeamento córtex do córtex motor do pé direito, com limiar 2.3.

Capítulo 5

Discussão / Conclusão

Neste capítulo são discutidos todos os resultados obtidos, de modo a apresentar uma síntese do trabalho realizado durante os 3 meses. São ainda apresentadas algumas das limitações do estudo e as dificuldades encontradas durante a aquisição dos dados.

5.1 – Tipo paradigma

O que se pretendia era escolher o paradigma que permitisse obter de forma reprodutível activação no córtex motor correspondente à mão dominante.

Os paradigmas utilizados tinham em comum o número de volumes adquiridos: 60 + 3. Partindo deste valor foram criados os 3 tipos de paradigma (2, 3 e 5 repetições) em que o número de volumes correspondente a cada bloco de activação variou, de forma a perceber qual seria o mais indicado para este estudo. Foi tido em conta a duração do bloco de activação, evitando-se que este fosse demasiadamente longo, para que os voluntários não ficassem demasiadamente cansados e por isso não executassem o paradigma de forma incorrecta. Por outro lado, procurou-se também que a duração de cada bloco de activação não fosse demasiadamente curta, havendo tempo para que a resposta hemodinâmica terminasse antes do início do bloco de repouso seguinte.

O paradigma com 2 repetições, como já foi referido, tem períodos de activação e de repouso com uma duração de 60 segundos cada. É possível que, apesar do cuidado tido, estes períodos sejam ainda assim demasiado longos e que alguns voluntários tenham ficado cansados, levando a que possam não ter executado a tarefa de forma adequada durante a sua duração completa. Uma das consequências poderá ter sido uma variação da frequência do movimento, e eventualmente mesmo uma paragem completa o que teria um impacto negativo nos resultados.

O paradigma com 3 repetições, tem períodos de activação e de repouso com 40 segundos cada, permite que o tempo entre cada tarefa seja distribuído de forma mais

razoável e que já não seja tão cansativa a sua execução comparativamente com o paradigma anterior.

O último paradigma, com 5 repetições de períodos de activação e repouso mais curtos (24 segundos) levava a que existissem mais momentos de transição. Estes momentos podem estar associados a um nível mais elevado de artefactos de movimento, para além de provocarem mais oscilações no sinal BOLD.

Após a realização do protocolo BOLD 1, aos 15 voluntários, foi pedido o seu feedback relativamente às tarefas que realizaram. A maioria dos voluntários referiu que o paradigma com 3 repetições é o mais confortável de realizar e que o tempo está bem dividido entre estar a realizar a tarefa e estar em repouso. Com esta informação dos voluntários e com a verificação na Workstation *Leonardo*, que este paradigma tinha activação em todos os eles, foi decidido entre os elementos que participam neste projecto que este paradigma seria utilizado no protocolo BOLD 2, no qual apenas há variação do TE.

No entanto, de acordo com os resultados obtidos, verificamos que não há diferença significativa entre os diferentes paradigmas. Porém, comparando os resultados obtidos para os diferentes paradigmas, verificou-se que o desvio padrão associado ao resultado obtido com o paradigma de 3 repetições é bastante mais baixo que os restantes, o que significa que a activação adquirida foi a mais constante e coerente entre os 15 voluntários.

Quando são realizados estudos com voluntários, é necessário analisar todos os dados adquiridos de forma crítica. Esta situação deve-se ao facto de ser possível que um ou mais voluntários possa(m) realizar a tarefa de forma incorrecta. Se tal tivesse acontecido de forma óbvia no presente estudo, ter-se-ia optado por excluir os dados desse(s) voluntários para evitar uma redução no efeito observado²¹.

As aquisições foram realizadas alterando a ordem das várias sequências, para que esta não influenciasse os resultados finais. Se a ordem da realização das tarefas for sempre a mesma pode influenciar os resultados, pois pode levar a que o voluntario crie uma habituação ao longo do tempo, por exemplo.

É de salientar que, antes da aquisição se teve o cuidado de treinar e explicar todo o procedimento aos voluntários, de modo a evitar que este problema surgisse neste estudo.

Como todos os voluntários cooperaram de forma positiva e os resultados obtidos foram os esperados, podemos concluir que a realização dos paradigmas foi realizada com sucesso.

De facto, encontrar o paradigma mais adequado para os voluntários e a sua aplicação em pacientes com patologia não é a mesma coisa. É possível ajustar o paradigma, relativamente ao nível da dificuldade, a cada paciente e de acordo com a sua patologia. Para tal, antes da realização da sessão de RMf é fundamental que se efectue um treino com o paciente de modo a permitir a avaliação da situação.

