



INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA



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

Instituto Superior de Engenharia de Lisboa
Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Aplicação para análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT

Maria Madalena Penaforte Pirão Elias

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de
Mestre em Engenharia Biomédica

Orientadores

Pedro Miguel Torres Mendes Jorge (ISEL)
Sérgio Rafael Reis Figueiredo (ESTeSL)

Dezembro de 2017

Aplicação para análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT

Maria Madalena Penaforte Pirão Elias

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do grau de
Mestre em Engenharia Biomédica

Orientadores

Pedro Miguel Torres Mendes Jorge (ISEL)
Sérgio Rafael Reis Figueiredo (ESTeSL)

Júri

Presidente: Maria Margarida Ribeiro, ESTeSL
Vogais: Pedro Almeida, IBEB-FCUL (Arguente)
Sérgio Figueiredo, ESTeSL (Orientador)

Dezembro de 2017

Agradecimentos

Para a realização deste trabalho final de mestrado, resultado de um longo percurso e muito trabalho, devo desde já demonstrar os meus sinceros agradecimentos a algumas pessoas que, de alguma forma, contribuíram para o decorrer deste processo.

Os meus especiais agradecimentos aos orientadores, o Professor Sérgio Figueiredo e o Professor Pedro Mendes Jorge, por todo o apoio e disponibilidade, por todas as sessões de “dúvidas”, pelos incentivos, e sugestões feitas durante a orientação. Sem dúvida que sem a vossa ajuda nada disto seria possível.

À equipa do Instituto de Medicina Nuclear NuclearMed do Hospital Particular de Almada, em especial ao Dr. Luís Oliveira e ao Técnico de Medicina Nuclear Edgar Lemos, pela sua disponibilidade e participação neste projeto.

À Professora Maria João Carapinha, que apesar do escasso tempo disponível, contribuiu para um projeto mais completo.

À Professora Elisabete Carolino, pela ajuda na análise estatística dos dados.

À Coordenadora do Mestrado em Engenharia Biomédica, Professora Cecília Calado e a todos os outros professores deste mestrado, pelo enriquecimento da minha aprendizagem ao longo destes dois anos.

Aos meus colegas de mestrado, em especial à Inês Linares, por toda a ajuda em momentos de “desespero” e “bloqueio”.

Aos meus pais, Luísa e João, pelo apoio de sempre em todos os momentos da minha vida.

A todos os meus familiares e amigos mais próximos pelo apoio constante e pela presença nas etapas mais importantes da minha vida e do meu percurso académico.

Agradeço a todos aqueles que participaram direta ou indiretamente para a concretização desta etapa.

A TODOS, O MEU MUITO OBRIGADA!

Atualmente, a Cintigrafia Cerebral com DaTSCAN™ SPECT é uma ferramenta que permite o auxílio no diagnóstico de Síndromes Parkinsonianas. É um exame da Medicina Nuclear (MN) cujas imagens são analisadas, na sua maioria, por inspeção visual de clínicos experientes. Em casos duvidosos, de forma a auxiliar o diagnóstico, existem aplicações comercialmente disponíveis que permitem a quantificação destes estudos a partir da segmentação do tecido estriado cerebral, maioritariamente de forma semi-automática com ajustes manuais por parte de um operador, cuja variabilidade intra e interoperador pode influenciar a quantificação destes estudos e, em última análise, o diagnóstico clínico.

De forma a colmatar este problema, o objetivo deste trabalho foi construir uma aplicação automática em linguagem de programação *Python*® para a análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT, provenientes do serviço de MN do Hospital Particular de Almada (HPA), constituído por 68 pacientes, com e sem patologia. De modo a comparar os rácios de captação específica obtidos para os corpos estriados, desenvolveu-se ainda uma aplicação semi-automática com ajustes manuais por parte de um operador. Finalmente os resultados obtidos foram comparados com a aplicação *DaTSCAN V4*, da *General Electric Healthcare*. Verificou-se que a aplicação automática desenvolvida consegue discriminar com sucesso os pacientes sem patologia dos pacientes com patologia nos rácios A (Corpos estriados/Occipital) (AUC=0,85, sensibilidade=80%, especificidade=90%), B (Corpo estriado esquerdo/Occipital) (AUC=0,82, sensibilidade=84%, especificidade=80%) e C (Corpo estriado direito/Occipital) (AUC=0,85, sensibilidade=80%, especificidade=90%), com forte correlação com os métodos semi-automáticos (*DaTSCANV4* e aplicação desenvolvida). Contudo, esta correlação não se observou para o rácio D (Corpo estriado esquerdo/Corpo estriado direito) (AUC=0,63, sensibilidade=56%, especificidade=70%). Verificou-se também a existência de variabilidade intra e interoperador nos métodos semi-automáticos, contrariamente à aplicação automática desenvolvida.

A implementação deste método para segmentação e quantificação de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT demonstrou resultados tendencialmente promissores, cuja potencialidade de aplicação pode complementar diferencialmente a análise visual, ainda que careça de otimização e validação futura.

Palavras Chave: DaTSCAN™; Segmentação de Imagem; Quantificação; Rácios de Captação Específica; Análise de Imagem Automática

Abstract

Currently, a Brain SPECT with DaTSCAN™ is a tool that helps diagnose of Parkinsonian Syndromes. It is an imaging technique of Nuclear Medicine, whose images are mostly analyzed by visual interpretation from experienced observers. In doubtful cases, in order to help the diagnosis, there are commercial software packages that allow the quantification of these studies from the segmentation of the striatum, mostly by semi-quantitative measures with manual adjustments from an operator, whose intra and inter-operator variability can influence the quantification of these studies and clinical diagnosis.

In order to overcome this problem, the main goal of this project is to construct an automatic application in Python for the analysis of transaxial slices of the striatum in images obtained by [¹²³I] FP-CIT SPECT from nuclear medicine department of the Hospital Particular de Almada, with 68 patients with and without pathology. In order to compare the specific uptake ratios for the striatum, a semi-automatic application was developed with manual adjustments by an operator. Finally the obtained results were compared with the DaTSCAN V4 application, from General Electric Healthcare. It was possible to verify that the automatic application developed successfully discriminates the healthy patients of the pathological ones in the ratios A (Striatum/Occipital) (AUC=0.85, sensitivity=80%, specificity=90%), ratio B (Left Striatum/Occipital) (AUC=0.82, sensitivity=84%, specificity=80%), and ratio C (Right Striatum/Occipital) (AUC=0.85, sensitivity=80%, specificity=90%), with a strong correlation with semi-automatic methods (DaTSCAN V4 and developed application). However, this correlation was not observed for the ratio D (Left Striatum/Right Striatum) (AUC=0.63, sensitivity=56%, specificity=70%). There was also an existence of intra- and inter-operator variability in semi-automatic methods, contrary to the automatic application developed.

The implementation of this method for segmentation and quantification of transaxial slices of the striatum in images obtained by [¹²³I]FP-CIT SPECT demonstrated promising results, whose potentiality of application can complement the visual analysis differently, even though it lacks future optimization and validation.

Keywords: DaTSCAN™; Image Segmentation; Quantification; Specific Uptake Ratios; Automated Image Analysis

Índice Geral

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Abstract	iv
Índice Geral	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	x
Lista de Abreviaturas	xi
CAPÍTULO I	1
1. Contextualização do tema	1
2. Problemática e objetivos	2
3. Contribuições	3
4. Estrutura do Trabalho Final de Mestrado	4
CAPÍTULO II	5
1. Enquadramento Fisiológico	5
1.1 Gânglios Basais	5
1.2 Sistema Dopaminérgico	6
1.3 Síndromes Parkinsonianos	7
2. Fundamentos de Imagem em Medicina Nuclear	9
2.1 Câmara-Gama.....	9
2.1.1 Formação de Imagem.....	11
2.1.2 Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT).....	12
2.1.3 Reconstrução da Imagem Tomográfica	14
2.1.4 Degradação de Imagem e Quantificação em SPECT	18
3. Técnicas de Segmentação de Imagem	22
3.1 Binarização (<i>Thresholding</i>)	22
3.2 Crescimento e Partição de Regiões.....	24
3.3 Técnicas de Classificação para Segmentação	25
3.4 <i>Clustering</i>	26
3.5 Detecção de Contornos	27
3.6 Algoritmo de <i>Watershed</i>	29
3.7 Modelos Deformáveis.....	30
3.8 Métodos baseados em Atlas	32
4. SPECT Cerebral com [¹²³I]FP-CIT	33
4.1 Radiofármaco – [¹²³ I]FP-CIT (DaTSCAN™).....	33
4.2 Reconstrução e Processamento	34
4.3 Critérios de Interpretação das Imagens	35
4.3.1 Métodos Semiautomáticos	37

4.3.2 Métodos Automáticos	39
4.3.3 Métodos de Quantificação baseados em análise estatística por vóxeis	42
CAPÍTULO III	43
1. Metodologia	43
1.1 Seleção da Amostra	43
1.2 Protocolo de Aquisição e Processamento	44
1.3 Fases do Projeto: Aplicações Automática e Semi-automática.....	45
1.4 Fases do Projeto: Aplicação comercialmente disponível (<i>DaTSCAN V4</i>)	52
1.5 Análise Estatística dos dados	53
CAPÍTULO IV	55
1. Resultados e Discussão	55
1.1 Analisar os rácios de captação	55
1.2 Comparação entre a Aplicação Automática e a Aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	73
1.3 Comparação entre a Aplicação Semi-Automática e a Aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	75
1.4 Comparação entre a Aplicação Automática e a Aplicação Semi-Automática	76
CAPÍTULO V	78
1. Conclusão	78
Referências Bibliográficas	80

Índice de Figuras

Figura 1: Gânglios basais que incluem o núcleo subtalâmico (<i>Subthalamic nucleus</i>) e a substância nigra, altamente interligados; os corpos estriados encontram-se associados ao <i>globus pallidus</i> e à substância nigra ⁽¹⁴⁾	6
Figura 2: (A) Representação esquemática da via nigroestriatal normal (a vermelho), composto por neurónios dopaminérgicos cujos corpos celulares estão localizados na substância nigra. Estes neurónios projetam para os gânglios basais e ocorre a sinapse nos corpos estriados (núcleo caudado e putâmen). (B) Representação esquemática da via nigroestriatal com patologia, com perda de neurónios dopaminérgicos que se projetam para o putâmen (tracejado) e uma perda menos acentuada para o núcleo caudado ⁽²⁰⁾	8
Figura 3: Constituintes da Câmara-Gama: Colimador (<i>collimator</i>), cristal de cintilação (<i>Scintillator</i>), guia de luz (<i>Light guide</i>), tubos fotomultiplicadores (PMT), electrónica de aquisição (posição e energia), sistema de <i>display</i> para aquisição, processamento e visualização de dados e imagens ⁽²⁴⁾	11
Figura 4: Exemplo de uma imagem digital de MN (cintigrafia) ⁽²⁶⁾	12
Figura 5: (a) Perfil de projecção para uma linha (1D) do detetor. (b) Sistema de coordenadas (t,s) ⁽²⁷⁾	14
Figura 6: Reconstrução da imagem através da retroprojecção simples com a representação do efeito de Blurring ⁽²⁷⁾	16
Figura 7: O processo da FBP ⁽²⁷⁾	16
Figura 8: A probabilidade de ocorrência de foto-absorção, dispersão de <i>Compton</i> e dispersão de <i>Rayleigh</i> com energias até 500 KeV para material equivalente aos tecidos ⁽³⁵⁾	19
Figura 9: Janela de Energia do ^{99m} Tc de 20% centrada no pico energético (140 KeV), inclui fótons primários e fótons resultantes da dispersão de <i>Compton</i> ⁽³⁶⁾	20
Figura 10: Cortes transaxiais DaTSCAN TM de paciente com teste negativo (A) e de paciente com teste positivo (B) ⁽⁵⁵⁾	36
Figura 11: (A) Método das duas caixas; (B) Método das três caixas; (C) Método crescente da aplicação QuantiSPECT ⁽⁶⁾	39
Figura 12: Aplicação EXINI ⁽⁶³⁾	41
Figura 13: DaTQUANT ⁽⁶⁵⁾	42
Figura 14: Diagrama de blocos das etapas para construção das aplicações automática e semi-automática.....	45
Figura 15: (A) Imagem monocromática de um corte transaxial; (B) Imagem binária da região cerebral.....	46
Figura 16: Etapas de criação do modelo de referência normal tendo por base a região cerebral. (A) Três cortes transaxiais de diferentes pacientes; (B) A partir da técnica de binarização foi selecionada apenas a região cerebral de cada corte. (C) Depois de alinhar todos os cortes, e normalizar a intensidade, foi obtido o modelo de referência normal.....	46
Figura 17: (A) Imagem monocromática de um corte transaxial; (B) Imagem binária dos corpos estriados, identificados como uma única estrutura; (C) Imagem binária dos corpos estriados, identificados como estruturas independentes.....	47
Figura 18: Etapas de criação do modelo de referência normal tendo por base os centróides dos corpos estriados. (A) Três cortes transaxiais de diferentes pacientes; (B) A partir da técnica de binarização foi selecionada apenas a região dos corpos estriados. (C) Depois de alinhar todos os cortes, e normalizar a intensidade, foi obtido o modelo de referência normal para os corpos estriados esquerdo e direito.....	48
Figura 19: Modelo de referência normal para imagens [¹²³ I]FP-CIT SPECT, com as ROI referentes aos corpos estriados esquerdo (vermelho) e direito (verde).....	48
Figura 20: Segmentação dos corpos estriados pelo algoritmo de <i>Watershed</i>	49
Figura 21: Diagrama de blocos com as etapas de determinação do valor do limiar para a segmentação dos corpos estriados.....	49
Figura 22: Colocação automática das ROI pré-definidas pelo modelo normal (vermelho e verde) tendo em conta o centróide de cada corpo estriado do paciente (azul).....	50

Figura 23: (A) Segmentação da região cerebral; (B) Região de fundo.....	51
Figura 24: Erro ocorrido na determinação da região de fundo em alguns pacientes (A) Imagem com artefactos; (B) Segmentação incorreta da região cerebral; (B) Região de fundo resultante.	51
Figura 25: Colocação semi-automática das ROI ao nível dos corpos estriados esquerdo e direito (com a separação em núcleo caudado e putâmen) e da ROI de fundo (região do occipital), a partir da aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	53
Figura 26: Gráfico dispersão para o rácio A por idade e por género.....	55
Figura 27: Gráfico dispersão para o rácio B por idade e por género.....	55
Figura 28: Gráfico dispersão para o rácio C por idade e por género.....	56
Figura 29: Gráfico dispersão para o rácio D por idade e por género.....	56
Figura 30: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação automática.	59
Figura 31: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação automática.	59
Figura 32: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação automática.	59
Figura 33: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação automática.	59
Figura 34: Curva ROC para o rácio A com a aplicação automática	60
Figura 35: Curva ROC para o rácio C com a aplicação automática	60
Figura 36: Curva ROC para o rácio B com a aplicação automática	61
Figura 37: Curva ROC para o rácio D com a aplicação automática	61
Figura 38: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação automática.	61
Figura 39: Colocação automática das ROI pré-definidas tendo em conta os centróides dos corpos estriados em (A) Paciente com teste negativo com corpo estriado intacto (núcleo caudado e putâmen) e (B) Paciente com teste positivo com degeneração do corpo estriado, com a região do núcleo caudado ao centro da ROI.....	62
Figura 40: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação semi-automática.	63
Figura 41: Carta controlo GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação semi-automática.	63
Figura 42: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação semi-automática.	64
Figura 43: Carta controlo GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação semi-automática.	64
Figura 44: Curva ROC para o rácio A com a aplicação semi-automática	65
Figura 45: Curva ROC para o rácio C com a aplicação semi-automática	65
Figura 46: Curva ROC para o rácio B com a aplicação semi-automática	65
Figura 47: Curva ROC para o rácio D com a aplicação semi-automática	65
Figura 48: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação semi-automática.	66
Figura 49: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação semi-automática	66
Figura 50: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação semi-automática	67
Figura 51: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação semi-automática	67
Figura 52: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação semi-automática	68
Figura 53: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	69
Figura 54: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	69
Figura 55: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	69
Figura 56: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	69
Figura 57: Curva ROC para o rácio A com a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	70
Figura 58: Curva ROC para o rácio C com a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	70
Figura 59: Curva ROC para o rácio B com a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	71
Figura 60: Curva ROC para o rácio D com a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	71
Figura 61: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	71

Figura 62: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GII S), na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	72
Figura 63: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	72
Figura 64: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GII S), na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	73
Figura 65: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	73

Índice de Tabelas

Tabela 1: Amostra	44
Tabela 2: Fórmulas para determinar os rácios de captação para quantificação de estudos SPECT com [¹²³ I]FP-CIT.....	52
Tabela 3: Valor de p obtido pelo teste paramétrico <i>t-student</i> para amostras independentes, para inferência estatística sobre a influência do género no cálculo dos rácios de captação, para ambas as aplicações desenvolvidas e para a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	57
Tabela 4: Valor de p obtido pelo teste não paramétrico de <i>Kruskal-Wallis</i> , para inferência estatística sobre a influência da idade no cálculo dos rácios de captação, para ambas as aplicações desenvolvidas e para a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	57
Tabela 5: Valores de referência ($x \pm \delta$) obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação automática.	58
Tabela 6: Valores de referência ($x \pm \delta$) obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação semi-automática.	63
Tabela 7: Valores de referência ($x \pm \delta$) obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação <i>DaTSCAN V4</i>	68
Tabela 8: Valores de médias e valor de p obtidos pelo teste <i>t-student</i> para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes teste positivo e negativo, para a aplicação automática (AUT) e aplicação <i>DaTSCAN V4</i> (GE).....	74
Tabela 9: Valores de médias e valor de p obtidos pelo teste <i>t-student</i> para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes com teste positivo e negativo, para a aplicação semi-automática (SA) e aplicação <i>DaTSCAN V4</i> (GE).....	75
Tabela 10: Valores de médias e valor de p obtidos pelo teste <i>t-student</i> para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes com teste positivo e negativo, para a aplicação automática (AUT) e aplicação semi-automática (SA)	76

Lista de Abreviaturas

¹²³I-**FP-CIT** - ¹²³I-Ioflupano

¹²³I-**IBZM** - ¹²³I-Iodobenzamida

^{99m}Tc - Tecnécio 99 metaestável

1D - Unidimensional

2D - Bidimensional

3D - Tridimensional

AMS - Atrofia Multissistémica

AUC - acrónimo do Inglês *Area Under the Curve*

Bq - Becquerel

CG - Câmara Gama

cm – centímetro

DaT - Transportador pré-sináptico da dopamina

DP - Doença de Parkinson

EM – Máximo Valor Expectável do acrónimo do inglês *Expectation-Maximization*

ENC-DAT - do acrónimo do inglês *The European Normal Control Database of DaTSCAN*

FBP - Retroprojeção Filtrada do acrónimo em inglês *Filtered Back Projection*

FCM - do acrónimo do inglês *Fuzzy C-means*

FLD – Discriminante Linear de *Fisher* do acrónimo em inglês *Fisher Linear Discriminant*

FWHM – Largura a meia altura do acrónimo em inglês *Full Width at Half Maximum*

HPA – Hospital Particular de Almada

KeV - Kiloelectron Volt

k-NN – k-Vizinho mais Próximo do acrónimo em inglês *k-Nearest Neighbour*

LEHR - Colimador de baixa energia e alta resolução do acrónimo em inglês *Low Energy High Resolution*

LoG - do acrónimo do inglês *Laplacian of Gaussian*

MBq – Megabecquerel

MeV – Mega-eletrão Volt

MLEM - Máximo Valor Expectável-Máxima Verosimilhança do inglês *Maximum Likelihood Expectation Maximization*

mm – milímetro

MN – Medicina Nuclear

NaI(Tl) - Iodeto de Sódio ativado com Tálio

NMC – Classificador Média mais Próxima do acrónimo do inglês *Nearest Mean Classifier*

NNC – Classificador do Vizinho mais Próximo do acrónimo do inglês *Nearest-Neighbour Classifier*

OSEM - Máximo Valor Expectável-Subconjuntos Ordenados do acrónimo do inglês *Ordered Subset Expectation Maximization*

PET - Tomografia por Emissão de Positrões do acrónimo do inglês *Positron Emission Tomography*

PHA – Analisador de Amplitude de Pulso do acrónimo do inglês *Pulse Height Analyzer*

PMT – Tubos Fotomultiplicadores do acrónimo do inglês *Photomultiplier Tubes*

PSP - Paralisia Supranuclear Progressiva e a Atrofia Multi-sistémica (AMS)

RF – Radiofármaco

RMN – Ressonância Magnética Nuclear
ROI - Região de interesse do acrónimo do inglês *Region of Interest*
ROC - do acrónimo do inglês *Receiver Operating Characteristics*
SVM - do acrónimo do inglês *Support Vector Machine*
SP - Síndromes Parkinsonianas
SPECT - Tomografia por emissão de fóton único do acrónimo do inglês *Single Photon Emission Computed Tomography*

SPM - Mapeamento Paramétrico Estatístico do acrónimo do inglês *Statistical Parametric Mapping*
SUSI - do acrónimo do inglês *specific uptake size index*
TC – Tomografia Computorizada
TF - Transformada de Fourier
VOI – Volume de Interesse do acrónimo do inglês *Volume of Interest*

1. Contextualização do tema

Atualmente, os distúrbios neurológicos acarretam um grande peso socioeconómico na sociedade moderna, sendo necessário o desenvolvimento rápido de ferramentas não invasivas para estudos neurológicos. As técnicas imagiológicas utilizadas neste campo incluem imagens convencionais como Tomografia Computorizada (TC) ou Ressonância Magnética Nuclear (RMN), e a imagem molecular, a única ferramenta que permite a visualização da distribuição, densidade e atividade dos neurotransmissores, recetores ou transportadores cerebrais⁽¹⁾.

A imagem molecular é um tipo de imagem médica não invasiva que fornece informações detalhadas do interior do corpo humano a nível molecular e celular. Enquanto que outros procedimentos de diagnóstico por imagem, como radiografias, TC e ultrassons, permitem a obtenção de imagens anatómicas, a imagem molecular permite obter informação funcional e a medição de processos químicos e biológicos do organismo⁽²⁾.

A imagem molecular inclui o campo da Medicina Nuclear (MN), que utiliza quantidades reduzidas de compostos radioativos, denominados de Radiofármacos (RF), com o objetivo de diagnosticar e tratar patologias⁽²⁾. Os métodos de imagem molecular, como a tomografia por emissão de fóton único (*Single Photon Emission Computed Tomography* - SPECT) e a tomografia por emissão de positrões (*Positron Emission Tomography* - PET), permitem a obtenção de projeções de distribuições tridimensionais (3D) dos RF, que traduzem uma determinada função ou processo metabólico do organismo. A imagem molecular apresenta diversas aplicações, nomeadamente no campo da neurologia⁽³⁾.

É neste campo que se insere a imagem do sistema dopaminérgico com SPECT, com o auxílio do RF ¹²³I-Ioflupano ([¹²³I]FP-CIT), de nome comercial DaTSCAN™. Este exame permite a visualização da função dos transportadores dopaminérgicos pré-sinápticos ao nível dos corpos estriados, e auxiliar na diferenciação entre Síndromes Parkinsonianas (SP) neurodegenerativos, com um défice dopaminérgico pré-sináptico associado, e doenças sem neurodegeneração pré-sináptica (por exemplo, Tremor Essencial), com valores de sensibilidade e especificidade de 95% e 93%, respetivamente^(1,4,5).

A forma de processamento destes exames nos serviços de MN é feita recorrendo maioritariamente à análise visual das imagens obtidas, usualmente realizada por observadores experientes, cuja interpretação permite chegar a um diagnóstico clínico. No entanto, este tipo de interpretação pode tornar-se complexa e subjetiva, uma vez que

depende da experiência do observador, estando associada a uma elevada variabilidade intra e interoperador, particularmente nos casos de exames duvidosos. Assim, esta interpretação deve basear-se nos resultados da avaliação visual e da análise quantitativa, de forma a melhorar o processo diagnóstico⁽⁶⁻¹¹⁾.

A quantificação destes exames pode ser semi-automática ou totalmente automática, sendo a quantificação automática a que apresenta melhores resultados de reprodutibilidade^(4,7,12). Para aplicar estes métodos, recorre-se à criação de Regiões de Interesse (ROI) e rácios entre as regiões, rácios de simetria sobretudo em torno das estruturas de captação específica - corpos estriados – e entre estas e outras regiões de captação não específica (como, por exemplo, a região occipital)⁽⁵⁾.

No entanto, para a implementação deste tipo de processamento, é necessária a criação de uma base de dados para os rácios de captação, específica para o tipo de Câmara Gama (CG) utilizada, bem como para o protocolo do serviço, idealmente dependente da idade e do género⁽⁶⁾. Atualmente, existe uma base de dados europeia para controlos saudáveis (*The European Normal Control Database of DaTSCAN – ENC-DAT*) com valores de referência, específicos para idade e género, de rácios de captação específica do [¹²³I]FP-CIT, sob protocolos de aquisição e processamento de imagem otimizados; no entanto, estes valores são dependentes dos métodos de reconstrução e quantificação utilizados, o que pode gerar enviesamentos quando aplicado a serviços de MN com protocolos distintos⁽¹³⁾.

Atualmente já existem diversas aplicações comercialmente disponíveis que permitem este processo de quantificação, no entanto a maioria baseia-se numa técnica semi-automática cuja aplicabilidade dos algoritmos carece de implementação de métodos automáticos, paralelamente ao facto de não se encontrarem adaptados ao protocolo de exame utilizado.

2. Problemática e objetivos

Com base no ponto anterior, a problemática associada a este tema encontra-se relacionada com a reduzida aplicação clínica de métodos de quantificação automáticos em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT, bem como a implementação de algoritmos computacionais adaptados ao serviço de MN que permitam obter rácios de captação específicos.

Deste modo, o objetivo geral do trabalho final de mestrado é a construção de uma aplicação automática para análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens

obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT, em colaboração com a Unidade de MN do Hospital Particular de Almada (HPA) - NuclearMed. Como objetivos específicos, pretende-se:

- Desenvolver algoritmos que permitam segmentar e extrair parâmetros dos corpos estriados, de forma automática e semi-automática;
- Analisar os rácios de captação específica, de pacientes com teste negativo (sem degeneração dopaminérgica detetada no exame) e com teste positivo (com degeneração dopaminérgica detetada no exame), obtidos com as aplicações automática e semi-automática desenvolvidas e ainda com a aplicação *DaTSCAN V4* (de metodologia semi-automática) disponível na estação de trabalho *Xeleris*, versão 3 (*GE Healthcare*);
- Comparar os rácios de captação específica entre a aplicação automática e a aplicação *DaTSCAN V4*;
- Comparar os rácios de captação específica entre a aplicação semi-automática e a aplicação *DaTSCAN V4*;
- Comparar os rácios de captação específica entre as aplicações automática e semi-automática.

3. Contribuições

Em função dos objectivos do trabalho, consideramos que as contribuições mais relevantes são:

- Desenvolvimento de aplicação automática para segmentação e quantificação de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT;
- Construção do modelo normal da distribuição do [¹²³I]FP-CIT SPECT nos corpos estriados;
- Possibilidade de reduzir ou eliminar a variabilidade intra e interoperador inerente aos métodos semi-automáticos de quantificação disponíveis;
- Possibilidade de complementar a análise visual qualitativa com critérios de discriminação quantitativos automáticos, potencialmente aumentando a confiança de interpretação clínica e promovendo futuros benefícios para as populações clínicas envolvidas.

4. Estrutura do Trabalho Final de Mestrado

Este trabalho final de mestrado é constituído por cinco capítulos. No Capítulo 1 é feita uma breve contextualização ao tema do trabalho e são expostos os objetivos bem como as principais contribuições com a realização do mesmo. O Capítulo 2 consiste no enquadramento fisiológico acerca do sistema dopaminérgico e dos síndromes parkinsonianos; a fundamentação teórica relativa à formação de imagem em MN, nomeadamente sobre a técnica de SPECT e a quantificação dos estudos obtidos pela mesma; são também expostas as várias técnicas de segmentação de imagem utilizadas em imagens médicas e são descritas as particularidades do SPECT cerebral com [¹²³I]FP-CIT. O Capítulo 3 descreve a metodologia utilizada na componente prática deste trabalho, incluindo os procedimentos adotados para a construção das aplicações referidas nos objetivos. O Capítulo 4 refere-se à análise dos dados obtidos e resultados, com a respetiva discussão dos mesmos. Por último, no Capítulo 5, são retiradas as conclusões acerca do trabalho realizado e são mencionadas as limitações encontradas bem como algumas perspetivas de trabalho futuro.

1. Enquadramento Fisiológico

1.1 Gânglios Basais

Os gânglios basais fazem parte de um sistema neuronal que inclui o tálamo, o cerebelo e os lobos frontais. Estes encontram-se localizados no diencéfalo e são compostos por cinco núcleos subcorticais: *globos pallidus*, núcleo caudado, putâmen, substância *nigra* e núcleo subtalâmico de *Luys* (Figura 1); o núcleo caudado e o putâmen formam, em conjunto, o corpo estriado⁽¹⁴⁾.

Os gânglios basais constituem, em conjunto com o cerebelo, um sistema motor acessório sincronizado com o córtex cerebral e com o sistema corticoespinal de controlo motor. A maioria das fibras nervosas motoras e sensoriais que ligam o córtex cerebral e a medula espinal passam pelo espaço que se encontra entre os dois núcleos subcorticais principais, o núcleo caudado e o putâmen^(14,15).

São estruturas importantes no planeamento, organização e coordenação dos movimentos e da postura. Existem circuitos neuronais complexos que ligam os gânglios basais uns com os outros, com o tálamo e com o córtex cerebral; estas conexões formam diversas ansas de *feedback* (retroação), algumas das quais estimuladoras e outras inibidoras. Os circuitos estimuladores facilitam a atividade muscular, especialmente no início do movimento voluntário, como levantar da posição de sentado ou começar a andar. Os circuitos inibidores facilitam a ação dos circuitos estimuladores, inibindo a atividade muscular nos músculos antagonistas, e também diminuem o tônus muscular quando o corpo, os membros e a cabeça estão em repouso. As pessoas com perturbações ao nível dos gânglios basais apresentam tônus muscular aumentado e movimentos exagerados e descontrolados, especialmente em situação de repouso. Uma característica específica da perturbação de alguns gânglios basais é o tremor de repouso, um ligeiro tremor das mãos quando a pessoa não está a desempenhar uma tarefa⁽¹⁶⁾.

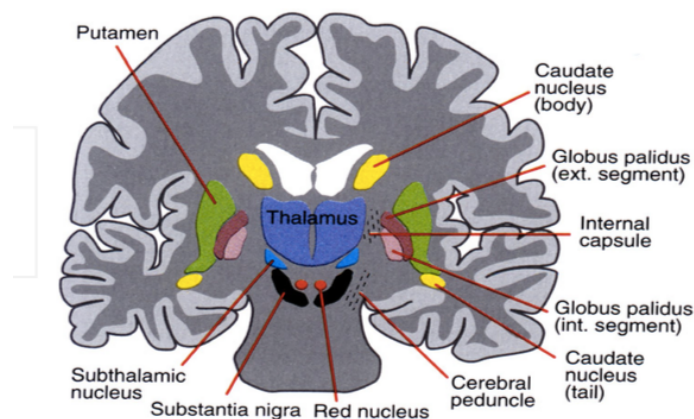


Figura 1: Gânglios basais que incluem o núcleo subtalâmico (*Subthalamic nucleus*) e a substância *nigra*, altamente interligados; os corpos estriados encontram-se associados ao *globus pallidus* e à substância *nigra*⁽¹⁴⁾.

1.2 Sistema Dopaminérgico

O sistema dopaminérgico é um dos sistemas de neurotransmissores com maior relevância no sistema nervoso central. Existem três grandes projeções dopaminérgicas no cérebro: a via nigroestriatal originada a partir da substância *nigra* no mesencéfalo que projeta ao nível dos corpos estriados constituídos pelo núcleo caudado e pelo putâmen; a via mesolímbica que tem origem na área tegmentar ventral e projeta no sistema límbico incluindo o *nucleus accumbens*, o hipocampo, a amígdala e o córtex límbico; e a via tuberoinfundibular originada a partir do mesencéfalo retrobulbar e projeta ao nível do hipotálamo e da glândula pituitária. Estas três vias estão envolvidas no controlo do movimento, no comportamento emocional e na função endócrina, respetivamente⁽¹⁷⁾.

A dopamina desempenha um papel importante na regulação do movimento, da motivação e da cognição. É sintetizada nos neurónios dopaminérgicos na substância *nigra*, na área tegmentar ventral e na área retrobulbar no mesencéfalo. A dopamina é armazenada dentro de vesículas e libertada na sinapse, em resposta a um potencial de ação, e posteriormente liga-se aos recetores específicos da dopamina (D1-D5) que se encontram presentes nos locais pré-sinápticos e pós-sinápticos. A concentração sináptica de dopamina é principalmente regulada por recaptção⁽¹⁷⁾.

Na via nigroestriatal, os transportadores da dopamina estão exclusivamente localizados ao nível dos terminais dopaminérgicos dos corpos estriados, local onde os neurónios nigroestriatais terminam e se ligam a neurónios pós-sinápticos, que utilizam a dopamina como neurotransmissor. A dopamina é produzida nos terminais nervosos pré-sinápticos e transportada para o interior de vesículas, através do transportador vesicular 2 de monoaminas (uma proteína membranar que transporta neurotransmissores, como a dopamina, do citosol para as vesículas). Durante a excitação, no potencial de ação, a dopamina é libertada das vesículas e liga-se a recetores pós-sinápticos. No lado pré-

sináptico, os transportadores pré-sinápticos da dopamina (DaT) transportam a dopamina da fenda sináptica de volta para os terminais nervosos nigroestriatais pré-sinápticos, quer para armazenamento como para degradação^(4,17).

1.3 Síndromes Parkinsonianas

Os SP são um grupo de patologias que partilham sintomas semelhantes de parkinsonismo, como bradicinesia, rigidez, tremor em repouso e instabilidade postural, causando assim distúrbios no movimento. Apesar da Doença de Parkinson (DP) ser a causa mais comum de parkinsonismo, outras etiologias podem resultar num conjunto idêntico de sintomas, incluindo a Atrofia Multissistêmica (AMS), a Paralisia Supranuclear Progressiva (PSP), a degeneração corticobasal, o parkinsonismo induzido por fármacos, o parkinsonismo vascular e o parkinsonismo psicogénico⁽⁴⁾.

A DP afeta 2-3% da população acima dos 50 anos de idade, é considerada um distúrbio neurológico progressivo e encontra-se associada a uma perda significativa e progressiva de terminais nervosos nigroestriatais pré-sinápticos ao nível dos corpos estriados (núcleo caudado e putâmen), relacionada com a degeneração dos neurónios dopaminérgicos pré-sinápticos na substância *nigra* (ou neurónios nigroestriatais), no tronco cerebral; e como consequência, existe uma diminuição significativa da densidade terminal da dopamina, o que resulta em sintomas de parkinsonismo (Figura 2). Os outros SP, como a AMS e a PSP, envolvem a degeneração dos neurónios dopaminérgicos pré e pós-sinápticos. Por outro lado, o Tremor Essencial ocorre normalmente durante o movimento voluntário e não em situações de repouso; no entanto, alguns pacientes com tremor essencial podem demonstrar tremor em repouso, rigidez ou outros sintomas característicos do parkinsonismo, reproduzindo assim outras etiologias^(4,17-20).

O diagnóstico clínico de parkinsonismo é muitas vezes simples e baseia-se principalmente na avaliação clínica, eliminando a necessidade de testes adicionais. No entanto, o diagnóstico da DP pode ser tardio devido à sobreposição de sintomas com outros distúrbios do movimento, incluindo o tremor essencial e outros SP. Além disso, a presença de sintomas não motores e a resposta inconsistente à medicação para a DP torna o diagnóstico ainda mais difícil, e por vezes errado ou inconclusivo. Vários estudos realizados descobriram que existe uma elevada taxa de erros no diagnóstico da DP, mesmo entre os especialistas dos distúrbios do movimento, conduzindo a um prognóstico errado, o que torna indispensável a existência de um teste de diagnóstico mais preciso. Assim, em situações de dúvida diagnóstica, como distinguir a DP de outras causas de tremor, uma melhoria na precisão diagnóstica pode ser possível usando um teste para visualização dos transportadores da dopamina, como o SPECT cerebral com [¹²³I]FP-CIT^(4,10,21).

A imagem *in vivo* da densidade dos DaT com o [^{123}I]FP-CIT através da técnica SPECT é a mais utilizada, em MN, para avaliação de pacientes com suspeita de SP neurodegenerativos. Com esta técnica, a redução de DaT pode ser observada em pacientes com DP bem como em pacientes com Demência de Corpos de *Lewy*. Assim, uma redução na captação específica do [^{123}I]FP-CIT ao nível do putâmen dos corpos estriados, confirmam a suspeita de SP neurodegenerativos (DP, PSP ou AMS) e auxiliam na exclusão do diagnóstico de outras doenças, tais como o Tremor Essencial ou o Parkinsonismo induzido por fármacos, condições nas quais não ocorre a redução dos DaT. De salientar que, com esta técnica de imagem com recurso ao [^{123}I]FP-CIT, não é possível diferenciar os vários SP uma vez que tanto a DP como a AMS ou a PSP apresentam degeneração dos neurónios dopaminérgicos pré-sinápticos. Uma vez que apenas a AMS e a PSP apresentam degeneração nos recetores dopaminérgicos pós-sinápticos, para confirmar a existência de DP, é necessário recorrer a outro RF como o ^{123}I -Iodobenzamida (^{123}I -IBZM) que se liga aos recetores dopaminérgicos D2 pós-sinápticos^(17,18).

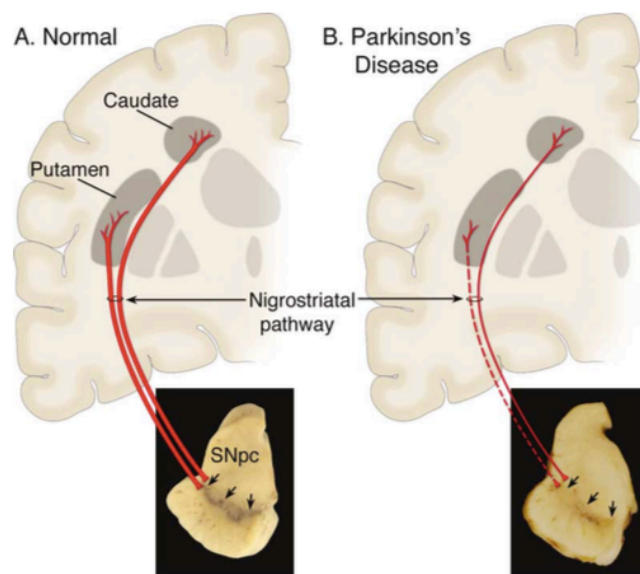


Figura 2: (A) Representação esquemática da via nigroestriatal normal (a vermelho), composto por neurónios dopaminérgicos cujos corpos celulares estão localizados na substância *nigra*. Estes neurónios projetam para os gânglios basais e ocorre a sinapse nos corpos estriados (núcleo caudado e putâmen). (B) Representação esquemática da via nigroestriatal com patologia, com perda de neurónios dopaminérgicos que se projetam para o putâmen (tracejado) e uma perda menos acentuada para o núcleo caudado⁽²⁰⁾.

2. Fundamentos de Imagem em Medicina Nuclear

Os dois principais componentes utilizados em MN são os RF e um sistema de imagem. Este sistema de imagem é um detetor sensível à posição, que se baseia na detecção de fótons emitidos a partir do RF administrado. Os sistemas de imagem usados para a detecção de compostos marcados com radionuclídeos são dispositivos específicos denominados de CG ou PET. Estes dispositivos passaram por uma série de desenvolvimentos desde a sua introdução em 1960 e tiveram um impacto significativo na prática e na qualidade diagnóstica da MN⁽³⁾.

A MN dispõe de várias aplicações e permite estudar diversos órgãos do corpo humano tais como, cérebro, coração, pulmões, fígado, baço, vias biliares, rins, trato genito-urinário, sistema gastrointestinal, sistema músculo-esquelético, sistema endócrino, a detecção de infecção e inflamação, e ainda, no campo da oncologia, o estudo e a avaliação de diversos tumores; a MN tem ainda um papel importante ao nível da terapêutica⁽²²⁾.

2.1 Câmara-Gama

A CG, desenvolvida em 1960 por *Hal Anger*, também conhecida como Câmara de Cintilação ou Câmara *Anger*, tornou-se o dispositivo predominante da MN, principalmente porque a sua grande área de detecção permite a aquisição simultânea de dados, e portanto uma rápida aquisição de uma grande área do corpo humano⁽²²⁾. As CG são assim um sistema de aquisição de imagens baseado na detecção da radiação gama emitida pela distribuição do RF no corpo do paciente e são constituídas por diversos componentes tais como o colimador, o detetor de cintilação, os tubos fotomultiplicadores (*Photomultiplier Tubes*: PMT), analisadores de amplitude de pulso energético (*Pulse Height Analyzer*: PHA), circuitos lógicos para análise de posição e consola ou computador de controlo (Figura 3)^(23,24).

Assim que o RF é administrado ao paciente e este é preparado para a realização do exame, o primeiro componente a funcionar é o colimador. O colimador é uma matriz de orifícios e septos projetados com um padrão geométrico específico sobre uma placa de chumbo⁽³⁾. Tal como ocorre com todas as formas de radiação eletromagnética, os raios gama são emitidos isotropicamente; assim, ao usar apenas o detetor, não seria possível a obtenção de uma imagem, uma vez que não haveria qualquer relação entre a posição na qual os raios gama atingem o detetor e aqueles que são emitidos pelo paciente. O colimador seleciona mecanicamente os raios gama emitidos em direções específicas, através da absorção dos raios gama que são emitidos em direções diferentes das especificadas pelo tipo de colimador^(24,25).

Os dois principais parâmetros para descrever o desempenho do colimador são a resolução espacial e a sensibilidade. A resolução espacial é uma medida de nitidez da imagem e é aproximadamente igual à distância mínima necessária entre duas estruturas diferentes para que possam ser resolvidas como independentes; este parâmetro diminui com a distância do paciente ao colimador e, por isso, a resolução espacial será melhor quanto mais próximo o paciente estiver do colimador. A sensibilidade é uma medida de proporção dos raios gama incidentes no colimador que atravessam o detetor e portanto, quanto maior a sensibilidade maior será a taxa de contagens; sendo maior quanto mais afastado o paciente estiver do colimador. Assim, existe um compromisso entre a resolução espacial e a sensibilidade, não sendo possível otimizar ambos os parâmetros, e a escolha deve ser feita de acordo com o tipo de investigação a ser realizada⁽²⁵⁾.

De seguida, os fótons aceites pelo colimador, interagem com os cristais detetores para produzir fótons de luz de cintilação, com o objetivo de obter uma imagem visível. Este processo está dividido em duas etapas. A primeira etapa é a conversão dos raios gama em luz visível através do cristal de cintilação e a segunda etapa é a conversão dessa mesma luz em sinais elétricos através dos PMT. Não existe nenhum material de deteção ideal em MN, sendo o iodeto de sódio ativado com tálio (NaI(Tl)) o cristal de cintilação mais usado. Infelizmente, apenas uma pequena fração da energia perdida por um raio gama é convertida em luz, e os PMT têm a função de converter, de forma proporcional, a luz de cintilação resultante da interação do fóton no cristal cintilador num sinal elétrico e amplificá-lo, de forma a obter um sinal com corrente suficiente para a eletrónica subsequente^(3,25).

O sinal à saída dos PMT constitui um impulso de corrente que é depois transformado num impulso de tensão através de amplificadores. O sinal de saída destes amplificadores é um impulso de tensão simétrico, cuja amplitude é proporcional à energia depositada nos PMT. A soma de todos os impulsos de saída tem três componentes: as coordenadas espaciais X e Y, com informação acerca da posição de cintilação dentro do cristal; e a coordenada espacial Z, referente à energia total do evento de cintilação. O sinal Z segue para um PHA que testa se a energia do raio gama se encontra dentro dos valores esperados para o radionuclídeo em particular. Caso o sinal Z apresente um valor aceitável, em seguida é enviado um sinal que instrui o *display* a gravar que houve um raio gama detetado, sendo a posição determinada pelos sinais X e Y⁽²³⁻²⁵⁾.

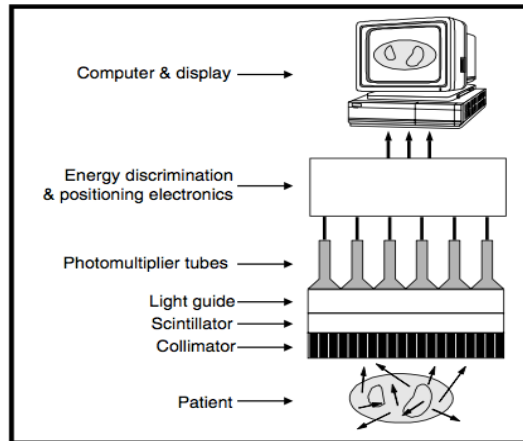


Figura 3: Constituintes da Câmara-Gama: Colimador (*collimator*), cristal de cintilação (*Scintillator*), guia de luz (*Light guide*), tubos fotomultiplicadores (PMT), electrónica de aquisição (posição e energia), sistema de *display* para aquisição, processamento e visualização de dados e imagens⁽²⁴⁾.

2.1.1 Formação de Imagem

A CG foi desenvolvida na década de 60 por *Hal Anger*, muito antes do uso comum dos computadores. Um componente importante destas CG iniciais era um circuito com capacidade de converter o sinal de saída dos PMT em três voltagens que representam as posições X e Y e a energia Z do fóton de cintilação. Para cada impulso Z que passa pelo PHA, estão associados um impulso X e Y, utilizados no posicionamento de um “ponto de luz” no ecrã de um tubo de raios catódicos. A obtenção desses “pontos de luz” ao longo do tempo dá origem a uma imagem analógica, sendo que até há alguns anos atrás, o modo mais frequente de impressão da imagem era em película fotográfica^(23,26).

Com o progresso dos computadores ao longo dos anos, surgiram as CG digitais, onde o computador é uma parte integrante do sistema que processa cada evento de cintilação. As câmaras digitais fornecem imagens na forma de uma matriz computacional de dados ou de uma imagem digital. Cada célula desta matriz constitui o elemento de imagem, o pixel (“*picture element*”). A imagem, ou cintigrafia, é construída ao longo do tempo através do cálculo da posição X e Y de cada evento e, se a energia estiver dentro da janela de energia desejada, é incrementado o pixel correspondente⁽²⁶⁾. Durante a aquisição de uma imagem, cada evento é acumulado num pixel e a intensidade de cada pixel na imagem obtida é determinada pelo número de fótons gama armazenados. Assim, a imagem digital consiste numa matriz retangular de pixéis, cada um contendo um valor numérico que representa o número de eventos de cintilação detetados nessa posição da CG⁽²³⁾. Cada pixel é armazenado tipicamente como um número inteiro de 16 bits, permitindo que os valores de contagem possam variar entre 0 e 65535 (2^{16}); e as imagens digitais são exibidas ao codificar os valores do pixel para brilho ou cor, do total de pixéis na imagem (Figura 4). A grande vantagem das imagens digitais é a possibilidade de processamento digital^(25,26).

Outra vantagem da imagem digital na MN é a capacidade de adquirir imagens em diferentes tipos. As imagens estáticas são formadas quando a CG adquire uma única imagem a partir de um único local. Os estudos dinâmicos correspondem a uma sequência de imagens estáticas adquiridas por fases definidas, onde cada imagem é adquirida num período de tempo específico. Os estudos *Gated* são realizados como uma sequência de imagens estáticas sincronizadas com um parâmetro fisiológico, como os batimentos cardíacos. As imagens de corpo inteiro (varrimento de corpo inteiro) são obtidas pela aquisição da cabeça aos pés do paciente (ou vice-versa). As tomografias representam várias secções do corpo humano e permitem visualizar a distribuição do RF segundo vários ângulos com rotação dos detetores em torno do paciente, em pelo menos 180°, com a informação recolhida através de múltiplas projeções; estas projeções ficam guardadas no computador para posterior tratamento de dados que permite a reconstrução do estudo da tomografia^(23,26).