Quando é aplicado o paradigma existe um atraso entre o sinal BOLD máximo e o início da tarefa, sendo esta uma das limitações neste processo de aquisição de imagens. A resposta hemodinâmica pode levar até 6 segundos. A resposta hemodinâmica (HRF- *Hemodynamic Response Function*) foi modelada de forma a ter em conta o seu efeito no sinal BOLD nos períodos de transição, como ilustrado na Figura 20 – para tal foi utilizada a função HRF standard no FEAT. Os 3 primeiros volumes foram excluídos para permitir que a magnetização longitudinal alcançasse um estado estacionário.

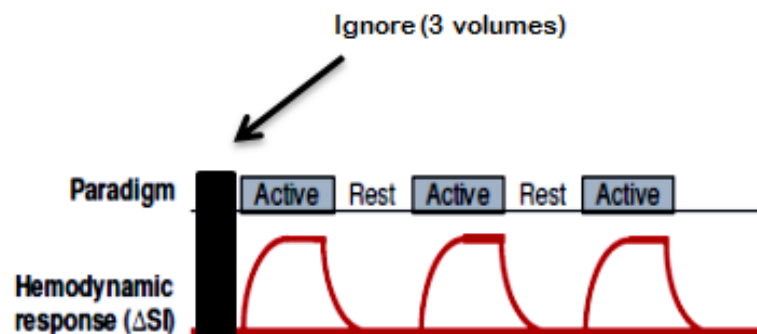


Figura 20 - Diagrama do paradigma em blocos. Fonte: Siemens¹⁰

Assim verifica-se que a escolha do *design* do paradigma é bastante relevante na aquisição das imagens, pois uma escolha cuidada contribui para a obtenção de bons resultados nas imagens funcionais.

A aplicação do paradigma motor apresenta alguns problemas, pois depende unicamente do voluntário. Por esse motivo, os paradigmas que foram utilizados neste projecto foram pensados para que não só os voluntários os conseguissem executar mas também os pacientes com patologia.

O resultado obtido depende da correcta realização do paradigma, se este não for realizado de forma eficiente, a região alvo pode não apresentar uma variação de sinal estatisticamente significativa.

5.2 – Variação TE

De acordo com alguns estudos efectuados^{19,22,23}, a forma de aumentar a sensibilidade da medição neuronal é através da utilização de sequências ponderadas em T2* e escolher o TE adequado, de modo a otimizar a aquisição das imagens em estudo. A ponderação T2* adquirida na imagem depende do valor de TE.

Se o TE é muito curto, não haverá diferença significativa entre as curvas do estado de repouso e do estado de activação de T2*, logo o contraste BOLD é reduzido. No entanto se o TE for muito longo, não irá haver sinal de qualquer um dos estados. De forma a obter o sinal máximo do efeito BOLD para uma determinada região, o valor do TE deve ser aproximadamente igual ao T2* da substância cinzenta¹⁹.

A homogeneidade do campo magnético é também importante, pois influencia o valor de TE óptimo para a aquisição de dados funcionais¹⁰.

Como já foi referido o efeito BOLD é medido em imagens ponderadas em T2* e é então influenciado pelos efeitos dos gradientes de B0, ou seja, em regiões com uma grande diferença de susceptibilidade entre tecidos (por exemplo seios peri nasais), a RSR é reduzida, existindo áreas que perdem mesmo o sinal.

Vários autores referem também que TEs curtos reduzem os artefactos de susceptibilidade, mas aumenta a relação sinal ruído (RSR) o que permite obter um menor sinal BOLD, em regiões afectadas pelos artefactos^{19,22}.

Existem outros parâmetros que também podem ter um efeito significativo sobre o efeito BOLD, tais como o tamanho do voxel, a espessura do corte, e o TR, sendo que neste projecto analisámos apenas o TE e o paradigma¹⁰.

De acordo com os resultados obtidos, verificámos que para vários valores de TE testados se obteve activação, sendo possível identificar correctamente o córtex motor. Visto que a nossa zona de interesse não é afectada directamente pelas regiões onde os artefactos de susceptibilidade se fazem sentir com mais intensidade, utilizar um valor de TE curto não irá afectar o sinal BOLD¹⁹.

Durante a aquisição das imagens funcionais, foi tido em conta o cansaço que poderia existir após alguns minutos da realização da tarefa motora. Visto que cada protocolo tem 3 aquisições de imagens e para que estas fossem efectuadas de forma constante e sem influências do voluntário, as imagens funcionais foram adquiridas com um intervalo de segurança de 2 minutos, entre cada sequência, de modo a que todas as aquisições fossem realizadas com um movimento constante e regular.

Neste projecto, como já foi mencionado, foram utilizados 3 valores de TE. Estes valores de TE foram escolhidos de acordo com a pesquisa bibliográfica realizada anteriormente, e tendo como base o valor de TE pré-definido no equipamento de RM utilizado.