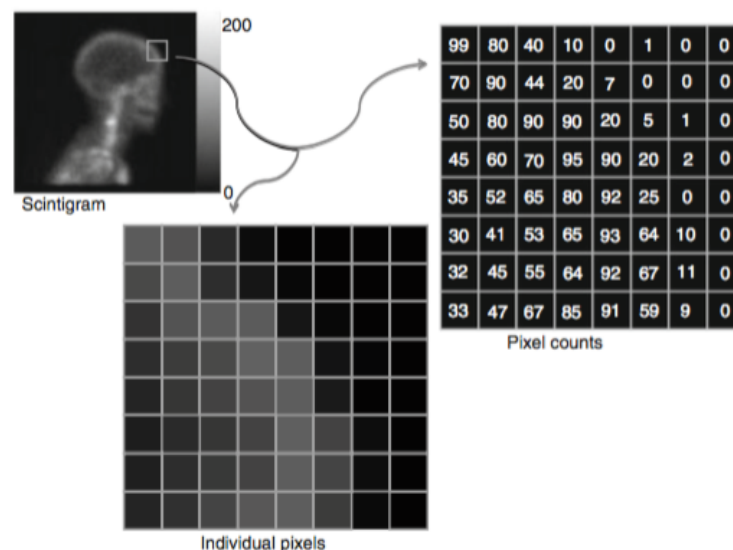


Figura 4: Exemplo de uma imagem digital de MN (cintigrafia)⁽²⁶⁾.

2.1.2 Tomografia por Emissão de Fóton Único (SPECT)

Uma tomografia corresponde a uma imagem de um corte, ou seja, é uma “*Radiografia em que uma imagem de um plano predeterminado no corpo ou outro objeto é obtido pela rotação do detetor e da fonte de radiação, de tal maneira que pontos fora do plano originam uma imagem desfocada*” (Oxford English Dictionary), e pode ser caracterizada como uma tomografia de transmissão ou emissão, de acordo com a origem da radiação. Na tomografia de transmissão, a radiação X é transmitida através do paciente enquanto que na tomografia de emissão a radiação X ou Gama é emitida pelo próprio paciente. Existem duas técnicas 3D na MN (tomografia de emissão), a SPECT e a PET^(22,27).

Na TC (tomografia de transmissão), o paradigma básico inclui a aquisição de imagens de vários ângulos em torno do corpo do paciente (várias projeções), a correção dos dados adquiridos para não-uniformidades, e a reconstrução matemática de imagens de várias secções transversais do tecido com apenas alguns milímetros de espessura. Tanto em SPECT como em PET, as imagens de secções transversais reconstruídas são essencialmente contíguas, sem intervalos de intersecção, e por isso a matriz 3D reconstruída dos elementos de volume, os voxéis, pode ser reorganizada em qualquer ângulo em relação ao eixo longitudinal do paciente, e assim produzir imagens coronais, sagitais ou transaxiais⁽²²⁾.

Uma imagem planar (cintigrafia) retrata uma distribuição 3D da radioatividade como uma imagem bidimensional (2D), sem informação acerca da profundidade e estruturas com diferentes profundidades ficam sobrepostas. O resultado é uma perda de contraste no plano de interesse devido à presença de atividade de estruturas sobrepostas, o que limita a reprodutibilidade diagnóstica do estudo. A principal vantagem da tomografia é assim um melhor contraste de imagem (cerca de 5 a 8 vezes superior à imagem planar) ao eliminar a contribuição das contagens da atividade dos tecidos em redor da área de interesse, o que melhora a razão alvo-fundo; no entanto, necessita de tempos de aquisição mais longos, apresenta resolução espacial inferior e maior suscetibilidade a artefactos^(2,22,23,28).

A SPECT envolve a obtenção de projeções do paciente (imagens 2D) a partir de várias projeções sendo necessárias cerca de 64 ou 128 projeções em torno do paciente, embora cada projeção apresente menos contagens do que uma imagem estática convencional. A partir dessas projeções, um conjunto de secções do paciente pode ser reconstruído matematicamente, obtendo-se assim uma imagem tomográfica (3D). Convencionalmente, os estudos SPECT apresentam três planos ortogonais: transaxial, sagital e coronal⁽²⁸⁾.

Embora existam várias combinações possíveis para o número de detetores, geometria e movimento que podem obter os dados necessários para as projeções, as CG rotativas normalmente utilizam dois detetores⁽²²⁾. As primeiras CG tinham apenas um detetor acoplado a um sistema rotativo (*gantry*) sendo utilizadas para imagens planares e tomográficas. Com o progresso da tecnologia e dos equipamentos passaram a existir CG com dois detetores, o que facilita a aquisição de imagens planares; com três detetores, o que permite uma menor distância detetor-paciente; ou com um anel detetor que melhora a sensibilidade dos estudos. Para a aquisição da imagem SPECT, é tida em conta a angulação que varia entre 3° e 6° e que é determinada pelo tamanho do objeto e pela resolução pretendida; e a rotação que varia entre 180° e 360°, sendo que na maioria das aplicações a rotação é feita em 360°. Apesar de um estudo SPECT poder ser adquirido em várias órbitas de aquisição como contínuo, *step-and-shoot*, cardíaco ou auto-contorno e em

rotação circular ou elíptica, a distância permanece um problema, uma vez que a imagem reconstruída tem como base múltiplas projeções adquiridas a diferentes distâncias do órgão alvo^(23,29,30).

2.1.3 Reconstrução da Imagem Tomográfica

Na imagem SPECT, a aquisição de dados é realizada através de uma CG com um, dois ou três detetores que são ajustados para rodar em torno do paciente em pequenos intervalos angulares, com o objetivo de adquirir um conjunto adequado de projeções bidimensionais (2D)⁽²⁷⁾.

O princípio de reconstrução tomográfica foi apresentado em 1917, por *Johann Radon*, que demonstrou que um objeto 3D poderia ser reconstruído a partir de múltiplas projeções (2D) obtidas segundo ângulos diferentes, possibilitando a determinação da função que lhes deu origem. Assim, a reconstrução de imagem médica é um procedimento matemático que recorre a algoritmos específicos para obter a informação de um objeto (3D) a partir de um conjunto de projeções (2D), com possibilidade de representação dessas variáveis através de cortes e/ou a 3D (*volume rendering*)⁽³¹⁾.

Na Figura 5 é observado um perfil de projeção de uma linha unidimensional (1D) da matriz 2D do detetor (projeção). A distribuição espacial da informação do objeto, ou seja a densidade da atividade radioativa no paciente, é definida pela função $f(x,y)$, onde x e y representam as coordenadas de captação do RF dentro dos limites do paciente. O sistema de coordenadas (t,s) é definido de modo a que s seja paralelo ao plano do detetor, enquanto que t é perpendicular a este, sendo este sistema de coordenadas utilizado para definir o perfil de projeção $p(s, \theta)$ em relação ao sistema de coordenadas fixo (x,y) , onde θ é o ângulo de aquisição da projeção. A curva $p(s, \theta)$ é denominada de projeção (em conjunto com todas as outras recolhidas durante o processo rotacional de aquisição) necessárias à reconstrução de uma secção transaxial; e cada ponto dessa curva é dado pela intensidade da radiação medida ao longo da linha do sistema detetor considerada^(27,31).

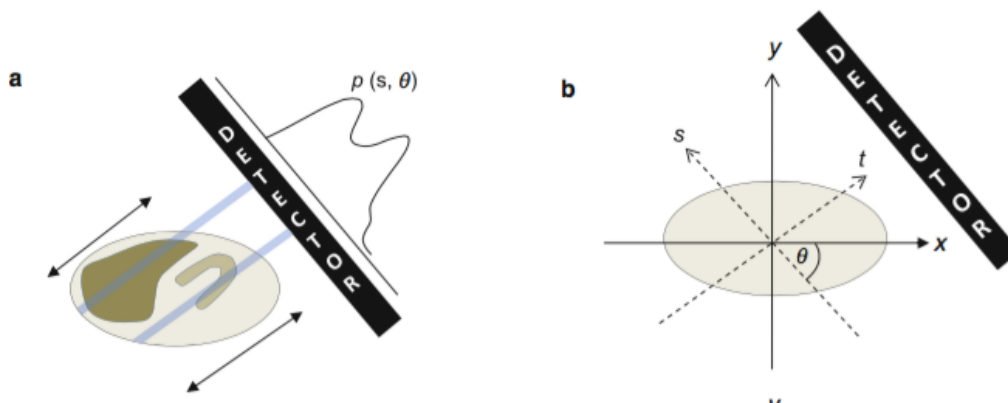


Figura 5: (a) Perfil de projeção para uma linha (1D) do detetor. (b) Sistema de coordenadas (t,s) ⁽²⁷⁾.

De acordo com *Radon*, cada projeção da imagem 1D é o resultado da acumulação de contagens ao longo do caminho percorrido pelos emissores de radiação, perpendiculares ao plano do detetor. No final da aquisição dos dados, são obtidas projeções de múltiplos ângulos, onde cada uma é uma versão compactada da distribuição do objeto visto de ângulos diferentes⁽²⁷⁾.

O problema da reconstrução de imagem é encontrar a solução da transformada inversa de *Radon* 2D, ou seja, encontrar a distribuição do objeto 2D a partir do conjunto de dados da projeção 1D, obtidos em diferentes ângulos⁽³²⁾. O operador inverso da transformada de *Radon* não existe, e por isso terá de ser feita uma inversão aproximada de modo a estimar-se a informação na projeção. Para tal, podem ser usados métodos de reconstrução analíticos ou iterativos. Os métodos de reconstrução analíticos como a Retroprojeção Filtrada (*Filtered Back Projection: FBP*), consistem na procura de uma solução exata à expressão da transformada inversa de *Radon*. Os métodos iterativos, como o *Maximum Likelihood Expectation Maximization* (MLEM) ou o *Ordered Subset Expectation Maximization* (OSEM), têm por base uma estimativa da probabilidade real de uma certa quantidade de radioatividade num determinado local ser detetada pelo sistema de imagem num ponto em particular em cada projeção, a partir de sucessivas iterações^(29,31).

2.1.3.1 Métodos Analíticos

Uma das formas de reconstruir uma imagem a partir dos dados adquiridos é redistribuir as contagens obtidas (isto é, retroprojetar) sobre os pixéis individuais na matriz de reconstrução. Repetindo este processo para cada elemento de projeção e para cada ângulo adquirido, pode obter-se a imagem da distribuição da radioatividade⁽²⁷⁾.

No entanto, uma simples retroprojeção não revela informação útil sobre a distribuição do RF devido ao artefacto de *Blurring* (sobrexpressão das componentes de baixas frequências e uma redução das altas frequências) e à diminuição substancial da razão sinal-ruído (Figura 6). A retroprojeção simples pressupõe que os dados são adquiridos com amostragem linear e angular infinita, que os dados não apresentam atenuação e radiação dispersa, além de apresentarem uma resposta perfeita do sistema. Além disso, a retroprojeção simples não possui um modelo para o ruído estatístico associado ao decaimento radioativo. Nenhum destes pressupostos ocorre na prática^(27,31).

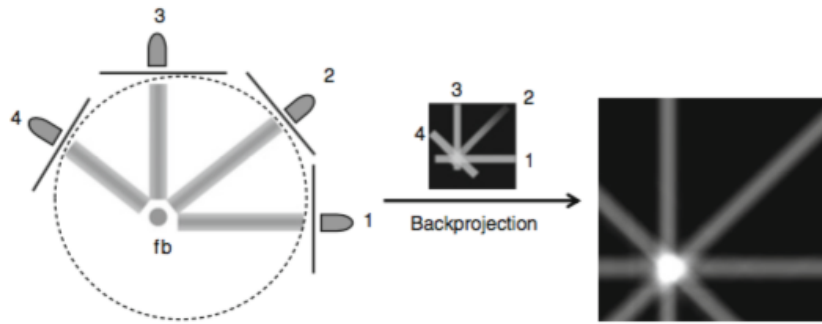


Figura 6: Reconstrução da imagem através da retroprojeção simples com a representação do efeito de *Blurring*⁽²⁷⁾.

Para resolver o problema é necessário submeter o conjunto de projeções a um processo de filtragem. Através de um processo matemático denominado de Transformada de *Fourier* (TF), uma imagem pode ser dividida em vários componentes, cada um correspondente a uma determinada frequência. A imagem decomposta num grande número de componentes de frequências será multiplicada por um filtro, que definirá o peso concebido a cada uma dessas componentes na retroprojeção, passando a existir um processo de retroprojeção filtrada^(27,31).

As etapas envolvidas na reconstrução de um corte através da FBP estão demonstradas na Figura 7 e incluem: o cálculo da TF 1D para cada perfil de projeção, que permite transformar os dados do domínio espacial para o domínio das frequências; a multiplicação das projeções transformadas de *Fourier* pelo filtro rampa (e mais um filtro de suavização) no domínio das frequências; o cálculo do inverso do produto da TF; e a retroprojeção dos dados filtrados com o objetivo de obter uma estimativa da distribuição da atividade⁽²⁷⁾.

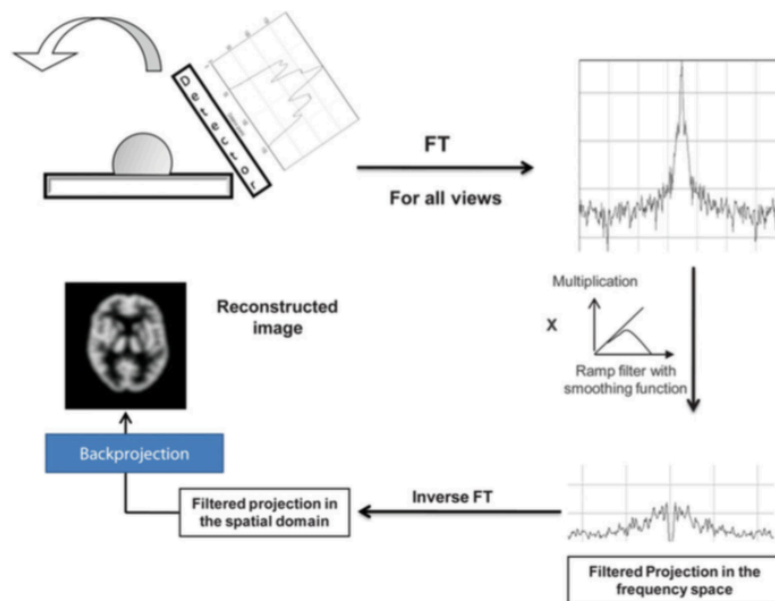


Figura 7: O processo da FBP⁽²⁷⁾.

Na etapa da filtragem podem ser utilizados diversos tipos de filtros, como os filtros passa-alto (por exemplo, o filtro rampa) e os filtros passa-baixo (por exemplo, os filtros *Butterworth*, *Hanning*, *Hamming* e *Prazen*). Os filtros rampa (ou passa-alto) realçam as altas frequências e por isso, realçam os contornos/extremidades da imagem; no entanto, amplificam o ruído da imagem. Os filtros passa-baixo atenuam as componentes de alta frequência e por isso, removem o ruído da imagem; no entanto, devido às componentes de baixa frequência, produzem imagem com pior resolução espacial. Assim, devem ser combinados dois tipos de filtros (por exemplo, o filtro rampa e o filtro *Butterworth*) para diminuir a amplificação do ruído introduzido pelo filtro rampa, obtendo-se assim um filtro passa-banda⁽³¹⁾.

2.1.3.2 Métodos Iterativos

Os métodos de FBP não incorporam os processos de modelação e formação de imagem; ou seja, não têm em conta o ruído da imagem, a geometria dos detetores e colimadores, a geometria da física de deteção e o facto de nem todos os fótons se propagarem em linha reta devido a efeitos de dispersão e absorção. Assim, torna-se impossível a correção de fatores que degradam a imagem, o que influencia a quantificação absoluta das atividades e dimensões dos objetos em estudo⁽³¹⁾.

Os métodos iterativos de reconstrução podem incorporar modelos de formação de imagem que permitem a correção dos efeitos provocados na imagem pelos fatores de degradação, durante o processo de reconstrução. Esta torna-se a principal vantagem face aos métodos analíticos, já que os últimos assumem que o valor de um elemento de uma projeção é igual ao integral da atividade ao longo da linha dessa projeção, e obrigam a que qualquer correção a ser aplicada aos dados tenha de ser realizada antes da reconstrução. A principal desvantagem dos métodos iterativos está relacionada com a maior exigência computacional destes algoritmos, face aos métodos analíticos⁽³³⁾.

O princípio subjacente aos algoritmos iterativos baseia-se na busca de uma solução através de sucessivas estimativas, que permitirão uma aproximação ao valor exato procurado para a atividade em cada um dos pixéis/voxéis da imagem do objeto em estudo⁽³³⁾. Primeiro é assumida uma estimativa inicial para a imagem reconstruída, normalmente pelo método FBP, e a partir dessa estimativa é calculado como seriam as projeções que geraram tal distribuição (projeções prospetivas). De seguida, as projeções medidas são comparadas às projeções estimadas e, caso haja discrepâncias significativas entre elas, a diferença gera um termo de correção e é realizada uma nova iteração (atualização da imagem), de forma a que ocorra uma repetição do processo. Este último passo é controlado por uma função objetiva de verosimilhança, como o algoritmo de máxima

verossimilhança. O processo é repetido até que a diferença entre as projeções medidas e as estimadas seja desprezável, ou seja, até ser alcançada a melhor estimativa da solução⁽²⁷⁾.

As primeiras técnicas iterativas aplicadas a SPECT tiveram por base o algoritmo MLEM. No entanto, existe uma lenta convergência deste processo, visto que a imagem só é atualizada após considerar todas as projeções atualizadas, o que requer um grande número de iterações para alcançar uma boa estimativa. Surgiu assim o algoritmo OSEM, como alternativa ao MLEM, com a subdivisão do conjunto total de projeções em subconjuntos (*subsets*), em cada etapa de retroprojeção, o que reduz consideravelmente o número de iterações necessárias^(29,33).

As propriedades dos métodos de reconstrução iterativos MLEM e OSEM são semelhantes e, por isso, as imagens obtidas têm qualidade semelhante, caso o número de subconjuntos não seja demasiado elevado. Contudo, o método OSEM é mais rápido, pois realiza as iterações para cada subconjunto e não para cada projeção, como ocorre no método MLEM; sendo esta a única diferença entre estes dois métodos de reconstrução^(31,33).

2.1.4 Degradação de Imagem e Quantificação em SPECT

Tal como descrito anteriormente, a SPECT permite a visualização em 3D da radioatividade distribuída pelo organismo, amplamente usada com diversos fins clínicos. No entanto, em SPECT, a qualidade de imagem pode ser afetada por diversos fatores, o que dificulta o processo de quantificação da radioatividade num determinado volume de tecido em unidades absolutas como Bq/cm³; por esse motivo as imagens obtidas por SPECT não fornecem concentrações de RF por unidade de volume, sendo assim considerada uma quantificação relativa^(12,34).

Em SPECT, os fatores que afetam a qualidade de imagem são: a atenuação de fótons, a dispersão de fótons, o efeito de volume parcial e ainda artefactos de movimento⁽³⁴⁾.

A atenuação de fótons é um dos fatores que degrada a qualidade de imagem em SPECT. Alguns dos fótons, emitidos a partir do RF administrado ao paciente, vão interagir no paciente e portanto não contribuem para a formação final da imagem. Os tipos de interação básica de fótons que podem ocorrer em MN são a foto-absorção, a dispersão de *Compton*, a dispersão de *Rayleigh* e a produção de pares, sendo esta última rara uma vez que este tipo de interação ocorre apenas para fótons com energias superiores a 1,022 MeV, o que não ocorre em MN (Figura 8). A probabilidade de cada uma das possíveis interações com o corpo do paciente pode ser descrita por coeficientes de absorção linear e a soma de todos estes coeficientes descreve a probabilidade para qualquer tipo de interação, sendo esta soma denominada de Coeficiente de Atenuação Linear. A atenuação de fótons depende da energia do fóton, da composição (*Z*) e densidade do objeto; e os valores

encontram-se tabulados. Num evento de foto-absorção, a energia do fóton é transferida para um elétron pertencente ao átomo e, se a energia do fóton incidente for suficiente, este elétron liberta-se do átomo e adquire uma energia cinética igual à energia do fóton menos a energia de ligação do elétron ao átomo, ocorrendo o efeito fotoelétrico. Quando a lacuna criada pela ejeção do elétron é preenchida, pode ser emitido um fóton de raios-X característico ou um elétron *Auger*; estes podem interagir com o material, contribuindo para os efeitos biológicos da radiação eletromagnética ionizante. A probabilidade destas ocorrências depende do número atômico do material; sendo que a emissão de elétrons *Auger* ocorre com maior frequência para materiais equivalentes a tecidos com valor reduzido de Z ^(12,35).

Nas etapas de reconstrução das imagens tomográficas SPECT podem ser aplicados métodos de correção para o efeito da atenuação de fótons. Um dos métodos mais usados é o Método de *Chang*, um método de pós-processamento aplicado nas imagens SPECT reconstruídas. Este método baseia-se no cálculo de um fator de atenuação a partir da média de todos os ângulos e determinado para cada *voxel* dentro dos limites do objeto, útil em situações em que a distribuição da atenuação é uniforme. Se a informação sobre a atenuação for heterogênea, deve ser determinado um mapa de atenuação do próprio paciente, que representa a distribuição espacial dos coeficientes de atenuação linear e é incluído no estudo SPECT. Este mapa de atenuação pode ser obtido por métodos de imagem de transmissão como TC; e depois de gerado o mapa, este pode ser incorporado no algoritmo de reconstrução da imagem tomográfica de forma a corrigir os erros resultantes de processos de atenuação de fótons⁽³⁵⁻³⁷⁾.

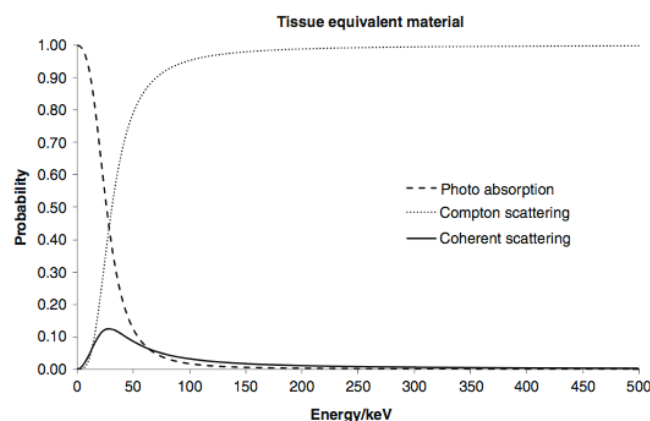


Figura 8: A probabilidade de ocorrência de foto-absorção, dispersão de *Compton* e dispersão de *Rayleigh* com energias até 500 KeV para material equivalente aos tecidos⁽³⁵⁾.

O problema com a dispersão de fótons, ou dispersão de *Compton*, deve-se à limitação da CG para medir com precisão a energia depositada no cristal de NaI(Tl). O processo de conversão dessa energia para fótons de luz visível e o processo de guiar os fótons até aos PMT, são processos estocásticos. Assim, ao sinal medido está associado um erro estatístico; por exemplo, para cristais de NaI(Tl) novos este erro é de cerca de 8 a 10% (denominado de largura a meia altura, FWHM) para uma energia absorvida de 140 KeV, o que implica que um discriminador de energia necessita de cobrir duas vezes essa largura (16 a 20%) para manter uma estatística de contagens razoável (Figura 9). Alguns dos fótons que foram dispersos no paciente com um pequeno ângulo de deflexão (pequena perda de energia) terão, portanto, a possibilidade de serem detetados dentro de uma janela de energia relativamente grande e assim contribuirão para a formação da imagem. No entanto, estes fótons dispersos têm informação espacial errada acerca da localização do evento, o que resulta em perda de contraste de imagem, podendo causar problemas em processos de quantificação. Apesar de não ser possível eliminar este efeito, ao usar uma janela de energia adequada em torno do pico energético do isótopo, é possível reduzir o número de fótons que sofreram dispersão⁽³⁵⁾.

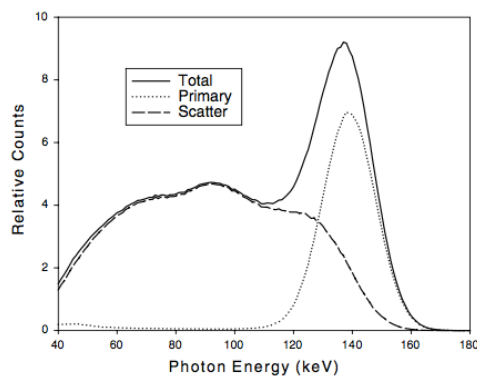


Figura 9: Janela de Energia do ^{99m}Tc de 20% centrada no pico energético (140 KeV), inclui fótons primários e fótons resultantes da dispersão de *Compton*⁽³⁶⁾.

Devido à baixa capacidade de resolução do próprio sistema de imagem (cerca de 10 a 15 mm), a precisão da SPECT para medir concentrações da radioatividade num determinado volume de interesse é dificultada. O que significa que embora seja adquirido o número correto de contagens pela CG, a posição de cada evento encontra-se “espalhada” numa área grande (ou seja, com mais pixéis) e quanto maior a distância entre a fonte e o colimador, maior é esta área. Assim, as contagens encontram-se “espalhadas” por um volume superior ao volume real da fonte, não refletindo a concentração real da atividade mas apenas a quantidade de contagens. Este fenómeno é conhecido por efeito de volume parcial^(35,36).

O objetivo do colimador é selecionar apenas os fótons emitidos numa determinada direção definida pela direção axial do orifício do colimador e rejeitar todos os fótons emitidos em diferentes direções. No entanto, devido à capacidade de atenuação do fóton, existe uma probabilidade de um fóton penetrar as paredes do colimador e interagir com o cristal de cintilação, sendo este também um dos fatores de degradação da imagem. Assim, na construção de um colimador, a seleção da espessura das paredes deve ter um compromisso entre a resolução espacial, a sensibilidade e a possibilidade de penetração septal. Este problema da penetração septal pode ser reduzido ao usar colimadores com septos mais espessos, com melhores propriedades atenuantes, como o tungstênio; e caso a penetração septal puder ser modelada, este efeito deve ser incluído no método de reconstrução de imagem tomográfica através de uma função de modelação⁽³⁵⁾.

Outro fator de degradação da imagem é o movimento do paciente durante a aquisição do estudo tomográfico que pode causar artefactos na imagem e a perda de resolução espacial. Alguns dos movimentos não podem ser evitados, tais como os movimentos inerentes à respiração e aos batimentos cardíacos⁽³⁵⁾.

Relativamente à imagem cerebral funcional, o termo quantificação pode ser utilizado com vários significados: como semi-quantificação, em que são gerados rácios de captação entre as estruturas de interesse e as regiões de fundo; como quantificação absoluta, onde é determinada a concentração absoluta numa determinada estrutura cerebral, após serem aplicadas correções para os fatores de degradação de imagem inerentes ao estudo tomográfico; e como quantificação fisiológica absoluta, onde as concentrações absolutas são transformadas em parâmetros fisiológicos significativos sendo necessária a modelação farmacocinética dos RF⁽³⁸⁾. No âmbito deste trabalho, a quantificação utilizada foi a semi-quantificação/quantificação relativa.

3. Técnicas de Segmentação de Imagem

A segmentação é o processo que divide uma imagem em regiões com propriedades semelhantes, como o nível de cinzento, cor, textura e contraste. O papel da segmentação é subdividir a imagem em regiões/objetos. No caso da segmentação em imagens médicas, os objetivos podem ser: o estudo de uma estrutura anatômica; a identificação de regiões de interesse, isto é, tumor localizado, lesão ou outras situações patológicas; a medição do volume do tecido para analisar, por exemplo, o crescimento de um tumor; e o auxílio no planejamento do tratamento previamente à radioterapia, bem como o cálculo da dose de radiação⁽³⁹⁾.

Os estudos PET e SPECT fornecem informações acerca da distribuição 3D de um RF e o objetivo destes estudos reside no diagnóstico de anomalias no processo bioquímico de interesse. Assim, para identificar e quantificar a informação contida numa imagem de MN, é necessário delinear regiões na imagem. No entanto, estas imagens apresentam baixa resolução espacial, baixa relação sinal-ruído, efeitos de degradação física relacionados com a dispersão, atenuação e o efeito de volume parcial, o que torna o processo de quantificação mais complexo. Ao longo dos anos, têm sido propostas várias abordagens para a segmentação de imagens mas apenas algumas são aplicadas com sucesso às imagens de MN⁽⁴⁰⁾.

Os algoritmos de segmentação de imagem são baseados em uma das duas propriedades básicas dos valores de intensidade: descontinuidade (contornos) e semelhança. Na primeira categoria, a abordagem básica é a divisão de uma imagem com base nas mudanças abruptas de intensidade, por exemplo, contornos (*edges*). As principais abordagens na segunda categoria baseiam-se na divisão de uma imagem em regiões que são semelhantes de acordo com um conjunto de critérios pré definidos, por exemplo, métodos de binarização (*thresholding*), agrupamento (*clustering*) ou crescimento de regiões. A segmentação é baseada em conjuntos de características que podem ser extraídas das imagens, como a intensidade dos pixels, que por sua vez podem ser usadas para calcular outras características, como os contornos e a textura⁽⁴⁰⁾.

3.1 Binarização (*Thresholding*)

A binarização é uma das técnicas mais simples e mais usadas para a segmentação de imagens. Pode ser realizada com base em informações globais (por exemplo, histograma dos níveis de cinzento de uma imagem) ou usando informações locais (por exemplo, matriz de co-ocorrência) da imagem. O limiar automático é uma técnica importante em aplicações onde a velocidade ou as condições físicas impedem a seleção manual de limiares. Se for usado apenas um limiar para toda a imagem, o processo é chamado de limiar global. Por

outro lado, quando a imagem é dividida em varias sub-regiões, é referido como um limiar local. As técnicas de binarização também podem ser classificadas como limiar de dois níveis ou *multithresholding*; no limiar de dois níveis o histograma da imagem é assumido com distribuição multimodal⁽⁴⁰⁾.

O limiar global é baseado no pressuposto de que a imagem tem um histograma bimodal e, por isso, o objeto pode ser extraído do fundo por uma operação simples que compara os valores da imagem com um valor de limiar T. Numa imagem monocromática, os pixels do objeto e do fundo têm níveis de cinzento agrupados em dois modos dominantes. Uma forma fácil de extrair o objeto do fundo da imagem é selecionar um limiar T que separe estes dois modos. A imagem resultante do processo de binarização $g(x,y)$ é definida pela Equação 1, na qual $f(x,y)$ corresponde à imagem original e T ao valor do limiar. O resultado deste processo é uma imagem binária, na qual os pixels com valor de intensidade 1 correspondem ao objeto de interesse, e os pixels de intensidade 0 correspondem ao fundo da imagem⁽⁴¹⁾.

$$g(x,y) = \begin{cases} 1 & \text{se } f(x,y) > T \\ 0 & \text{se } f(x,y) \leq T \end{cases} \quad (1)$$

Este valor de limiar T é especificado através da análise visual do histograma ou por um método de tentativa e erro, e portanto estas abordagens são dependentes do utilizador⁽⁴⁰⁾.

Uma abordagem para a seleção automática do valor de limiar T global, é o Método de *Otsu*. Este método baseia-se numa análise relativamente direta que encontra o limiar que minimiza a variância intra-classe dos pixels “brancos” e “pretos”, que resulta no melhor agrupamento dos grupos de pixels pertencentes ao objeto de interesse e aos pixels de fundo⁽⁴²⁾. O algoritmo divide o histograma da imagem em duas classes, usando um limiar, de forma a que a variabilidade intra-classe seja o mais pequena possível⁽⁴³⁾.

Esta operação simples de encontrar um valor de limiar global não funciona corretamente em imagens com vários objetos, cada um com valores distintos de níveis de cinzento, ou seja, em imagens com histograma multimodal. Assim, para ultrapassar esta limitação, existe a abordagem de *multithresholding*, na qual são necessários vários limiares para a segmentação da imagem^(39,40).

Quando a imagem representa um histograma multimodal e não um histograma bimodal, e não é possível utilizar um limiar global, também pode usar-se um limiar local. Os limiares locais podem ser determinados por: (1) Divisão da imagem em subimagens ou (2) Observação das intensidades da imagem na vizinhança de cada pixel. No primeiro método, uma imagem é primeiramente dividida em subimagens retangulares justapostas e são

calculados os histogramas de cada subimagem; as subimagens usadas devem ser suficientemente grandes para incluir pixels do objeto e do fundo; se uma subimagem apresentar um histograma bimodal, deve ser determinado o valor mínimo entre os dois picos do histograma (limiar local); se o histograma for unimodal, o limiar pode ser atribuído por interpolação a partir dos limiares locais definidos para as subimagens vizinhas; no passo final, é necessária uma segunda interpolação para encontrar os limiares corretos em cada pixel. No segundo método, o limiar é selecionado utilizando o valor médio da distribuição da intensidade local. No geral, o limiar local é computacionalmente mais dispendioso que o limiar global; no entanto, pode ser bastante útil para segmentar objetos de um fundo com várias intensidades, e também para a extração de regiões muito pequenas⁽⁴¹⁾.

Esta técnica de segmentação de imagens foi a técnica utilizada neste trabalho, por ser uma técnica simples e de fácil implementação. Esta técnica é a mais usada por outros autores para a segmentação dos corpos estriados^(9,12).

3.2 Crescimento e Partição de Regiões

A principal desvantagem da segmentação de imagem baseada no seu histograma é que este não fornece qualquer informação espacial. As abordagens de crescimento de regiões exploram o facto importante de que os pixels próximos uns dos outros têm valores de cinzento semelhantes⁽⁴⁰⁾.

O crescimento de regiões é um procedimento *bottom-up* que inicia com um conjunto de pixels (sementes). O objetivo é crescer uma região uniforme a partir de cada conjunto inicial. O utilizador seleciona um pixel ou um conjunto de pixels iniciais e uma região cresce a partir desse(s) pixel ou pixels enquanto a medida de semelhança for suficientemente elevada, de acordo com o critério escolhido. Um pixel é adicionado a uma região se e apenas se: não tenha sido atribuído a outra região, for vizinho dessa região, e a nova região criada pela adição do novo pixel continue uniforme⁽⁴⁰⁾.

Para esta abordagem podem ser usados diferentes critérios de semelhança, tais como: (1) a diferença absoluta de intensidades entre um pixel novo e o pixel da região deve ser menor que um determinado valor; (2) a diferença absoluta de intensidades entre um pixel novo e a média de intensidades dos pixels presentes na região deve ser menor que um determinado valor. Também podem ser usados outro tipo de critérios, dependendo da natureza do problema, relacionados com a intensidade, cor ou propriedades estatísticas da sua vizinhança⁽⁴²⁾.

A vantagem do método de crescimento de regiões é a capacidade de segmentar corretamente as regiões que possuem propriedades semelhantes e estão separadas espacialmente, formando regiões interligadas. A sua principal desvantagem é que

usualmente requer intervenção manual para obter o ponto inicial de colocação das sementes, sendo assim necessário colocar uma semente para cada região a segmentar; uma outra desvantagem prende-se com o facto de sementes colocadas em regiões iniciais diferentes poderem originar segmentações distintas para uma mesma imagem⁽⁴⁴⁾.

O crescimento de regiões é considerado assim uma abordagem de junção de regiões (*merging*); no entanto, em vez de junção de regiões, também é possível começar com alguma segmentação inicial e subdividir as regiões que não satisfaçam um determinado critério de uniformidade. Esta técnica é chamada de partição de regiões (*region splitting*). Uma combinação de *splitting* e *merging* acrescenta vantagens a ambas as abordagens⁽⁴¹⁾.

O algoritmo de *split-and-merge* está assim dividido em duas etapas sucessivas. O objetivo da divisão (*split*) é partir a imagem em conjuntos de regiões disjuntas, cada uma com características uniformes. Os quatro passos básicos consistem em: (1) considerar a imagem como um todo para ser a área de interesse inicial; (2) observar a área de interesse e decidir se todos os pixels contidos na região satisfazem algum critério de semelhança; (3) se satisfazer, então a área de interesse corresponde a uma região na imagem e é etiquetada (*labelled*); (4) se não satisfazer, então a área de interesse é dividida (geralmente em quatro subáreas iguais) e cada subárea é considerada uma área de interesse. Este processo continua até não ocorrer mais nenhuma divisão; e é denominado também como um método de *top-down*. As quatro subáreas iguais são também conhecidas como uma decomposição *quadtree*. No entanto, se for realizada apenas a divisão, a segmentação final poderá conter muitas regiões vizinhas com propriedades idênticas. Assim um processo de junção (*merge*) é usado após cada divisão, através da comparação das regiões adjacentes e junção se necessário. Quando não existir uma divisão ou uma junção adicional, a segmentação fica completa⁽⁴²⁾.

3.3 Técnicas de Classificação para Segmentação

Durante o processo de segmentação, são utilizadas etiquetas para definir as diferentes regiões da imagem. A classificação é uma técnica de reconhecimento de padrões, que poderá ser utilizada para atribuir estas etiquetas. Para tal, são necessários dados de treino (*training data*), para realizar um processo de aprendizagem. A classificação procura separar o espaço de características derivado da imagem usando etiquetas/identificadores conhecidos. O espaço de características (*feature space*) é o intervalo de vetores de características com dimensão n que representam cada pixel, e constituem o objeto a ser classificado. As características podem incluir a intensidade dos pixels, o gradiente num dado pixel, medidas estatísticas locais ou outras. A forma mais simples de classificadores é o Classificador do vizinho mais próximo (*Nearest-Neighbour Classifier*: NNC) no qual cada

pixel é classificado na classe do padrão de treino (*training data*) com característica mais próxima. Exemplos de outros classificadores são *k-Nearest Neighbour* (k-NN), *Nearest Mean Classifier* (NMC), *Fisher Linear Discriminant* (FLD), *Parzen Classifier* e *Support Vector Machine* (SVM)⁽⁴⁰⁾.

O classificador k-NN é a generalização do NNC, e surge da ideia de que os padrões que se encontram mais próximos no espaço de características têm maior probabilidade de pertencerem a uma mesma classe. Assim, este classificador consiste em, para cada novo padrão, determinar a classe dos padrões mais próxima e atribuir-lhe a classe predominante. De salientar que esta ideia não tem subjacente o valor de *k* (número de vizinhos), este tem de ser definido pelo utilizador. Alguns estudos demonstram que os melhores resultados obtidos são para $k=3$ ou $k=5$ ^(40,45).

O NMC calcula a média dos vetores de treino de cada classe, e a pesquisa e a classificação são realizadas apenas para o vetor médio de cada classe. O classificador FLD projeta dados de alta dimensão num espaço de uma dimensão e realiza a classificação nesse espaço unidimensional. A projeção maximiza a distância entre as médias de duas classes ao mesmo tempo que minimiza a variância dentro de cada classe. O FLD e o NMC separam os padrões (píxeis da imagem) com um hiperplano no espaço de características, em duas classes⁽⁴⁰⁾.

O SVM é um método de aprendizagem automático e supervisionado, adequado para dados de alta dimensão. Este método baseia-se na ideia de separar padrões de duas classes por meio de um hiperplano de margem máxima. A partir de um método de aprendizagem do hiperplano, usando dados de treino, este pode ser usado para classificar novos dados na classe respetiva. Este método apresenta vantagens que incluem a excelente capacidade de generalização, que diz respeito à capacidade de classificar corretamente as amostras que não se encontram no interior do espaço de características, usado para o treino^(40,45,46).

3.4 Clustering

A limitação das técnicas de binarização é que estas apenas se aplicam a imagens monocromáticas, como as imagens em escala de cinzentos. Por outro lado, o método de *clustering* pode ser aplicado a uma imagem multiespectral, como uma imagem a cores. A principal desvantagem é que o número de *clusters* deve ser previamente determinado⁽⁴⁰⁾.

Os algoritmos de *clustering* desempenham a mesma função dos classificadores mas sem o uso de dados de treino previamente classificados, sendo assim chamados de métodos não supervisionados. Para compensar a falta de dados de treino supervisionados, os métodos de *clustering* iteram entre a segmentação da imagem e a caracterização das

propriedades de cada classe. Os métodos não supervisionados incluem o *C-means*, o algoritmo *Fuzzy C-means* (FCM) e o algoritmo *expectation-maximization* (EM)⁽⁴⁰⁾.

O método de *C-means* ou *k-means* descreve uma forma simples de dividir um conjunto de dados num específico número de *k clusters*. O algoritmo de *k-means* é um algoritmo iterativo e consiste em duas fases distintas: na primeira fase calcula o centróide *k* e na segunda fase coloca cada pixel no *cluster* que apresenta o centróide mais próximo do respetivo pixel. Existem diferentes métodos para definir a distância do centróide mais próximo e um dos métodos mais usados é a distância Euclidiana^(47,48).

O algoritmo de *k-means* pode ser resumido nas seguintes etapas: (1) É selecionado o número de *k clusters* e o respetivo centróide; (2) Para cada pixel da imagem, é calculada a distância euclidiana ao centróide; (3) Com base na distância, todos os pixels da imagem são atribuídos ao centróide mais próximo; (4) Após a atribuição de todos os pixels ao respetivo *cluster*, é recalculada um novo centróide; (5) O processo é repetido até satisfazer o valor de tolerância ou erro; (6) Por fim, os vários *clusters* de pixels são redimensionados para formar a imagem⁽⁴⁷⁾.

Apesar de constituir um método fácil de implementar, o algoritmo de *k-means* apresenta algumas desvantagens. A qualidade dos resultados finais do processo de *clustering* depende da seleção arbitrária do centróide inicial. Assim, se o centróide inicial é escolhido aleatoriamente, são obtidos resultados diferentes para diferentes centróides iniciais. Para além disso, apresenta complexidade computacional; depende do número de padrões dos dados, do número de *clusters* e do número de iterações⁽⁴⁷⁾.

3.5 Detecção de Contornos

A segmentação pode ser realizada através da deteção de contornos das várias regiões da imagem. Os contornos são formados pela interseção de duas regiões onde há mudanças abruptas nos valores de intensidade dos pixels. Este método de segmentação funciona de forma satisfatória em imagens com um bom contraste entre regiões. No entanto, a deteção de contornos está limitada em regiões de baixo contraste. Como os contornos são características locais, estes são detetados com base em informações locais. Existem diferentes tipos de operadores diferenciais como o Gradiente de *Roberts*, o Gradiente de *Sobel*, o Gradiente de *Prewitt*, o Operador Laplaciano e o algoritmo de *Canny*^(40,44).

Os algoritmos baseados em contornos caracterizam-se pela determinação do gradiente de intensidade. Este gradiente, usado em vários algoritmos para detetar contornos em imagens, resulta da primeira derivação da função da imagem. Assim sendo, para uma determinada imagem $f(x,y)$ pode-se calcular a magnitude do seu gradiente de intensidade

(Equação 2) e a direção do gradiente (Equação 3), nas quais G_x e G_y representam os gradientes nas direções x e y , respetivamente^(41,44).

$$|G| = \sqrt{G_x^2 + G_y^2} = \sqrt{\left[\left(\frac{\partial f}{\partial x}\right)^2 + \left(\frac{\partial f}{\partial y}\right)^2\right]} \quad (2)$$

$$D = \tan^{-1}\left(\frac{G_y}{G_x}\right) \quad (3)$$

Tanto a magnitude do gradiente de intensidade como a direção podem ser exibidas como imagens. A imagem de magnitude terá níveis de cinzento que são proporcionais à magnitude das mudanças de intensidade local, enquanto que a imagem de direção terá níveis de cinzento que representam a direção do gradiente local máximo na imagem original⁽⁴¹⁾.

A maioria dos operadores de gradiente, nas imagens digitais, envolvem o cálculo de convoluções, por exemplo, as somas ponderadas das intensidades dos pixels nas vizinhanças locais. Os pesos podem ser representados numa matriz numérica numa forma correspondente à vizinhança local da imagem (também conhecida como máscara, janela ou *kernel*)⁽⁴¹⁾.

As máscaras de *Prewitt*, *Roberts* e *Sobel* utilizam a primeira derivação do gradiente. O algoritmo Laplaciano utiliza a informação retirada pela segunda derivada do gradiente da imagem. Por sua vez, o algoritmo de *Canny* é um filtro de convolução que usa a primeira derivada; no qual primeiro suaviza o ruído e posteriormente, localiza os contornos, combinando um filtro Gaussiano com um operador diferencial⁽⁴⁴⁾.

Uma vez que os picos da derivada de primeira ordem correspondem a zeros na derivada de segunda ordem, o operador Laplaciano também pode ser usado para detetar contornos. Os contornos das imagens podem ser encontrados localizando os pixels onde o operador Laplaciano realiza cruzamentos por zero. No entanto, este operador não é usado na sua forma original para a deteção de contornos por ser muito sensível ao ruído. Em algumas aplicações, previamente ao operador Laplaciano, é aplicado um filtro de suavização à imagem com o objetivo de reduzir o efeito do ruído (filtro Gaussiano, por exemplo); processo denominado por *Laplacian of Gaussian* (LoG)^(40,41).

Outro algoritmo usado é o detetor de contornos de *Canny*, que foi projetado para ser um detetor de contornos ótimo⁽⁴⁰⁾. O algoritmo de *Canny* pode ser resumido nas seguintes etapas: (1) Suavização da imagem com um *kernel* Gaussiano para diminuir o efeito do ruído na imagem; (2) Encontrar a força do contorno, isto é, calcular o gradiente da imagem com operadores de *Sobel* nas direções horizontais e verticais e depois adicionar a magnitude desse componente como uma medida de “força” do contorno; (3) Calcular a direção do

contorno; (4) Digitalizar a direção do contorno; (5) Supressão não-máxima: traçar o contorno ao longo da direção do contorno determinada e suprimir qualquer valor de pixel (ou seja, defini-lo como zero) que não seja considerado um contorno; (6) Histerese: consiste em realizar um varrimento ao longo dos pixels restantes que não foram suprimidos no passo anterior e realizar uma binarização na imagem para identificar os pixels de contornos⁽⁴²⁾.

Uma das vantagens dos métodos de detecção de contornos está relacionado com o facto de serem computacionalmente rápidos e de não necessitarem de informação prévia sobre o conteúdo da imagem. No entanto, apresentam algumas desvantagens, uma vez que são muito sensíveis ao ruído e de, na maioria das situações, não conseguem delimitar corretamente toda a imagem, gerando linhas descontínuas e com falhas. Para tal, é necessário aplicar posteriormente outras técnicas de processamento à imagem resultante, pelo que estes métodos são raramente usados de forma independente, mas sim como uma etapa de pré-processamento em técnicas de segmentação mais complexas⁽⁴⁴⁾.

3.6 Algoritmo de *Watershed*

A segmentação pelo algoritmo de *Watershed* é considerada uma técnica híbrida que combina diferentes propriedades da imagem original para realizar a segmentação, neste caso combina a técnica baseada em regiões com algoritmos de contornos⁽⁴⁴⁾.

Neste tipo de segmentação, a imagem 2D em escala de cinzento é considerada como uma superfície topográfica ou paisagem, na qual a localização é dada pelas coordenadas da imagem (x,y) e a altura desse local corresponde à intensidade da imagem⁽⁴²⁾. Existem várias soluções para realizar esta segmentação, mas todas elas utilizam o mesmo conceito básico: comparando uma imagem a uma superfície topográfica, pode-se “inundá-la” a partir das suas regiões interiores. Dessa forma, secciona-se a imagem original em diferentes conjuntos: as bacias hidrográficas e as linhas divisores de água (*watersheds*)⁽⁴⁴⁾.