Foram utilizados os valores de TE de 45, 50, e 55 ms para a aquisição de imagens funcionais. Estes valores foram seleccionados com um intervalo simétrico de modo a tentar perceber de que forma é que varia a activação do córtex motor em função do valor de TE. Outros estudos foram efectuados com o mesmo objectivo mas o intervalo de variação era substancialmente maior^{23,24}.

Os resultados obtidos mostram que não há diferenças significativas entre os valores de TE utilizados, ou seja, para cada um dos valores de TE aplicados foi possível obter contraste BOLD na imagem.

Tal como aconteceu para os resultados dos vários tipos de paradigma, aqui também obtivemos resultados interessantes. Como já foi referido, comparando os resultados para os diferentes TEs, não foram obtidas diferenças estatisticamente significativas, mas o desvio padrão obtido para o TE de 50 foi relativamente mais baixo comparado com os outros valores, isto significa que a activação adquirida com este tempo de eco foi mais persistente e coerente entre os 19 voluntários.

Como conclusão deste projecto, a RMf é uma técnica fundamental na investigação funcional do cérebro humano. Esta técnica é complexa, precisa de ser aplicada de forma cuidada e planeada de acordo com a situação que estamos a estudar. É também importante a compreensão dos mecanismos fisiológicos subjacentes ao efeito de contraste BOLD.

Para os 34 voluntários estudados, a RMf mostrou eficácia na localização do córtex motor para os vários paradigmas utilizados.

De acordo com o que foi referido no estado de arte, também concluímos que a RMf é um método sensível e específico para o mapeamento do córtex motor, mas ainda não está totalmente estabelecida como método de diagnóstico.

Em suma, optimizou-se o protocolo de mapeamento do córtex motor através do efeito BOLD em voluntários saudáveis, para aplicações posteriores em pacientes com patologia.

As limitações inerentes a este estudo prendem-se, nomeadamente, com o tempo útil para a aquisição de dados, com o tipo e tamanho de amostras, que podem comprometer a generalização dos dados obtidos.

Outra limitação prende-se com facto de não ter sido possível ter acesso a pacientes oncológicos com lesões próximas ou até mesmo no córtex motor. Esta limitação foi crucial, pois não foi possível aplicar esta técnica optimizada em pacientes com doença e verificar a sua importância, apenas aplicámos a um paciente com uma MAV.

Capítulo 6

Pesquisa Futura

O presente estudo deixa em aberto algumas áreas de pesquisa futura, no que diz respeito à utilização e combinação com outras técnicas.

Da realização deste projecto de investigação verifica-se que a RMf tem vindo a ser cada vez mais utilizada em estudos para o mapeamento cerebral, quer em indivíduos saudáveis quer em pacientes com patologias diversas, nomeadamente em oncologia. A aplicação da RMf nestes pacientes para a realização da cirurgia é importante, pois o conhecimento exacto da localização das áreas cerebrais circundantes do tumor poderá permitir evitar danos permanentes à função neurológica.

A RM é bastante utilizada para detectar a actividade neuronal através do efeito BOLD, mas existem diferentes métodos que seria interessante explorar, como a ASL. Este método permite estudar a perfusão cerebral utilizando as moléculas de água como traçador endógeno. Segundo estudos já efectuados ²⁵, este método é mais robusto que o efeito BOLD e é mais consistente em todas as aquisições efectuadas. Apesar das potenciais vantagens, a ASL é uma técnica ainda pouco utilizada para a realização da RMf, pelo facto de ser necessária uma sequência de aquisição especialmente dedicada a esta técnica que ainda é pouco comercializada.

A combinação da RMf com outras técnicas (EEG / MEG) tem também sido alvo de um interesse crescente, uma vez que estas permitem obter informação complementar relativamente à RMf devido à elevada resolução temporal que permitem atingir. No caso da EEG, existe ainda a grande vantagem de ser possível obter registos de EEG durante o exame de RMf.

Em estudos futuros, seria ainda interessante complementar o protocolo implementado utilizando também outras técnicas de RM, tais como a espectroscopia e o tensor de difusão (DTI).

A técnica de RMf BOLD não depende apenas dos parâmetros aqui estudados, existindo outros que também podem ter um efeito significativo sobre o contraste obtido e que deveriam ser motivo de estudo, como por exemplo: o tempo de repetição (TR), espessura de corte e tamanho do voxel.

Para completar o estudo aqui apresentado, seria interessante fazer uma análise de mais valores de TE com intervalos curtos e também minimizar o tempo de aquisição, pois pode ter importância na prática clínica.