Usando os conceitos de “inundação de relevos topográficos”, esta abordagem considera que uma imagem pode ser formada por um relevo composto por vales, que correspondem aos pixels escuros, e por montanhas, que são os pixels claros. Quando uma gota de água cai sobre a superfície, esta vai escorrer para o lado mais íngreme até atingir o fundo do vale (região do mínimo). A região formada por todos os pontos da superfície onde as gotas escorrem para a mesma região de mínimo é chamada de bacia hidrográfica. Por outro lado, todos os pontos onde a gota de água cair e não escorrer, formam as fronteiras das bacias hidrográficas e são chamados de divisores de água. Ao ocorrer a inundação, água de diferentes bacias encontram-se nas linhas divisoras de águas, e o processo de inundação é interrompido quando a água atinge o pico máximo do relevo^(41,49).

Este método de *watershed*, ao ser aplicado em imagens digitais, segmenta as regiões considerando as áreas inundadas entre os divisores de água como as regiões da imagem, e requer a seleção de pelo menos um marcador etiquetado no interior de cada objeto da imagem, incluindo o fundo da imagem como um objeto separado. Ao escolher etiquetas distintas, é possível detetar vários objetos simultaneamente. Os marcadores são escolhidos pelo utilizador ou são fornecidos através de um procedimento automático que tem em conta o conhecimento específico da aplicação dos objetos. Assim que os objetos são marcados, estes podem crescer através de uma transformação morfológica de *watershed*, ou seja, o algoritmo de *watershed* é depois aplicado sobre o gradiente morfológico da imagem, devido ao facto deste operador realçar os contornos da mesma, facilitando o processo de segmentação^(41,49).

A segmentação usando os métodos de *watershed* tem algumas vantagens em relação aos outros métodos mencionados anteriormente. Uma vantagem é que os métodos de *watershed*, ao contrário dos métodos baseados na deteção de contornos, geralmente produzem contornos fechados para delinear a fronteira dos objetos⁽⁴²⁾. No entanto, em imagens com bastante ruído, pode ser gerado um número excessivo de mínimos locais devido à sensibilidade do operador gradiente à presença de ruído; e, caso isto ocorra, pode resultar numa sobre-segmentação da imagem, gerando um número excessivo de regiões, o que dificulta a identificação correta de estruturas de interesse. Têm sido propostas várias adaptações com o objetivo de reduzir a sobre-segmentação, como por exemplo a marcação de pontos através dos quais se inicia o crescimento, passando o método de *watershed* a ser controlado por sementes (*seeds*)⁽⁴⁹⁾.

3.7 Modelos Deformáveis

Os modelos deformáveis são curvas, superfícies ou sólidos definidos com um domínio de imagem ou volume. Estes modelos deformam sob a influência de forças internas ou externas⁽⁴⁰⁾. Os modelos deformáveis, incluindo contornos ativos (2D) e superfícies ativas (3D), são contornos/superfícies artificiais fechadas, com a capacidade de expansão ou contração ao longo do tempo dentro de uma imagem, e de confirmação das características específicas da imagem⁽⁵⁰⁾.

Este método de segmentação é projetado para ser atraído para características externas da imagem (como os contornos), enquanto mantém restrições internas (como a suavidade), modificando progressivamente a sua forma com o objetivo de localizar a estrutura desejada na imagem. Para tal, existem duas técnicas principais de modelos deformáveis: modelos paramétricos e geométricos⁽⁵⁰⁾.

Os modelos paramétricos, conhecidos como *snake models* ou modelos de contornos ativos, têm a capacidade de mover pontos pré-definidos da *snake* (isto é, pontos da curva), com base num esquema de minimização de energia. O modelo tradicional da *snake*, proposto por Kass *et al.*⁽⁵¹⁾, compreende que a energia funcional é formada por energias internas e externas. A função da energia interna determina a regularidade, isto é, a forma suavizada do contorno, e inclui parâmetros que permitem controlar a tensão e a rigidez dos contornos. A energia externa pretende mover a curva em direção aos contornos da imagem, e a sua função é definida pelas informações da própria imagem, como a magnitude do gradiente da imagem. Assim, a deformação da curva é obtida pela minimização da energia funcional, com o objetivo de a tornar mínima quando se encontrar sobre uma região com as características pretendidas; o resultado deste processo são informações acerca da forma e posição dos contornos dos objetos da imagem^(49,50). Na prática, o utilizador inicia o modelo deformável perto da região de interesse e permite que este se deforme naquele local. A *snake* deforma-se em conformidade com o contorno saliente mais próximo, ao minimizar a energia da *snake*. À medida que o algoritmo avança, os termos da energia funcional da *snake* podem ser ajustados para ser obtido um mínimo local⁽⁴⁰⁾.

A dependência na informação do gradiente de imagem pode tornar os modelos deformáveis sensíveis ao ruído ou a falsos contornos. Para além disso, são sensíveis às condições de inicialização uma vez que não têm a capacidade de modificar a topologia da curva inicial durante o seu processo de deformação; e por isso, necessitam de ser inicializados próximos das regiões de interesse e com uma topologia semelhante ao contorno desejado^(49,52).

Para superar estas limitações, foram propostos os modelos geométricos que têm a capacidade de efetuar mudanças na topologia da curva inicial durante a sua deformação. Estes modelos são baseados nos métodos de *level set*, onde a deformação da curva inicial é realizada de acordo com as características geométricas do contorno do objeto e dirigida por uma função. A deformação da curva ocorre ao longo de uma direção normal e a velocidade de deformação é controlada por uma função de velocidade. Esta função de velocidade depende do gradiente da imagem, sendo positiva em áreas homogéneas e zero em contornos ideais. Assim, a curva move-se a uma velocidade proporcional à sua curvatura em regiões homogéneas e termina em contornos bem definidos. No entanto, tal como nos modelos paramétricos, a dependência do gradiente de imagem torna os modelos geométricos sensíveis ao ruído e aos falsos contornos^(49,52).

Estes modelos apresentam como vantagens: a capacidade de gerar diretamente curvas ou superfícies paramétricas fechadas a partir de imagens, e a incorporação de uma restrição de suavidade que proporciona robustez ao ruído e contornos definidos; permitem a integração de elementos de contorno numa descrição matemática coerente e consistente; e

podem ser implementados com uma precisão de subpixel, uma propriedade altamente desejada para aplicações em imagens médicas⁽⁵⁰⁾. A desvantagem é que estes modelos requerem interação manual para a colocação do modelo deformável inicial e para a escolha de parâmetros adequados⁽⁴⁰⁾.

3.8 Métodos baseados em Atlas

As abordagens de segmentação baseadas em atlas são as mais utilizadas na área de segmentação de imagens médicas. Nestes métodos, as informações acerca da anatomia, da forma, do tamanho e das características de diferentes órgãos e tecidos são compiladas em formato de atlas ou *template*⁽³⁹⁾. O atlas é construído a partir do conjunto de informações detalhadas acerca da anatomia da estrutura a ser segmentada, para uma determinada população de pacientes. O *template* é assim usado como uma referência para segmentar outras imagens. De salientar que estes métodos são semelhantes aos classificadores, ou seja, são métodos implementados no domínio espacial e não num espaço de características⁽⁴⁰⁾.

A abordagem *standard* baseada em atlas considera a segmentação como um problema de alinhamento. O algoritmo inicia com um processo denominado de *atlas warping*, ou seja, é feita uma estimativa da matriz de transformação que alinha a imagem de atlas pré-segmentada à imagem alvo a ser segmentada. Esta transformação pode ser linear, não linear ou uma combinação de ambos com o objetivo de contornar de forma eficiente a variabilidade anatômica⁽⁴⁰⁾.

A grande vantagem destes métodos é que executam a segmentação e a classificação em simultâneo. No entanto, existem alguns fatores que podem afetar o seu desempenho durante a seleção do atlas, o procedimento de alinhamento do atlas e durante o protocolo de registo do atlas. Estes métodos enfrentam limitações em estruturas com forma, tamanho e propriedades complexas de segmentar, o que leva à necessidade de construção de bases de dados⁽³⁹⁾.

4. SPECT Cerebral com [¹²³I]FP-CIT

A MN, a nível cerebral, tem particular aplicação na avaliação de patologias cerebrovasculares, demência, tumores cerebrais, desordens do movimento relacionado com o sistema dopaminérgico, entre outras⁽¹⁷⁾.

A imagem do sistema dopaminérgico com SPECT tornou-se uma prática regular ao nível da Europa, uma vez que os RF utilizados para marcar e visualizar os DaT (como o [¹²³I]FP-CIT), bem como os recetores D da dopamina (como o ¹²³I-IBZM) encontram-se comercialmente disponíveis⁽⁹⁾.

O SPECT com recurso ao RF [¹²³I]FP-CIT permite a avaliação da integridade das sinapses dopaminérgicas nigroestriatais, através da visualização da função dos DaT ao nível dos corpos estriados (núcleo caudado e putâmen); e assim auxilia na diferenciação entre SP neurodegenerativos, com um défice dopaminérgico pré-sináptico associado, e doenças sem neurodegeneração pré-sináptica (por exemplo, Tremor Essencial), segundo *Tolosa E. et al*⁽⁵³⁾, com uma sensibilidade de 97% e especificidade de 100%, uma vez que apenas nos casos de SP ocorre diminuição dos DaT, sendo assim esta diferenciação importante para posterior abordagem terapêutica^(4,9,21).

4.1 Radiofármaco – [¹²³I]FP-CIT (DaTSCAN™)

O [¹²³I]FP-CIT, disponível com o nome comercial de DaTSCAN™ (*GE Healthcare, UK*) é um análogo da cocaína que se liga aos DaT. O objetivo de um estudo SPECT com [¹²³I]FP-CIT é, por isso, a visualização dos corpos estriados e o cálculo dos rácios de captação específica deste RF, sendo assim um indicador da integridade dopaminérgica pré-sináptica⁽¹⁹⁾.

Este estudo SPECT está indicado para a deteção de perda funcional de neurónios dos terminais dopaminérgicos nos corpos estriados de pacientes com suspeita de SP e auxilia na diferenciação de tremor essencial de SP relacionados com a DP, AMS e PSP. É ainda indicado para a diferenciação de Demência com Corpos de *Lewy* de outras demências. Apresenta ainda outras potenciais indicações clínicas como o diagnóstico precoce de parkinsonismo neurodegenerativo, uma vez que o DaTSCAN™ permite avaliar precocemente o défice pré-sináptico na DP; a avaliação da gravidade da doença porque a ligação do RF está relacionada com a fase clínica e gravidade da doença; a diferenciação de pacientes com parkinsonismo pré-sináptico de pacientes com outras formas de parkinsonismo, como o parkinsonismo induzido por neurolépticos⁽⁵⁾.

Como preparação prévia para este exame de MN, os pacientes devem suspender qualquer medicamento ou droga que influencie a análise visual e quantitativa das imagens por se ligarem aos DaT, como a cocaína, anfetaminas, antidepressivos, opiáceos ou

anestésicos, cerca de cinco vezes o período de semivida biológico do fármaco, antes do exame. É também realizado o bloqueio da tiróide para prevenir a acumulação de iodo radioativo na tiróide⁽⁵⁾.

O RF utilizado ($[^{123}\text{I}]\text{FP-CIT}$) é administrado por via endovenosa lenta com uma atividade de 150 a 250 MBq (tipicamente 185 MBq). O SPECT cerebral é adquirido 3 a 6 horas após a administração do RF. O paciente é posicionado em decúbito dorsal na CG com a cabeça imobilizada em suporte próprio. Os detetores são colocados acima dos ombros para ficar o mais próximo possível da cabeça. É utilizado um colimador de baixa energia e alta resolução (LEHR), um pico energético de 159 KeV (pico de emissão gama do ^{123}I) com uma janela de energia de 20% centrada no fotopico. O raio de rotação deve ser o mais pequeno possível devido à avaliação de estruturas pequenas, a matriz de 128x128 pixels, a rotação de 360° em modo *step and shoot*. É realizado um SPECT em torno da cabeça com 120 projeções de 45 segundos/projeção⁽⁵⁾.

4.2 Reconstrução e Processamento

Para o processamento do estudo deve ser realizada, primeiramente, uma revisão dos dados de projeção não processados em modo cinemático antes da reconstrução do estudo, com o objetivo de avaliar a presença e o grau de movimento, as razões alvo-fundo e outros potenciais artefactos. A inspeção dos dados de projeção na forma de sinograma também pode ser útil. Posteriormente é realizada a reconstrução do estudo que pode ser feita por FBP ou por métodos iterativos; deve assegurar-se que todo o volume cerebral é reconstruído e que os dados são reconstruídos à mais elevada resolução do pixel, ou seja, à espessura de um corte. Os dados devem ser filtrados nas três dimensões (x,y,z), que pode ser realizado por pré-filtragem 2D dos dados de projeção ou por aplicação de um pós-filtro 3D aos dados reconstruídos, sendo os filtros mais usados neste estudo os filtros passa-baixo, como por exemplo o filtro *Butterworth*. Os cortes transaxiais obtidos devem ser reformatados em pelo menos três planos ortogonais, obtendo-se assim cortes coronais e sagitais a partir dos cortes transaxiais⁽⁵⁾.

Caso seja realizada uma avaliação semiquantitativa do estudo, devem ser usadas ROI para avaliar a ligação específica dos DaT nas sub-regiões dos corpos estriados (núcleo caudado e putâmen). As regiões de referência com ligação ausente (ou baixa) dos DaT, como por exemplo o córtex occipital ou o cerebelo, são utilizadas para avaliar a ligação não específica. O tamanho e a forma da ROI devem ser normalizados ao usar *templates* e, se disponível, a definição da ROI deve basear-se na morfologia individual obtida por fusão de imagem com RMN, o que é particularmente importante quando se espera uma baixa ligação específica (como por exemplo em casos de perda grave ou bloqueio dos DaT). Os valores

da ligação específica de um paciente são obtidos segundo a Equação 4 e são comparados com os valores obtidos para pacientes controlo com teste negativo (de preferência da mesma faixa etária), usando a mesma técnica. A utilização de valores de controlo a partir de uma base de dados central pode reduzir a necessidade de cada serviço de MN estabelecer os seus próprios grupos de controlo, mas apenas se os estudos com fantasmas permitirem cálculos comparativos para as diferentes configurações de imagem utilizadas⁽⁵⁾.

$$\text{Ligação Específica} = \frac{\text{Contagens médias da ROI do corpo estriado} - \text{Contagens média da ROI de fundo}}{\text{Contagens média da ROI de fundo}} \quad (4)$$

4.3 Critérios de Interpretação das Imagens

É realizada uma análise visual das imagens obtidas que permite avaliar a normalidade da ligação dos DaT e, caso seja anormal, avaliar a magnitude da ligação dos DaT comprometida. Em particular, a avaliação visual fornece informação em relação à simetria ou assimetria esquerda-direita dos corpos estriados e ainda em relação às estruturas (sub-regiões dos corpos estriados) mais afetadas. A avaliação dos dados deve ter em conta a idade e as informações morfológicas (TC, RMN) relevantes do paciente, e deve ser dada uma atenção específica às lesões estruturais conhecidas nos gânglios basais e às estruturas selecionadas como região de referência para a avaliação semiquantitativa⁽⁵⁾.

Na avaliação visual é necessário ter em consideração algumas fontes de erros que podem influenciar a análise das imagens tais como, a dependência da idade uma vez que com o aumento da idade ocorre uma redução na ligação dos DaT; os níveis de contraste e a subtração da atividade de fundo, no qual um limiar inadequado pode resultar em artefactos e, por isso, o limiar, se usado, deve ser baseado no conhecimento de uma base de dados normal para RF específicos; artefactos técnicos, como a presença de movimentos da cabeça ou artefactos de atenuação ou outros resultantes de problemas da CG (centro de rotação, por exemplo); e a possível interação da medicação⁽⁵⁾.

Assim, por análise visual e por observação da Figura 10, podemos concluir que, num paciente com teste negativo, a imagem é caracterizada por duas regiões focais em forma de vírgula de atividade simétrica (atividade específica do RF ao nível dos corpos estriados) e distinta do tecido cerebral circundante (atividade não específica ou atividade de fundo). As imagens com distribuição anormal do DaTSCANTM, podem estar inseridas em três padrões diferentes: atividade assimétrica, por exemplo com atividade reduzida ou ausente de um dos putâmen em relação ao outro mas com atividade ainda visível ao nível dos núcleos caudados, com a presença de uma “vírgula” e de um “ponto final”; atividade ausente em ambos os putâmen e apenas com atividade nos núcleos caudados, sendo a atividade

relativamente simétrica formando dois “pontos finais”; ou atividade ausente em ambos os putâmen e muito reduzida em apenas um ou ambos os núcleos caudados⁽⁵⁴⁾. Podemos concluir assim que, em fases precoces da doença, a captação do RF encontra-se reduzida na parte posterior do putâmen progredindo para a cabeça do núcleo caudado ao longo da evolução da doença⁽¹⁹⁾.

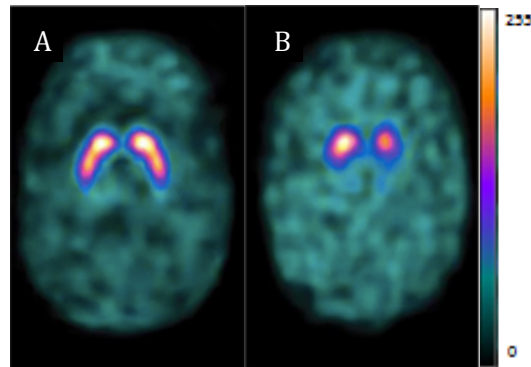


Figura 10: Cortes transaxiais DaTSCANTM de paciente com teste negativo (A) e de paciente com teste positivo (B)⁽⁵⁵⁾

Na prática clínica, a avaliação das imagens de [¹²³I]FP-CIT é realizada maioritariamente por análise visual, por observadores experientes. Na maioria dos casos rotineiros, uma inspeção visual simples é suficiente para confirmar ou rejeitar a redução da ligação específica de [¹²³I]FP-CIT ao nível do putâmen; no entanto, em muitos casos o diagnóstico pode não ser óbvio, especialmente em pacientes com DP inicial⁽¹⁸⁾. A análise visual pode tornar-se complexa e subjetiva, uma vez que depende muito da experiência do observador, estando associada a uma elevada variabilidade intra e interoperador^(6,53). Assim, a interpretação deve basear-se nos resultados da avaliação visual e quantitativa, de forma a melhorar o processo diagnóstico. Geralmente é assumido que a disponibilidade de informações quantitativas precisas sobre o sistema dopaminérgico fornece uma maior precisão diagnóstica do que apenas a interpretação visual. Nos últimos anos têm sido propostos diversos métodos semiquantitativos e quantitativos para avaliar a captação dos DaT ao nível dos corpos estriados e, conseqüentemente, fornecer uma análise mais objetiva dos dados da imagem⁽¹⁸⁾.

Para aplicar estes métodos nos estudos de DaTSCANTM, recorre-se à criação de ROI. A segmentação utilizada neste processo pode ser realizada através de métodos de desenho manual, métodos semiautomáticos ou automáticos⁽¹²⁾. O primeiro método apresentado é o mais utilizado na prática clínica, estando associado a elevada variabilidade intra e interoperador, sendo contudo a segmentação automática a que apresenta melhores valores de reprodutibilidade^(4,12).

Para o desenho das ROI, geralmente são selecionados os cortes transaxiais e apenas os cortes com maior ligação do RF são escolhidos; a quantificação pode ainda ser realizada com ROI normalizadas ou anatomicamente ajustadas (usando *templates* ou técnicas de fusão com RMN). Esta interpretação tem por base a comparação dos valores de ligação específica dos DaT obtidos com os valores das bases de dados de pacientes controlo com teste negativo, da mesma idade. Em geral, esta ligação específica é avaliada ao longo de todo o corpo estriado, do núcleo caudado e do putâmen. Pode ser útil também o cálculo de rácios putâmen-núcleo caudado⁽⁵⁾. O processo de quantificação é potencialmente afetado pelo método de reconstrução usado e pelo tipo de pré-processamento como, por exemplo, a correção de atenuação. Além disso, é também influenciado por movimentos da cabeça do paciente durante a aquisição do estudo. Todas estas questões podem também afetar a qualidade da avaliação visual. Para aplicar os métodos quantitativos, são necessários valores de pacientes controlo com teste negativo⁽¹⁸⁾. De salientar que os rácios de captação específica são influenciados pela idade e pelo género do paciente; com a diminuição gradual dos valores dos rácios de captação com a idade relacionada com a perda gradual de neurónios dopaminérgicos ao longo dos anos; e as mulheres demonstram valores superiores de rácios de captação em comparação com os homens, sendo que esta diferença tende a desaparecer com o aumento da idade, no entanto a razão para esta diferença não é clara^(7,56).

Através dos métodos de quantificação por meio de ROI, surgiu a semiquantificação 3D, com a utilização de VOI. As vantagens em relação aos métodos não anatómicos das ROI incluem uma menor variabilidade intra e interoperador e a inclusão de todo o volume dos corpos estriados⁽⁷⁾.

4.3.1 Métodos Semiautomáticos

Na segmentação com recurso a ROI semiautomáticas, estas são geradas automaticamente e, posteriormente sujeitas a ajustes manuais, diminuindo a variabilidade intra e interoperador, quando em comparação com o desenho manual^(4,6,12).

Os métodos semiquantitativos utilizam rácios formados entre a captação específica do RF em ROI especiais (corpo estriado, núcleo caudado e putâmen) e a captação não específica em áreas de fundo, desprovidas de neurónios nigroestriatais. O lobo occipital, o cerebelo e o lobo frontal têm sido utilizados como áreas de fundo por vários investigadores, sendo o lobo occipital a escolha prevalente. A imagem final pode ser considerada como a soma da captação específica nos corpos estriados mais a captação não específica no restante parênquima cerebral; e o índice quantitativo mais prevalente que tenta expressar esta situação é o rácio de ligação específica. Este rácio é definido como o rácio entre a

captação específica e a captação não específica e está relacionado com a densidade dos terminais pré sinápticos ou dos DaT. Existem vários métodos para o desenho de ROI⁽⁶⁾.

Um desses métodos, desenvolvido por *Costa et al*⁽⁵⁷⁾, compreende o posicionamento manual de ROI anatómicas que cobrem a região dos corpos estriados e uma região de fundo, para o posterior cálculo da atividade de ligação específica⁽⁵⁷⁾. Este método simples ainda é usado em muitos serviços de MN, expandido por especialistas com o desenho de ROI a cobrir as subestruturas dos corpos estriados: núcleo caudado e putâmen. As variações deste método incluem entre usar o corte com o máximo de contagens ou adicionar um número de cortes que compreendam toda a estrutura estriatal da imagem. Pode ainda ser utilizado um atlas anatómico para auxiliar no desenho das ROI de forma individual, ou para a criação de um *template* de ROI *standard*. O resultado numérico desta interpretação manual envolve o cálculo dos rácios de captação específica para o corpo estriado, núcleo caudado e putâmen, bem como as diferenças percentuais das estruturas unilaterais e ainda o cálculo de outros rácios como a razão entre o putâmen e o núcleo caudado. No entanto, tal como descrito anteriormente, o posicionamento manual de ROI é muito subjetivo, pode ser demorado e apresenta variabilidade intra e interoperador⁽⁶⁾.

Para diminuir o tempo de análise, podem ser usadas ROI pré-definidas⁽⁸⁾. Baseado no trabalho de *Costa et al*⁽⁵⁷⁾, foi desenvolvido um método de quantificação que calcula os rácios de captação a partir de duas ROI grandes retangulares que cobrem todo o corpo estriado e uma outra ROI retangular colocada no lobo occipital⁽⁵⁷⁾. A abordagem de utilização de ROI grandes, em contraste com o desenho rigoroso e detalhado em torno das pequenas estruturas de interesse, é usado para eliminar o efeito de volume parcial; este efeito ocorre devido à má resolução espacial da CG que tornam as imagens desfocadas, subestimando e evitando uma avaliação precisa da captação⁽⁶⁾. *Fleming et al*⁽⁵⁸⁾ desenvolveram um novo índice de captação, denominado de *specific uptake size index* (SUSI), que descreve uma nova medida da captação total de um órgão e pode estar relacionado em termos absolutos com a atividade total injetada ou com a atividade específica de uma ROI; é um tipo de índice independente da resolução do processo de imagem e atribui a concentração da atividade com maior sucesso do que o convencionalmente usado, como o rácio de captação específica^(6,58). Posteriormente, *Tossici-Bolt et al*⁽⁵⁹⁾ usaram esta abordagem do SUSI para a determinação precisa do rácio de captação específica, tendo em consideração o efeito de volume parcial; com este método a intervenção do operador é limitada à colocação de duas ROI grandes em forma de trapézio que cobre separadamente os corpos estriados, enquanto que a região de fundo é definida automaticamente como a totalidade do parênquima cerebral, excluindo as regiões dos corpos estriados^(6,59).

A baixa utilização da semi-quantificação aquando do diagnóstico clínico, deve-se essencialmente à necessidade da mesma estar adaptada à população em causa, bem como ao protocolo do exame de cada serviço. Alia-se ainda a existência de fatores que a podem enviesar e a evidência de constituir um processo moroso.

4.3.1.1 Aplicações Comerciais Semi-Automáticas

Uma das aplicações comercialmente disponíveis é o *QuantiSPECT* (GE Healthcare) que dispõe de três métodos de semi-quantificação: o “método das duas caixas” com base na técnica de quantificação de *Tossici-Bolt et al*⁽⁵⁹⁾; o “método das três caixas” baseado no trabalho de *Costa et al*⁽⁵⁷⁾; e o método crescente. O resultado numérico do “método das duas caixas” é o rácio de ligação específica calculado para cada corpo estriado (Figura 11A). Os dados quantitativos do algoritmo das “três caixas” correspondem ao rácio do potencial de ligação estriatal total para cada corpo estriado (Figura 11B). O método crescente fornece valores de captação para o corpo estriado, putâmen e núcleo caudado, bem como o rácio putâmen-núcleo caudado (Figura 11C). Esta aplicação inclui diversas opções de reconstrução, correção da atenuação em 3D por *Chang* e três diferentes métodos de quantificação⁽⁶⁾.

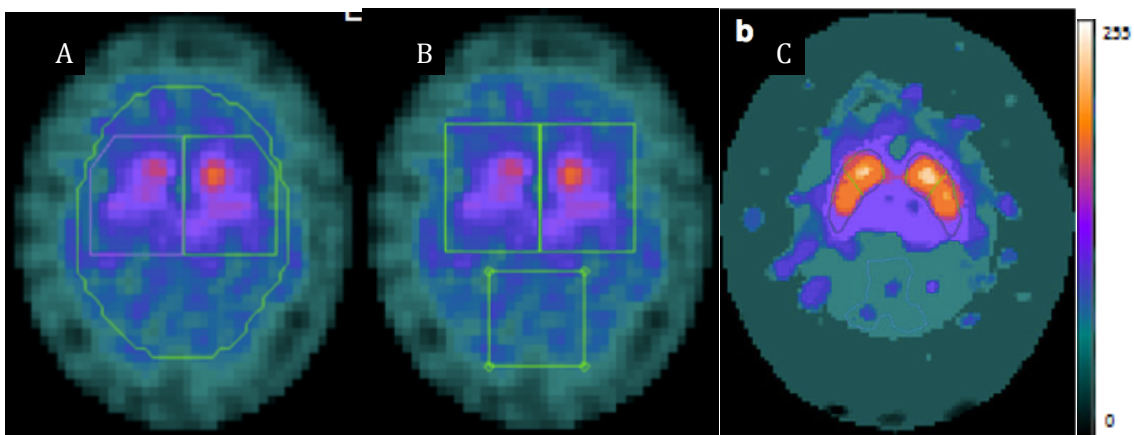


Figura 11: (A) Método das duas caixas; (B) Método das três caixas; (C) Método crescente da aplicação QuantiSPECT⁽⁶⁾

4.3.2 Métodos Automáticos

Os métodos semi-automáticos requerem o posicionamento manual das ROI, por um operador experiente, o que torna os procedimentos morosos e suscetíveis a variabilidade intra e interoperador. Para reduzir o tempo de análise, podem ser usadas ROI pré-definidas; no entanto, esta abordagem pode ser altamente arbitrária, em especial nos casos de baixa captação estriatal. Para enfrentar estas questões, foram desenvolvidas aplicações que fornecem uma colocação automática, ou em alguns casos ainda semi-automática, de ROI⁽⁸⁾.

Zubal et al⁽⁶⁰⁾ propuseram um procedimento de quantificação automático denominado de “análise estriatal objetiva”, com linguagem *MATLAB* (*The MathWorks Inc., Natick, MA, USA*)⁽⁶⁰⁾. Esta aplicação reorienta as imagens de acordo com um *template*, identifica as estruturas de interesse (corpo estriado, putâmen e núcleo caudado) e a região de fundo (lobo occipital), corrige a atenuação e calcula o rácio da ligação específica-ligação não específica⁽⁶⁾.

Calvini et al⁽⁶¹⁾ desenvolveram o *BasGan*, um algoritmo criado para segmentação automática do DaTSCANTM que utiliza um *template* em 3D do *striatum* de alta definição. Este algoritmo inclui ainda a correção do efeito de volume parcial, realiza as transformações necessárias para colocar o *template* na posição inicial correta, enquanto um protocolo de otimização é responsável pela correspondência final. As vantagens deste algoritmo é que não é necessário um co-registo com imagens de RMN e utiliza VOI e não ROI⁽⁶⁾.

Mirzaei et al⁽⁶²⁾ desenvolveram e avaliaram Spectalizer, um método totalmente automático para extração de ROI em 3D e avaliação dos rácios de captação específica. Este método apresenta um bom funcionamento no que respeita à diferenciação de pacientes com DP de pacientes com Tremor Essencial, no entanto não fornece informação acerca da forma e assimetria dos corpos estriados, ou seja não realiza a segmentação do estriado^(8,62).

As abordagens totalmente automáticas mais recentes não só segmentam as ROI estriatais com uma abordagem de binarização, como também reduzem o número de vóxeis a incluir na análise, ao usar uma combinação de testes estatísticos e técnicas de redução de dados. No entanto, nenhum destes métodos introduziu informações acerca da forma dos estriados na sua análise⁽⁸⁾.

As informações acerca da forma e assimetria dos corpos estriados podem ser úteis no diagnóstico de DP, na qual o dano ao nível dos corpos estriados apresenta-se unilateralmente em situações precoces e depois alastra-se para a estrutura contralateral; e úteis também no diagnóstico diferencial de DP de outros SP, nos quais podem estar presentes padrões espaciais específicos⁽⁸⁾

4.3.2.1 Aplicações Comerciais Automáticas

Uma das aplicações automáticas usadas é o *Brain Analysis Software (BRASS, Hermes Medical Solutions, Stockholm, Sweden)* que quantifica automaticamente a captação do RF ao nível dos corpos estriados e nas sub-regiões; ajusta os dados do paciente num *template* que contém um conjunto de VOI pré-definidas. Esta aplicação calcula as contagens médias das VOI e os rácios de todo o corpo estriado, putâmen e núcleo caudado, em relação ao occipital^(6,8,10).

Outra aplicação utilizada é o *EXINI DAT* que utiliza os cortes transaxiais já reconstruídos e/ou com correção da atenuação realizada na estação de processamento do serviço de MN, e posteriormente transferidas para o computador em formato DICOM. O modo de visualização das imagens pode ser em modo *cine*, em cortes de imagens ou através de um display em 3D; as imagens são normalizadas para que o fundo tenha sempre a mesma cor e assim as diferenças ao nível da captação dos corpos estriados podem ser facilmente visualizadas. Esta aplicação realiza uma análise quantitativa totalmente automática de imagens DaTSCAN™ e fornece os valores específicos de captação em relação ao corpo estriado, putâmen e núcleo caudado, através de VOI; e os limites normais podem ser facilmente inseridos nas configurações pelo usuário. A aplicação possui um fator de correção que pode ser usado para corrigir o efeito de volume parcial. Este método foi desenvolvido sem a necessidade de informação anatômica (Figura 12)^(63,64).

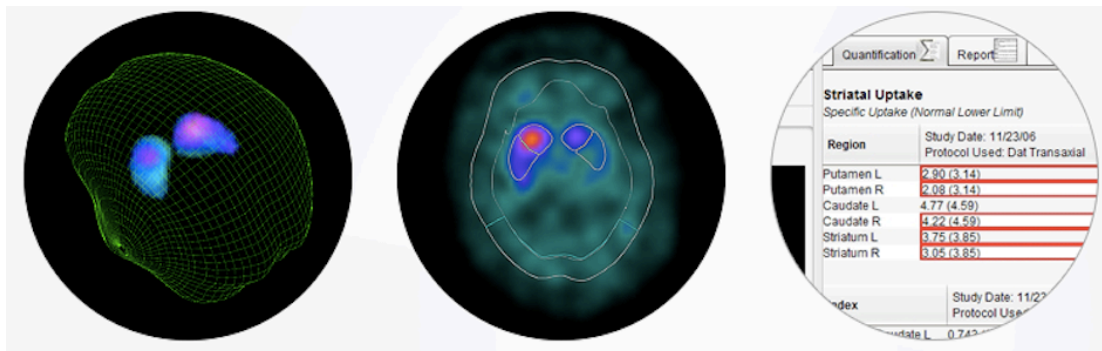


Figura 12: Aplicação EXINI⁽⁶³⁾

A aplicação *DaTQUANT* (*GE Healthcare*) é uma aplicação neurológica avançada oferecida como opção na estação de processamento *Xeleris™*. Esta aplicação pode quantificar a captação regional do DaTSCAN™ através de um processamento totalmente automático e fornece informações adicionais que podem não ser reveladas somente pela análise visual das imagens (Figura 13). A *DaTQUANT* utiliza VOI modelo pré-definidas que são posicionadas automaticamente nos corpos estriados, núcleo caudado e putâmen; tem opção de ajuste manual caso necessário, no entanto, num estudo realizado com mais de 200 estudos DaTSCAN™, não foi necessária qualquer intervenção manual da parte do operador para o posicionamento das VOI. São calculados rácios de captação específica, incluindo rácios putâmen-núcleo caudado e os seus valores são comparados com uma base de dados controlo já inserida na aplicação; os operadores têm também a capacidade de criar a sua própria base de dados controlo específica para o serviço de MN em causa⁽⁶⁵⁾.

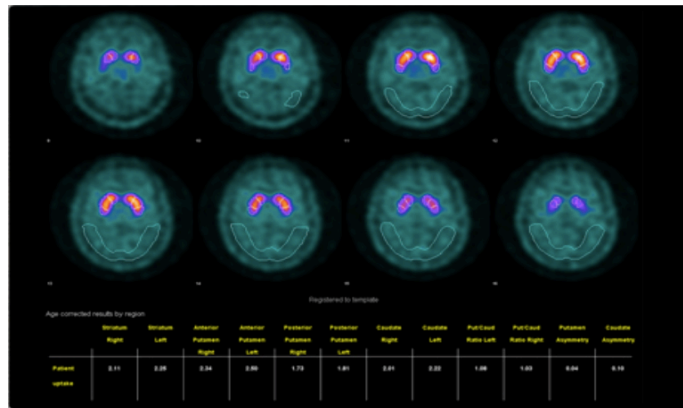


Figura 13: DaTQUANT (65)

4.3.3 Métodos de Quantificação baseados em análise estatística por vóxeis

Estes métodos de quantificação usam procedimentos automáticos para manipular os dados e aplicar modelos estatísticos com o objetivo de encontrar a probabilidade dos vóxeis de interesse terem valores que se encontrem num intervalo predefinido ou acima de um limiar predefinido. Geralmente utilizam *templates* predefinidos para registar os dados individuais dos pacientes⁽⁶⁾.

Um dos métodos é o mapeamento paramétrico estatístico (*Statistical Parametric Mapping: SPM*). É uma aplicação que permite a comparação estatística voxel a voxel dos vários conjuntos de imagens, permitindo a comparação entre pacientes com teste positivo e pacientes com teste negativo⁽⁶⁾. Esta aplicação foi projetada para a análise de sequências de imagens cerebrais que inclui RMN, PET, SPECT, entre outros⁽⁶⁶⁾. O SPM oferece várias técnicas não-interativas que incluem: a normalização espacial de imagens cerebrais num espaço estereotáxico *standard* para facilitar a precisão anatómica da análise baseada em voxel; a proteção contra falsos positivos na inferência estatística; e a avaliação de dados numa melhor resolução espacial do que a usada em análises com ROI⁽⁴⁰⁾.

A *NEUROSTAT* é uma aplicação de padronização anatómica que funciona tendo por base a comparação pixel a pixel e foi desenvolvida para a interpretação objetiva de imagens cerebrais funcionais. *Takada et al*⁽⁶⁷⁾ utilizaram o *NEUROSTAT* para estimar fácil e objetivamente a captação do RF ao nível dos corpos estriados num grupo de pacientes com DP e num grupo de pacientes com Tremor Essencial ao calcular rácios de captação específica por dois métodos: *VOIClassic*, ou seja a aplicação que calcula automaticamente as contagens em regiões anatómicas cerebrais definidas utilizando a padronização anatómica estereotáxica incluída no *NEUROSTAT*; e o posicionamento manual de ROI após fusão da imagem com RMN⁽⁶⁾.

1. Metodologia

Tal como descrito anteriormente, os objetivos específicos deste Trabalho Final de Mestrado são:

- Desenvolver algoritmos que permitam segmentar e extrair parâmetros dos corpos estriados, de forma automática e semi-automática;
- Analisar os rácios de captação específica, de pacientes com teste negativo (sem degeneração dopaminérgica detetada no exame) e com teste positivo (com degeneração dopaminérgica detetada no exame), obtidos com as aplicações automática e semi-automática desenvolvidas e ainda com a aplicação *DaTSCAN V4* disponível na estação de trabalho *Xeleris*, versão 3 (*GE Healthcare*)
- Comparar os rácios de captação específica entre a aplicação automática e a aplicação *DaTSCAN V4*;
- Comparar os rácios de captação específica entre a aplicação semi-automática e a aplicação *DaTSCAN V4*;
- Comparar os rácios de captação específica entre as aplicações automática e semi-automática.

Neste capítulo encontram-se definidas todas as fases consideradas para a concretização deste Trabalho Final de Mestrado.

1.1 Seleção da Amostra

Foi selecionada uma amostra de forma retrospectiva relativa aos anos de 2014, 2015, 2016 e 2017, composta por 68 pacientes com indicação clínica para realização de Cintigrafia Cerebral com *DaTSCAN™* no Instituto NuclearMed do HPA. Os 68 estudos foram divididos em três grupos por uma técnica de amostragem não probabilística por conveniência, de acordo com o diagnóstico atestado no relatório clínico dos pacientes: (1) Grupo I (GI) de n=32, com pacientes controlo com teste negativo que apresentavam padrão de captação normal nos corpos estriados, grupo este usado para criação de valores de referência controlo; (2) Grupo IIP (GIIP) de n=26, de pacientes com teste positivo que apresentavam padrão de captação compatível com SP; (3) Grupo IIS (GIIS) de n=10, com pacientes com teste negativo de padrão de captação normal; ambos os grupos IIP e IIS foram usados para analisar os rácios de captação específica de pacientes com teste negativo e positivo (Tabela 1).

As imagens transaxiais de cada paciente utilizadas neste estudo foram obtidas pós-aquisição SPECT com [¹²³I]FP-CIT e respetiva reconstrução tomográfica, de acordo com o protocolo interno da NuclearMed do HPA (baseado nas orientações das *guidelines* da Associação Europeia de MN: EANM), sendo a classificação dos pacientes (com teste negativo ou teste positivo) baseada no diagnóstico clínico assente nos respetivos relatórios clínicos.

Tabela 1: Amostra

	Pacientes com Teste Negativo (GI e GIIS)		Pacientes com Teste Positivo (GIIP)	
	n	Idade (Anos, Média ± Desvio Padrão)	n	Idade (Anos, Média ± Desvio Padrão)
Sexo Feminino	26	67,4 ± 9,4	13	69,4 ± 10,2
Sexo Masculino	16	66,4 ± 14,8	13	70,8 ± 6,9
Total	42	67,0 ± 11,6	26	70,1 ± 8,5

1.2 Protocolo de Aquisição e Processamento

Todos os pacientes que integravam a amostra efetuaram o bloqueio da glândula tiroideia 30 minutos antes da administração do RF, através da administração oral de 10 gotas de soluto de lugol (equivalente a 100 mg de iodeto). Foi ainda requerida a suspensão da terapêutica em curso com potencial influência na captação do RF, pelo período de tempo considerado nas orientações europeias⁽⁶⁾.

Para a realização dos exames, os pacientes foram posicionados em decúbito dorsal com a cabeça devidamente posicionada e imobilizada por suporte adequado, cerca de 2 a 4 horas após a administração endovenosa lenta de 185 MBq de [¹²³I]FP-CIT (DaTSCANTM), numa CG de dois detetores, modelo *GE Infinia Gamma Camera*, da *GE Healthcare*TM.

Os estudos SPECT foram adquiridos com colimadores LEHR. O pico de energia foi centrado em 159 KeV, com janela de energia ±10%. A matriz utilizada foi de 128x128 píxeis com um zoom de 1,2. Foram realizadas aquisições SPECT de 360°, em modo *step and shoot* com órbita circular. O intervalo angular entre cada projeção foi de 3°, totalizando 120 projeções por estudo e o tempo de aquisição foi 35 segundos/projeção. O raio de rotação variou entre 15 e 16 cm, dependendo das características morfológicas dos pacientes.

Para o processamento das imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT, foi utilizada a estação de processamento *Xeleris*TM versão 3, *GE Healthcare*TM, disponível no Serviço de MN do HPA. A reconstrução do *Raw-Data* foi feita através da ferramenta *Brain SPECT*TM,

recorrendo ao algoritmo analítico FBP com janela de apodização Rampa e pré-filtro *Butterworth*, frequência de corte $0,6 \text{ cm}^{-1}$ e ordem 10, com correção para a atenuação pelo método de *Chang* (coeficiente de $0,11 \text{ cm}^{-1}$). As imagens foram posteriormente exportadas em formato DICOM.

1.3 Fases do Projeto: Aplicações Automática e Semi-automática

A construção das aplicações automática e semi-automática para análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por $[^{123}\text{I}]$ FP-CIT SPECT, foi implementada em linguagem de programação *Python*® (versão 3.6.1) com recurso a *toolbox* específicas para processamento de imagem e cálculo matemático.

As soluções computacionais desenvolvidas seguiram as etapas referidas na Figura 14.

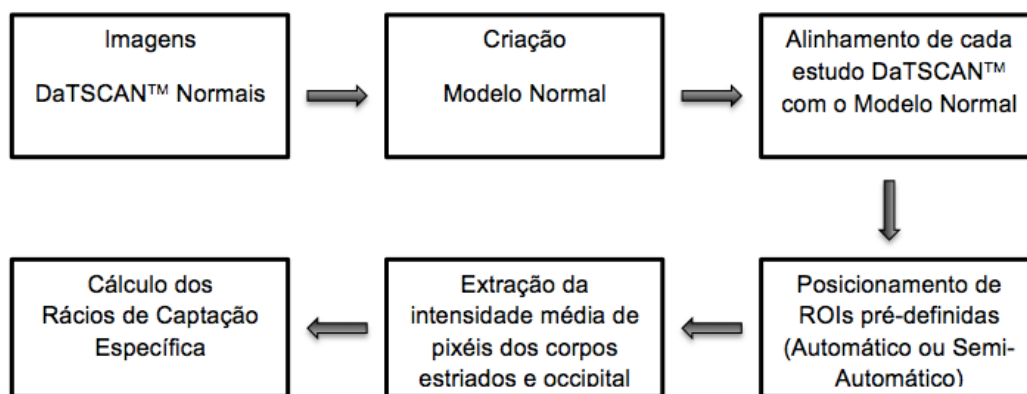


Figura 14: Diagrama de blocos das etapas para construção das aplicações automática e semi-automática.

1) Criação de um modelo normal para os corpos estriados obtidos a partir de imagens $[^{123}\text{I}]$ FP-CIT SPECT

Para construir a imagem modelo normal a ser usada como referência, foram selecionados todos os estudos com teste negativo (42 pacientes, do GI e GIIS), três cortes transaxiais de cada paciente, em formato DICOM com as imagens já reconstruídas.

Inicialmente, procedeu-se ao alinhamento de toda a região cerebral de cada estudo com teste negativo. De forma a selecionar apenas a região cerebral de cada corte, foi realizado o processo de segmentação por binarização, às imagens em escala de cinzentos (imagem monocromática) (Figura 15A), utilizando um limiar global de valor baixo ($T=1$), onde apenas os pixels com intensidade superior ao limiar escolhido são considerados pertencentes à região cerebral (ver Equação 1), sendo o resultado final uma imagem binária de cada corte (Figura 15B).

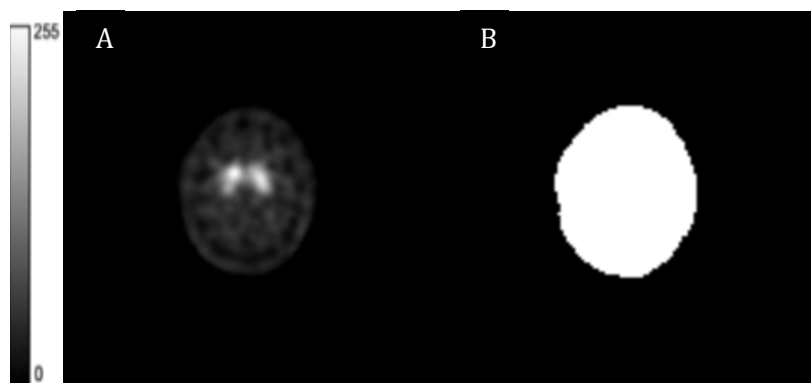


Figura 15: (A) Imagem monocromática de um corte transaxial; (B) Imagem binária da região cerebral

A partir da técnica de segmentação, foi possível alinhar todos os cortes tendo por base a região cerebral segmentada. Todos os cortes alinhados foram depois normalizados para a mesma escala de intensidade, tendo sido obtida uma imagem média normal com base em todos os estudos de pacientes com teste negativo selecionados (Figura 16).

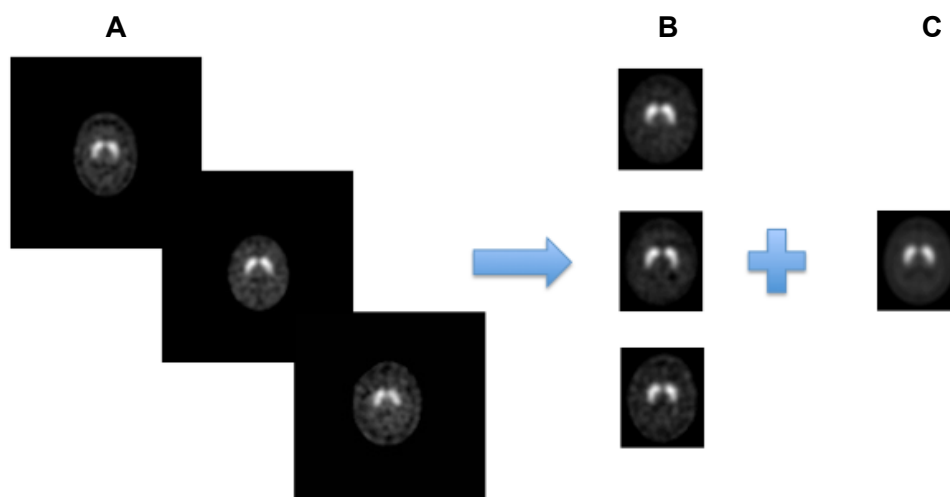


Figura 16: Etapas de criação do modelo de referência normal tendo por base a região cerebral. (A) Três cortes transaxiais de diferentes pacientes; (B) A partir da técnica de binarização foi selecionada apenas a região cerebral de cada corte. (C) Depois de alinhar todos os cortes, e normalizar a intensidade, foi obtido o modelo de referência normal.