Finalmente, um desafio persistente em RMf é a aplicação em campos magnéticos cada vez mais elevados, com o objectivo de melhorar a RSR e obter melhores resoluções espacial e temporal.

Capítulo 7

Referências bibliográficas

1. Stippich C, editors. Clinical Functional MRI: Presurgical functional neuroimaging. New York-Heidelber-Tokyo:Springer;2007.
2. Shah LM, Andreson JS, Lee JN, Wiggins R. Functional Magnetic Resonance Imaging. Seminars in Roentgenology. 2009;09.005:147-156.
3. Roy SC, Sherrington CS. On the regulation of blood supply of the brain. J physiol.1890;1:85–108.
4. Vlieger EJ, Majoie CB, Leenstra S, Heeten GJ. Functional magnetic resonance imaging for neurosurgical planning in neurooncology. European Radiology. 2004; 14:1143-53.
5. Kokkonen SM, Nikkinen J, Remes J, Kantola J, Starck T, Haapea M et al. Preoperative localization of the sensorimotor area using independent component analysis of resting-state fMRI. Magnetic Resonance Imaging.2009;27:733-740.
6. Hernando CG, Esteban L, Canãs T, Brule EV, Pastrana M. The Role of Magnetic Resonance Imaging in Oncology. Clinical and Translational Oncology - Educational Series.2010; 12:606-613.
7. Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. Proc Natl Acad Sci USA. 1990;87:292-295.
8. Marques MC, editors. Ressonância Magnética. Imagiologia Clínica: Princípios e Técnicas. Hospitais da Universidade de Coimbra. Laboratórios Farmacêuticos ROVI.SA.; 2003.

9. Kim MJJ, Holodny AI, Hou BL, Peck KK, Moskowitz CS, Bogomolny DL, Gutin PH. The Effect of Prior Surgery on Blood Oxygen Level-Dependent MR Imaging in the Preoperative Assessment of Brain Tumors. *AJNR*.2005; 26:1980-85.
10. www.fmrib.ox.ac.uk/fsl
11. Huettel S.A, Song A.W, MaCarthy G. *Functional Magnetic Resonance Imaging*. Sinauer Associates. 2004.
12. Jezzard P., Matthews PM, Smith SM. *Functional MRI: An Introduction to methods*. Oxford University Press, 2001.
13. Liu TT. Efficiency, power, and entropy in event-related fMRI with multiple trial types. Part II: design of experiments. *NeuroImage*. 2003; 21: 401-413.
14. Faro SH, Mohamed FB. *Functional MRI – Basic principles and clinical applications*. USA, Springer. 2006.
15. www.siemens.com/
16. Wengenorh M, Blatow M, Guenther J, Akbar M, Tronnier VM, Stippich C. Diagnostic benefits of presurgical fMRI in patients with brain tumors in the primary sensorimotor cortex. *European Radiology*. 2011;
17. González-Darder JM, González-López P, Talamantes-Escribá F, García-March G, Roldán-Badía et al. Tratamiento de los tumores cerebrales intrínsecos de áreas motoras elocuentes. Resultados de un protocolo basado en la navegación, tractografía y monitorización neurofisiológica de estructuras corticales y subcorticales. *Neurocirugía*.2011;22:23-35.
18. Sunaert S. Presurgical Planning for Tumor Resectioning. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*. 2006;23:887-905.

19. Kopietz R, Albrecht J, Linn J, Polltos O, Anzinger A, Wesemann T, Fesl Gunther, Stephan T, Bruckmann H, Wiesmann M. Echo Time Dependence of BOLD fMRI Studies of the Piriform Cortex. *Clinical Neuroradiology*. 2009; 19:275-82.
20. Afonso A, Nunes C, Estatística e probabilidades: aplicações e soluções em SPSS. Lisboa: Escolar Editora, 2011.
21. www.asfnr.org
22. Luo Q, Gao J. Modeling Magnitude and Phase Neuronal Current MRI Signal Dependence on Echo Time. *Magnetic Resonance in Medicine*. 2010; 64:1832-1837.
23. Fera F, Yongbi M, Gelderen P, Frank J, Mattay V, Duyn J. EPI-BOLD fMRI of Human Motor Cortex at 1,5 T and 3.0 T: Sensivity Dependence on Echo Time and Acquisition Bandwidth. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2004; 19:19-26.
24. Gorno-Tempini M, Hutton C, Josephs O, Deichmann R, Price C, Turner R. Echo Time Dependence of BOLD Contrast and Susceptibility Artifacts. 2002;15:136-142.
25. Figueiredo P. Functional neuroimaging: from methods to applications. Biomedical Signal and Image Processing Lecture Series, 2º Ciclo de Estudos em Informática Médica, Faculty of Medicine University of Porto , 25th March 2011

Anexo I

Anexo II