No entanto, apesar de todos os cortes serem alinhados apenas selecionando a região cerebral de cada um, verificou-se que os corpos estriados não apresentavam todos a mesma posição na região cerebral, o que resultou num efeito de “espalhamento” ao nível dos corpos estriados do modelo normal.

Para superar esta limitação, foi criado um modelo normal tendo por base o centróide de cada corpo estriado (esquerdo e direito) em cada corte transaxial, para todos os pacientes com teste negativo. Neste caso, para a segmentação por binarização dos corpos

estriados foi usado um limiar global de 115, valor escolhido por ajuste manual. Ao segmentar os corpos estriados, em alguns cortes transaxiais, os mesmos não se apresentavam como duas estruturas (regiões) independentes; para tal foi necessário aplicar à imagem binária dos corpos estriados sucessivas erosões (operação morfológica), até serem detectados os dois corpos estriados de forma independente (Figura 17).

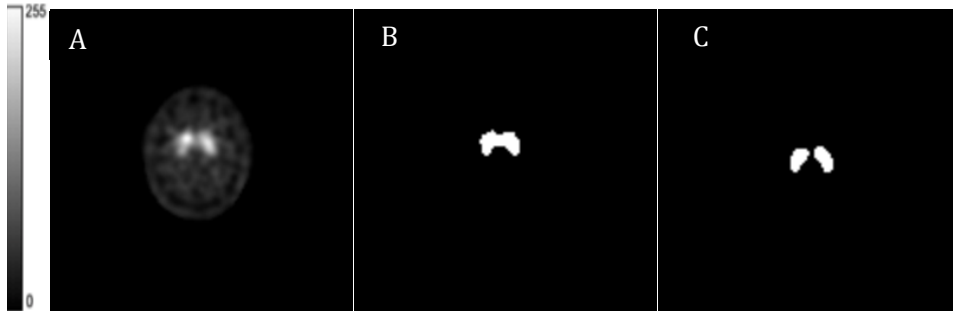


Figura 17: (A) Imagem monocromática de um corte transaxial; (B) Imagem binária dos corpos estriados, identificados como uma única estrutura; (C) Imagem binária dos corpos estriados, identificados como estruturas independentes.

Foi assim possível isolar apenas os corpos estriados esquerdo e direito de cada corte, e a partir dos seus contornos foram calculados os momentos de cada um (Equação 5), seguido do cálculo dos seus centróides (Equação 6).

$$M_{ij} = \sum_x \sum_y x^i y^j I(x, y) \quad (5)$$

$$\{\bar{x}, \bar{y}\} = \left\{ \frac{M_{10}}{M_{00}}, \frac{M_{01}}{M_{00}} \right\} \quad (6)$$

Após o cálculo dos centróides dos corpos estriados esquerdo e direito para cada corte transaxial, todos os cortes foram alinhados tendo por base esses centróides. Por último todos os cortes alinhados foram normalizados para a mesma escala de intensidade, tendo sido obtida uma imagem média normal com base em todos os estudos de pacientes com teste negativo selecionados, tendo sido escolhida como imagem modelo (Figura 18).

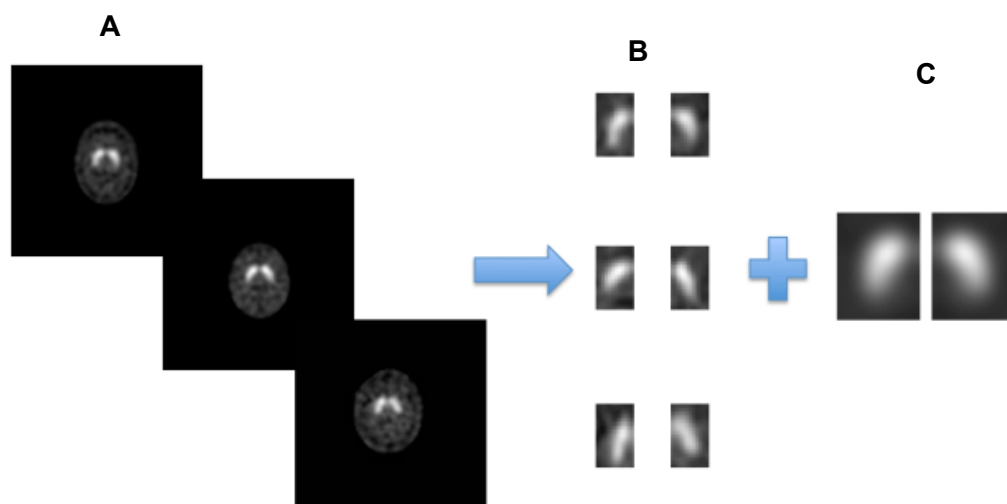


Figura 18: Etapas de criação do modelo de referência normal tendo por base os centróides dos corpos estriados. (A) Três cortes transaxiais de diferentes pacientes; (B) A partir da técnica de binarização foi selecionada apenas a região dos corpos estriados. (C) Depois de alinhar todos os cortes, e normalizar a intensidade, foi obtido o modelo de referência normal para os corpos estriados esquerdo e direito.

Na imagem modelo (Figura 18C) foram definidas ROI nos corpos estriados tendo em conta os contornos dos mesmos (Figura 19).

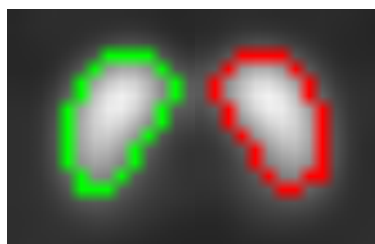


Figura 19: Modelo de referência normal para imagens ^{123}I FP-CIT SPECT, com as ROI referentes aos corpos estriados esquerdo (vermelho) e direito (verde).

2) Alinhamento de cada imagem ^{123}I FP-CIT SPECT com o modelo normal, com o posicionamento de ROI pré-definidas nos corpos estriados de cada imagem

O alinhamento de cada estudo DaTSCANTM com o modelo normal dos corpos estriados e conseqüente posicionamento de ROI pré-definidas, foi realizado por dois métodos distintos: (1) Método automático; (2) Método semi-automático.

Em ambos os métodos, foi necessário segmentar a região dos corpos estriados para cada corte de cada estudo DaTSCANTM. Uma vez que nesta fase são selecionados todos os pacientes (com teste positivo e negativo) não foi possível encontrar, por tentativa e erro, um valor para o limiar global de binarização que conseguisse segmentar os corpos estriados de todos os pacientes. Nesta fase foram testados outros algoritmos de segmentação, como o algoritmo de *Watershed* e a técnica de binarização com a seleção do limiar global de forma adaptativa para cada estudo.

Com o algoritmo de *Watershed* não foi possível obter resultados satisfatórios para a segmentação dos corpos estriados, inerente à baixa resolução das imagens em estudo (Figura 20).

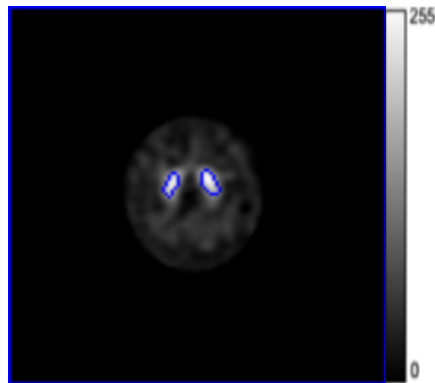


Figura 20: Segmentação dos corpos estriados pelo algoritmo de *Watershed*

Tendo em conta que o algoritmo de *Watershed* não produziu resultados favoráveis, a segmentação dos corpos estriados foi realizada através da segmentação por binarização de forma adaptativa. O valor do limiar foi ajustado automaticamente de acordo com a intensidade máxima da imagem e a intensidade máxima da região occipital (região de fundo). Uma vez que a intensidade da região de fundo é inferior à intensidade máxima da imagem, o valor de limiar é sempre um valor superior à intensidade da região do occipital e inferior à intensidade máxima da imagem. A escolha do limiar segue as seguintes etapas descritas na Figura 21.

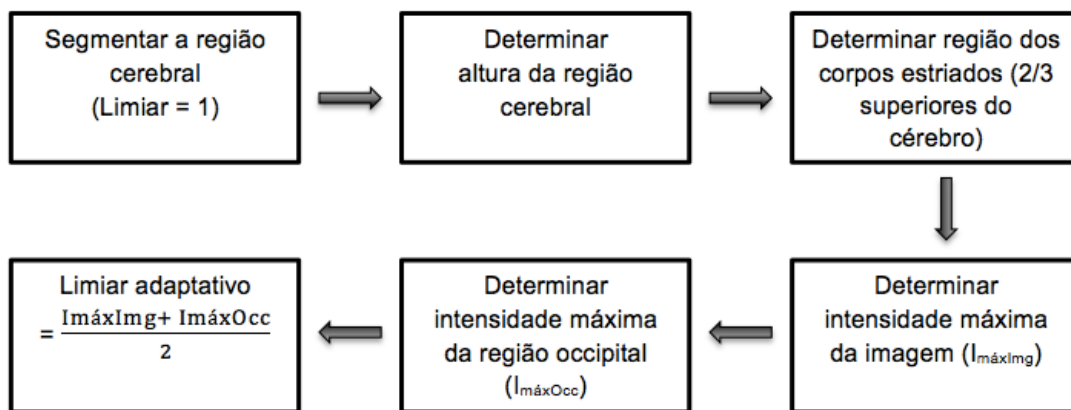


Figura 21: Diagrama de blocos com as etapas de determinação do valor do limiar para a segmentação dos corpos estriados

Após a segmentação dos corpos estriados de cada corte transaxial, as ROI pré-definidas no modelo de referência foram alinhadas nos respectivos corpos estriados do paciente, de forma automática ou semi-automática.

No método automático, as ROI pré-definidas no modelo normal foram automaticamente alinhadas nos respectivos corpos estriados de cada estudo DaTSCAN™, tendo por base os centróides calculados para os corpos estriados de cada um dos estudos DaTSCAN™ (Figura 22). Por este método não houve qualquer interferência por parte do operador, sendo um método automático.

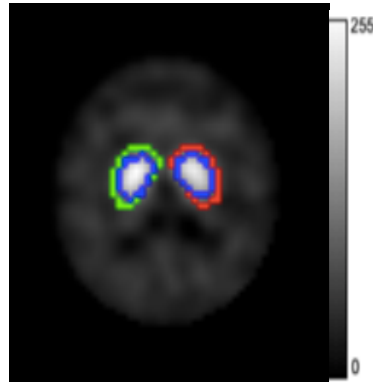


Figura 22: Colocação automática das ROI pré-definidas pelo modelo normal (vermelho e verde) tendo em conta o centróide de cada corpo estriado do paciente (azul).

No método semi-automático, primeiro as ROI pré-definidas foram automaticamente alinhadas com cada estudo DaTSCAN™ pelo mesmo método descrito no procedimento anterior. A diferença reside no facto de existir um ajuste manual por parte de um operador, caso a colocação das ROI não seja adequada. O processamento das imagens utilizando o método semi-automático foi feito por três operadores especialistas em MN (Decreto-Lei nº206 de 2009), em que cada estudo foi processado três vezes consecutivas sem acesso a qualquer informação sobre os pacientes ou sobre o resultado de processamento dos outros operadores.

A região de referência (região do occipital) foi definida automaticamente pela aplicação, para extração da intensidade média de pixéis nessa região, considerada como região de fundo. Para tal, a região cerebral foi segmentada por um método de binarização de limiar global de valor 1, para cada estudo DaTSCAN™, e foi dividida em três partes, tendo sido usada a parte inferior da região cerebral como região de fundo (Figura 23). O método para a extração da intensidade média de pixéis nesta região cerebral foi igual para os dois métodos de alinhamento (automático e semi-automático).

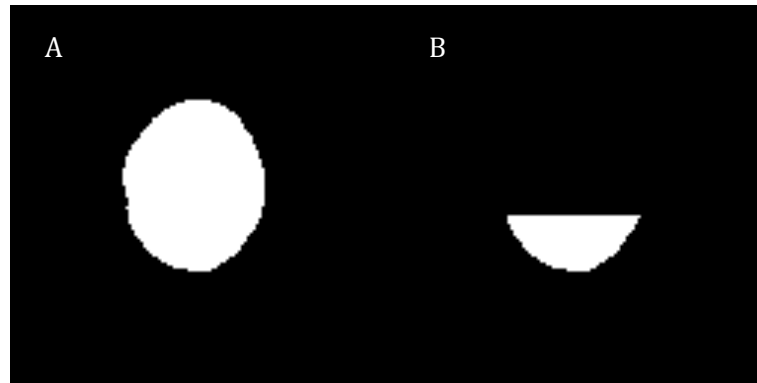


Figura 23: (A) Segmentação da região cerebral; (B) Região de fundo.

Este método automático para o cálculo da intensidade média de pixels da região de fundo não resultou em alguns pacientes (provavelmente devido a artefactos das imagens transaxiais), o que não permitiu segmentar a região cerebral com um limiar global de 1 (Figura 24). Nestes casos, a determinação da intensidade média da região de fundo foi obtida usando valores de limiar superiores a 1, por tentativa e erro, até conseguir segmentar apenas a região cerebral do paciente.

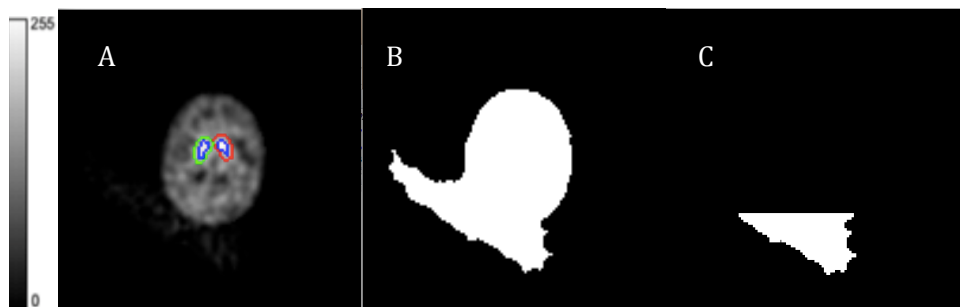


Figura 24: Erro ocorrido na determinação da região de fundo em alguns pacientes (A) Imagem com artefactos; (B) Segmentação incorreta da região cerebral; (C) Região de fundo resultante.

3) Cálculo dos rácios de captação específica para os corpos estriados

Nesta etapa foram calculados os rácios de captação específica para os corpos estriados, tendo por base as intensidades médias dos pixels de cada ROI (corpos estriados esquerdo e direito) e da região do occipital, utilizando os dois métodos de alinhamento (automático e semi-automático).

Os rácios de captação foram calculados segundo a Tabela 2, na qual CESQ, CDRT e OCC, correspondem às intensidades médias dos pixels do corpo estriado esquerdo, do corpo estriado direito e região de fundo, respetivamente.

Tabela 2: Fórmulas para determinar os raios de captação para quantificação de estudos SPECT com [¹²³I]FP-CIT

Rádios de Captação	Fórmulas	Código
Corpos Estriados / Occipital	$\frac{((\text{CESQ} - \text{OCC}) + (\text{CDRT} - \text{OCC}))/2}{\text{OCC}}$	A
Corpo Estriado Esquerdo / Occipital	$\frac{\text{CESQ} - \text{OCC}}{\text{OCC}}$	B
Corpo Estriado Direito / Occipital	$\frac{\text{CDRT} - \text{OCC}}{\text{OCC}}$	C
Corpo Estriado Esquerdo / Corpo Estriado Direito	$\frac{\text{CESQ} - \text{OCC}}{\text{CDRT} - \text{OCC}}$	D

1.4 Fases do Projeto: Aplicação comercialmente disponível (DaTSCAN V4)

Todos os estudos, em formato DICOM com as imagens já reconstruídas, foram processadas também recorrendo à aplicação *DaTSCAN V4*, disponível na estação de processamento XelerisTM (*GE Healthcare*) do serviço de MN do HPA. Esta aplicação é considerada de metodologia semi-automática e recorrentemente utilizada na prática clínica.

O processamento das imagens utilizando a aplicação *DaTSCAN V4* foi feito por dois operadores especialistas em MN (Decreto-Lei nº206 de 2009), em que cada estudo foi processado três vezes consecutivas sem acesso a qualquer informação sobre os pacientes ou sobre o resultado de processamento dos outros operadores tal que, foi selecionada em cada estudo o corte transaxial onde se aplicaram ROI semi-automáticas pré-definidas de acordo com uma imagem padrão, em cada uma das estruturas dos corpos estriados esquerdo e direito, no núcleo caudado e putâmen e no occipital, como ROI de fundo (Figura 25).

De forma automática, a aplicação seleciona o corte transaxial anterior e posterior ao selecionado pelo operador, de forma a serem calculadas as intensidades médias em cada ROI para três cortes transaxiais. Os valores apresentados para cada estrutura apresentam-se como uma média dos três cortes transaxiais. De salientar que as ROI pré-definidas são colocadas automaticamente no corte selecionado sempre na mesma posição da matriz da imagem, não tendo em conta os objetos em estudo. As ROI pré-definidas foram sempre ajustadas a cada estudo pelo operador. Posteriormente, foram calculados os raios de captação segundo a Tabela 2.

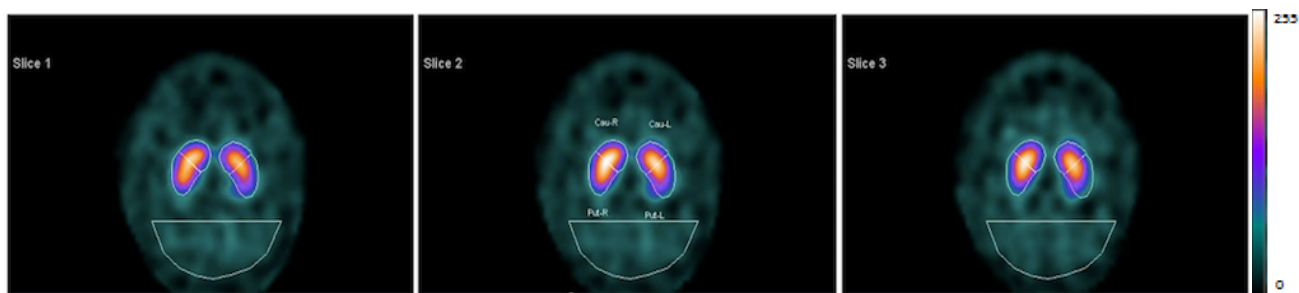


Figura 25: Colocação semi-automática das ROI ao nível dos corpos estriados esquerdo e direito (com a separação em núcleo caudado e putâmen) e da ROI de fundo (região do occipital), a partir da aplicação *DaTSCAN V4*.

1.5 Análise Estatística dos dados

Para a análise estatística dos dados da amostra recolhidos utilizou-se o programa *Statistical Package for Social Sciences®* (SPSS), versão 22.

Os valores dos três ensaios de cada operador foram expressos em média, sendo calculada também a média resultante dos três operadores, para a aplicação semi-automática e a aplicação *DaTSCAN V4*. Os mesmos 68 estudos *DaTSCAN™* foram também processados a partir da aplicação desenvolvida mas de forma automática, sem a interferência de um operador.

Foi testada a normalidade da distribuição das variáveis usando o teste de *Shapiro-Wilk*. As estatísticas descritivas foram usadas para caracterizar a amostra e a distribuição das variáveis. Em todos os testes estatísticos usou-se para o nível de significância o valor de $p < 0,05$ para um intervalo de confiança de 95%.

Para analisar a influência do género e da idade no cálculo dos rácios de captação específica foram obtidos gráficos de dispersão dos dados em função da idade, com correspondente linha de regressão linear para o género feminino e masculino. Para a inferência estatística, foram usados testes distintos para a influência do género e da idade, uma vez que apenas foi verificado o pressuposto da normalidade para o género; assim para o género foi usado o teste paramétrico de *t-student* para amostras independentes, e para a idade o teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*.

Para as aplicações automática e semi-automática e para a aplicação *DaTSCAN V4*, foram criados valores de referência (VR) controlo média \pm desvio padrão ($\bar{x} \pm \delta$), a partir dos valores obtidos para os rácios de captação do GI. Para analisar os valores obtidos dos rácios de captação, criaram-se cartas de controlo a partir das quais foi analisada a distribuição dos valores dos rácios A-D do GIIS e do GIIP em torno dos valores de referência. De salientar que as cartas de controlo não foram analisadas pelo método padrão, ao invés foram analisados como teste negativo todos os valores em que os rácios de captação A-C fossem superiores ao limite inferior do desvio padrão do valor de referência

correspondente e sempre que no rácio de captação D, que mede a simetria, esta se verificasse, ou seja sempre que se encontrasse no limite ($\bar{x} \pm \delta$). Esta análise foi assim realizada considerando o que seria útil como assistência clínica ao diagnóstico e de forma a aumentar o rigor dos valores de referência estabelecidos. A partir das cartas de controlo, de forma a averiguar a área abaixo da curva (*Area Under the Curve* – AUC), a sensibilidade e a especificidade de cada método, foram geradas curvas ROC (do acrónimo do inglês *Receiver Operating Characteristics*).

Para avaliar a variabilidade intra-operador na aplicação semi-automática e na aplicação *DaTSCAN* V4, recorreu-se ao teste estatístico não paramétrico de *Friedman* visto tratarem-se de amostras emparelhadas e de não serem cumpridos os pressupostos de normalidade para as amostras a serem utilizadas nesta avaliação. Por outro lado, tendo em conta que as amostras usadas para avaliar a variabilidade interoperador cumpriram os pressupostos de normalidade, esta foi avaliada pelo teste *Repeated-Measures ANOVA*.

Para as comparações realizadas entre as duas aplicações desenvolvidas (automática e semi-automática) e a aplicação *DaTSCAN* V4 foram usados testes paramétricos *t-student* para amostras emparelhadas e ainda o teste de correlação de *Pearson*.

1. Resultados e Discussão

1.1 Analisar os rácios de captação

Neste primeiro ponto foram analisados os rácios de captação específica, a partir dos estudos de pacientes com teste positivo e negativo, obtidos com as aplicações automática e semi-automática desenvolvidas e com a aplicação *DaTSCAN V4*.

Primeiramente, foi analisada a influência do género e da idade nos rácios de captação, relativamente aos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), através de gráficos de dispersão e correspondente linha de regressão linear. Esta influência foi analisada para ambas as aplicações desenvolvidas (automática e semi-automática) e também para a aplicação *DaTSCAN V4*. Uma vez que tanto as aplicações desenvolvidas como a aplicação *DaTSCAN V4* demonstraram a mesma tendência no que respeita a influência do género e da idade nos rácios de captação, apenas foram representados os gráficos de dispersão obtidos para a aplicação automática (Figuras 26-29).

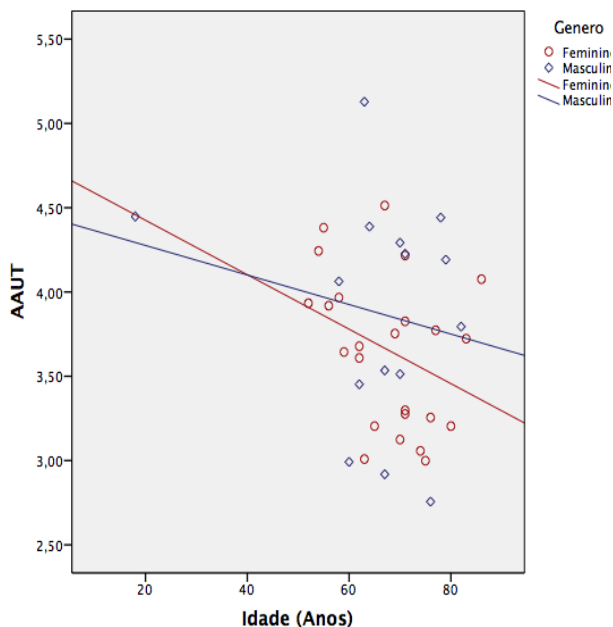


Figura 26: Gráfico dispersão para o rácio A por idade e por género.

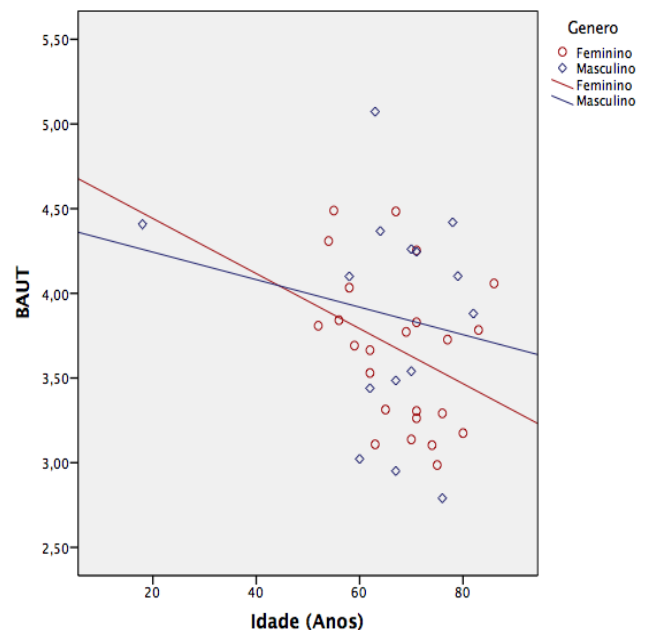


Figura 27: Gráfico dispersão para o rácio B por idade e por género.

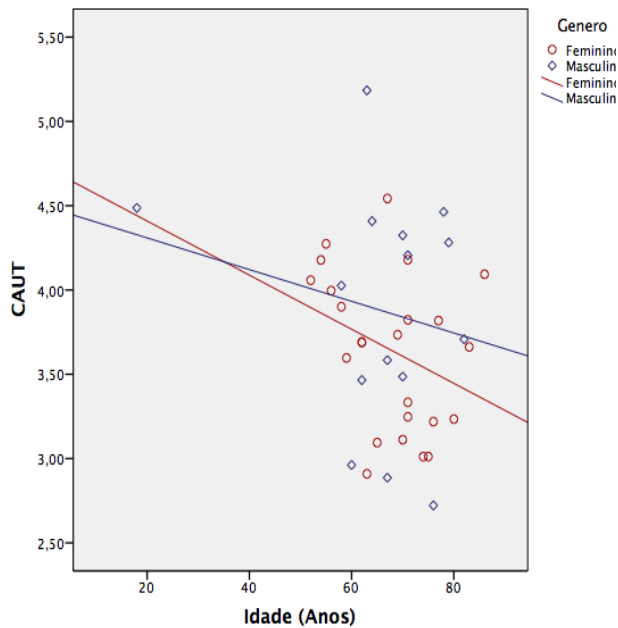


Figura 28: Gráfico dispersão para o rácio C por idade e por género.

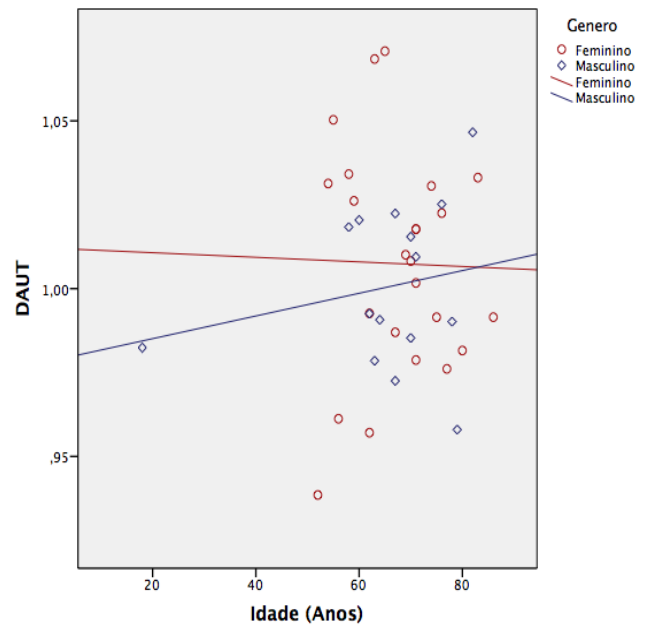


Figura 29: Gráfico dispersão para o rácio D por idade e por género.

Pela análise das Figuras 26-29 podemos observar que, nesta amostra, os rácios de captação A-D foram superiores para as mulheres em comparação com os homens em idades mais jovens sendo que, por análise visual dos gráficos obtidos, esta diferença entre mulheres e homens torna-se contrária para idades mais elevadas. Parte destes resultados encontram-se em concordância com a literatura, uma vez que as mulheres apresentam valores superiores de captação que os homens e que esta diferença tende a diminuir com o avanço da idade, apesar de as causas não serem claras^(7,56); no entanto, a troca de tendência não é observada na literatura. Relativamente à influência da idade, é possível observar que existe uma tendência para a diminuição dos valores dos rácios de captação A-C com o aumento da idade (Figuras 26-28), tal como comprovado por diversos autores^(5,6). A Figura 29 relativa ao rácio D da simetria esquerda-direita demonstra que existe um efeito com a idade, ocorrendo um ligeiro aumento da assimetria com o aumento da idade.

Para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas entre o género, e tendo em conta a normalidade estatística da amostra, foi usado o teste *t-student* para amostras independentes, tendo sido obtidos os valores de *p* observados na Tabela 3. Pela análise dos dados obtidos, foi possível concluir que nas aplicações automática e semi-automática desenvolvidas não existem diferenças estatisticamente significativas entre o género feminino e masculino no cálculo dos rácios de captação A-D; enquanto que na aplicação *DaTSCAN V4* foi possível observar que nos rácios A-C existem diferenças estatisticamente significativas entre os géneros, algo que não foi observado no rácio D.

Tabela 3: Valor de p obtido pelo teste paramétrico *t-student* para amostras independentes, para inferência estatística sobre a influência do género no cálculo dos rácios de captação, para ambas as aplicações desenvolvidas e para a aplicação *DaTSCAN V4*

Rátios de Captação	Aplicação Automática	Aplicação Semi-Automática	Aplicação <i>DaTSCAN V4</i>
A	0,210	0,305	0,025
B	0,331	0,337	0,040
C	0,241	0,294	0,017
D	0,304	0,746	0,778

No caso da análise da influência da idade, os vários pacientes com teste negativo foram distribuídos por classes, e uma vez que não foi verificada a normalidade estatística da amostra, foi usado o teste *Kruskal-Wallis*. Pela observação da Tabela 4, foi possível concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre as várias classes de idades no cálculo dos rácios de captação A-D, em ambas as aplicações desenvolvidas e na aplicação *DaTSCAN V4*.

Tabela 4: Valor de p obtido pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis*, para inferência estatística sobre a influência da idade no cálculo dos rácios de captação, para ambas as aplicações desenvolvidas e para a aplicação *DaTSCAN V4*

Rátios de Captação	Aplicação Automática	Aplicação Semi-Automática	Aplicação <i>DaTSCAN V4</i>
A	0,296	0,309	0,320
B	0,277	0,372	0,284
C	0,314	0,362	0,319
D	0,845	0,974	0,714

Apesar dos resultados acima descritos (Figuras 26-29), e tendo em conta que apenas a aplicação *DaTSCAN V4* apresentava diferenças estatisticamente significativas para o género nos rácios A-C, optou-se por não separar a amostra pelo género ou pela idade na análise dos resultados seguintes, uma vez que a dimensão da amostra também é reduzida.

Na análise dos resultados seguintes optou-se por separar por tópicos, para analisar os resultados obtidos com as aplicações automática e semi-automática e com a aplicação *DaTSCAN V4* de forma separada.

A. Aplicação Automática

Os valores de referência obtidos a partir do cálculo dos rácios de captação do GI, apresentados sob a forma $(\bar{x} \pm \delta)$, encontram-se na Tabela 5. O rácio de captação A ($3,78 \pm 0,58$) é relativo à ligação específica do RF na totalidade dos corpos estriados; os rácios de captação B ($3,79 \pm 0,57$) e C ($3,77 \pm 0,60$) referem-se à captação específica ao nível dos corpos estriados esquerdo e direito, respetivamente; e o rácio de captação D ($1,01 \pm 0,03$) corresponde ao rácio de simetria esquerda-direita.

Relativamente aos valores de referência, foi possível observar que os rácios B e C são semelhantes uma vez que correspondem à estrutura simétrica homóloga dos corpos estriados; o valor de referência para o rácio A corresponde a um valor médio entre os corpos estriados esquerdo e direito; e o rácio D, sendo um rácio de simetria, e tendo em conta que as estruturas simétricas homólogas apresentam valores semelhantes, este tem o valor de aproximadamente 1.

Tabela 5: Valores de referência $(\bar{x} \pm \delta)$ obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação automática.

Rácios	Valor de Referência $(\bar{x} \pm \delta)$
A	$3,78 \pm 0,58$
B	$3,79 \pm 0,57$
C	$3,77 \pm 0,60$
D	$1,01 \pm 0,03$

As Figuras 30-33 correspondem às cartas de controlo obtidas para analisar a distribuição dos valores dos rácios de captação A-D do GIIS e do GIIP em torno dos valores de referência (VR). Uma vez que o limite $(\bar{x} - \delta)(-1DP)$ de cada valor de referência de cada rácio de captação A-C e o limite $(+1DP)(\bar{x} - \delta)(-1DP)$ do rácio de captação D foram considerados os valores que distinguem um estudo com teste negativo de um estudo com teste positivo, foi possível verificar que cerca de 83% dos pacientes com teste negativo encontram-se dentro dos limites estabelecidos e que 76% dos pacientes com teste positivo encontram-se fora dos limites^(5,19,54).

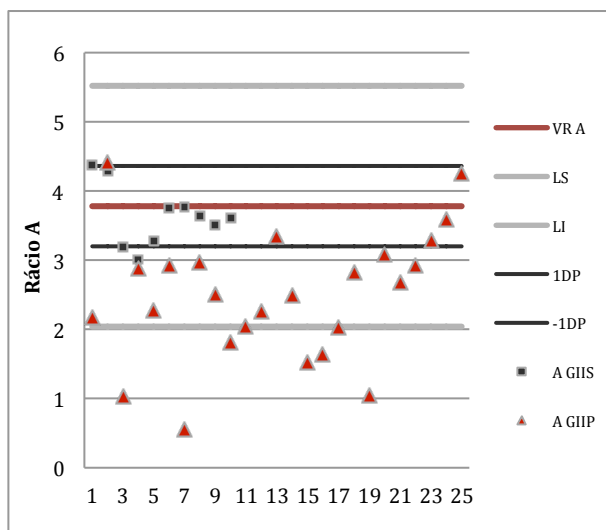


Figura 30: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação automática.

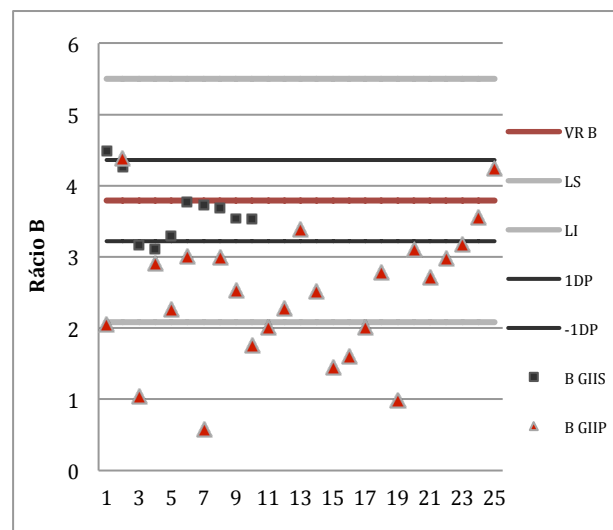


Figura 32: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação automática.

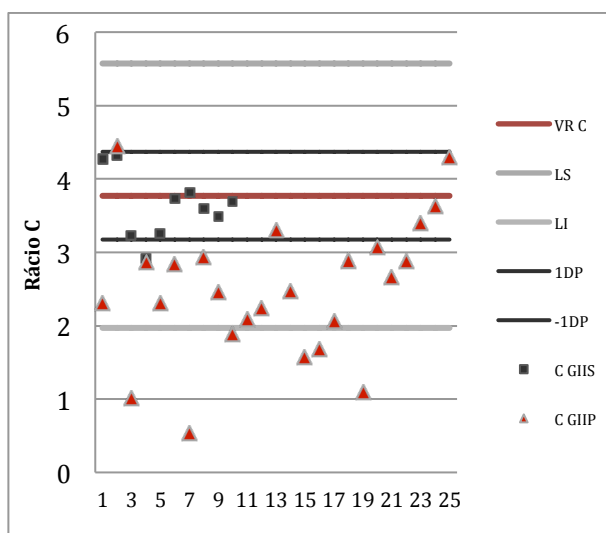


Figura 31: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação automática.

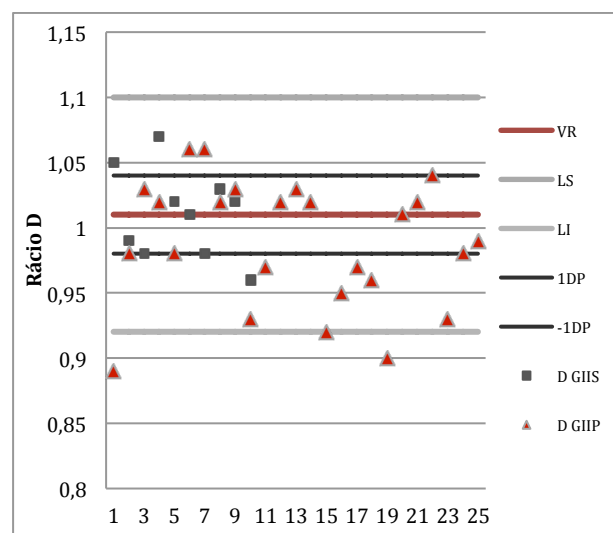


Figura 33: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação automática.

Os resultados das AUC obtidas pelas curvas ROC (Figuras 34-37), de Erro Padrão, de sensibilidade e especificidade dos rácios de captação A-D encontra-se na Figura 38. Genericamente as AUC variam entre 0 e 1. Neste caso, as AUC apresentaram valores compreendidos entre 0,63 (Rácio D) e 0,85 (Rácios A e C) variando o erro padrão entre 0,074 (Rácios A e D) e 0,104 (Rácio D). O rácio de captação específica que apresenta um valor de sensibilidade mais elevado é o rácio de captação B (0,84), sendo que o que apresenta menor valor é o rácio D (0,56). Os rácios A (0,9) e C (0,9) são os que apresentam

maior valor relativamente à especificidade, sendo o rácio D (0,7) o que apresenta menor valor.

Em relação aos valores obtidos para AUC, é possível inferir que os rácios A (0,85), B (0,82) e C (0,85) são considerados uma boa medida de discriminação entre pacientes com teste positivo e pacientes com teste negativo. Assim, através da análise dos dados obtidos pela aplicação automática tendo por base estes três rácios, existe 85% (rácios A e C) e 82% (rácio B) de probabilidade de um estudo com teste positivo apresentar um valor de captação menor que um estudo com teste negativo^(5,19,54). Neste grupo, o rácio A e o rácio C são os que apresentam uma melhor medida uma vez que o rácio A abrange a totalidade da captação específica (corpos estriados esquerdo e direito), e o rácio C apresenta um valor AUC superior que o rácio B pelo mesmo facto da diferença de valores entre os rácios B e C, e pode-se constatar que, nesta amostra, quando surgem alterações ao nível dos corpos estriados, estas ocorrem na sua maioria ao nível do lado esquerdo. Estes três rácios são também dos que podem ser aplicados com valores mais elevados de sensibilidade e especificidade. O rácio D é o que apresenta o menor valor de AUC sendo considerado um mau discriminador; este facto pode dever-se à assimetria referida acima entre os corpos estriados esquerdo e direito, que pode ter causado o enviesamento dos valores referentes ao rácio D.

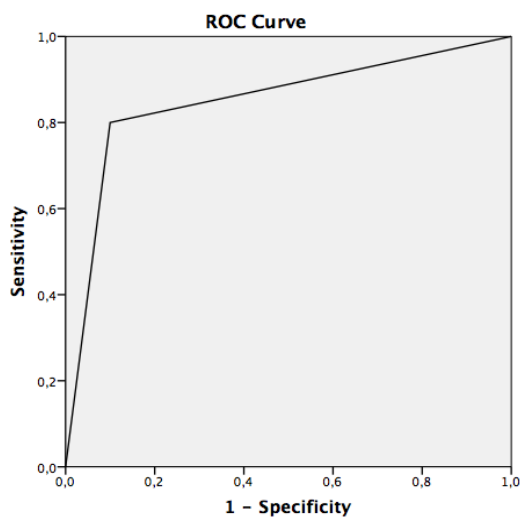


Figura 34: Curva ROC para o rácio A com a aplicação automática

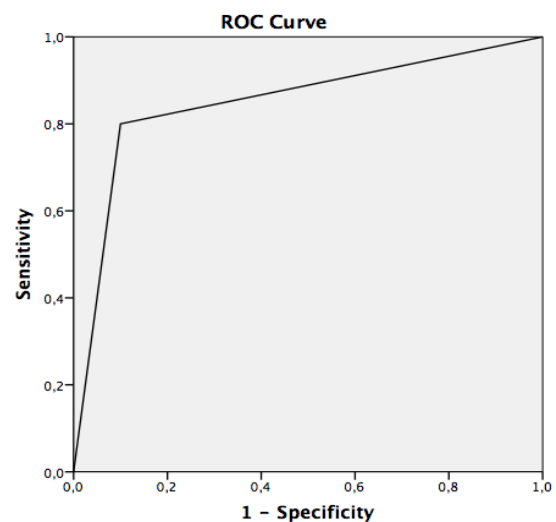


Figura 35: Curva ROC para o rácio C com a aplicação automática

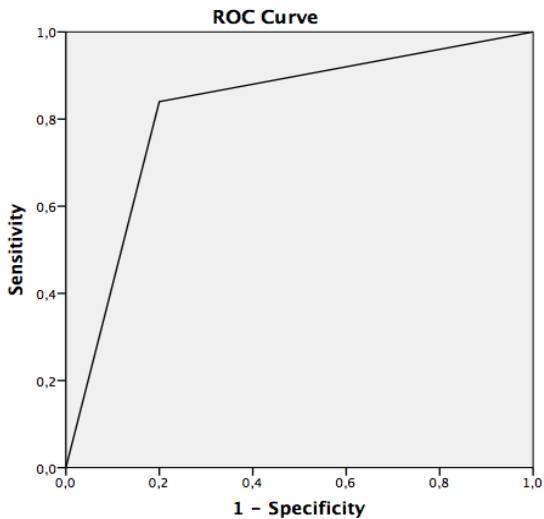


Figura 36: Curva ROC para o rácio B com a aplicação automática

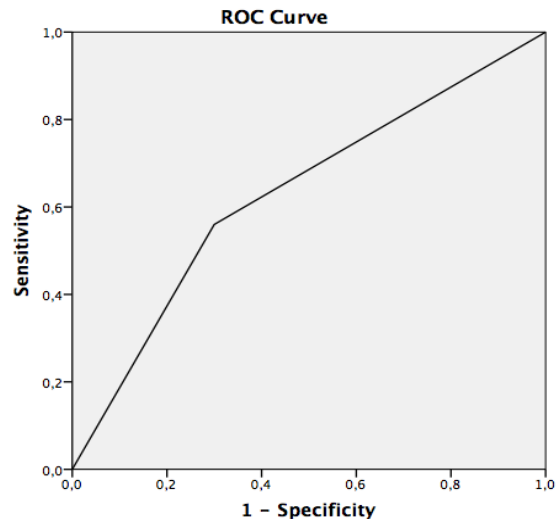


Figura 37: Curva ROC para o rácio D com a aplicação automática

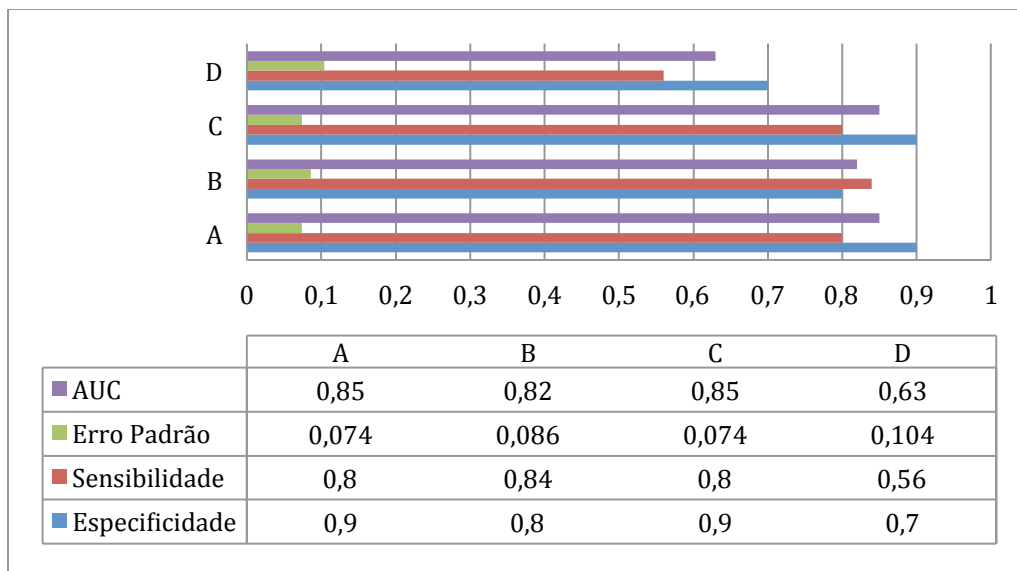


Figura 38: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação automática.

De salientar, que nesta aplicação automática a colocação das ROI tem por base o centróide de cada corpo estriado. No entanto, em pacientes com teste positivo ocorre uma degeneração dos corpos estriados, sendo que a região do putâmen é a primeira estrutura a degenerar⁽²⁰⁾. Este facto faz com que a região do corpo estriado, na totalidade, seja menor e em algumas situações reduzida apenas à região do núcleo caudado. A aplicação, ao reconhecer o corpo estriado reduzido, coloca a ROI tendo em conta o centróide que, por exemplo, sendo apenas a região do núcleo caudado, esta fique colocada a meio da ROI negligenciando a parte correspondente ao putâmen (Figura 39). Por esta razão, podem ter

ocorrido enviesamentos no cálculo dos rácios referentes a alguns dos pacientes com teste positivo.

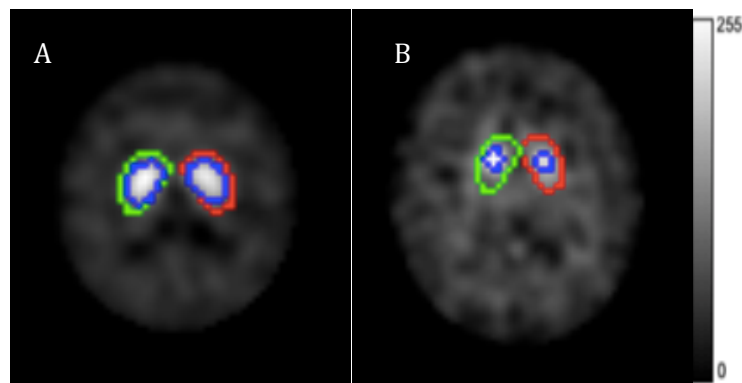


Figura 39: Colocação automática das ROI pré-definidas tendo em conta os centróides dos corpos estriados em (A) Paciente com teste negativo com corpo estriado intacto (núcleo caudado e putâmen) e (B) Paciente com teste positivo com degeneração do corpo estriado, com a região do núcleo caudado ao centro da ROI.

Nesta aplicação, uma vez que é totalmente independente do operador, não foi analisada a variabilidade intra e interoperador no cálculo dos rácios de captação.

B. Aplicação Semi-Automática

Relativamente à aplicação semi-automática desenvolvida, os valores de referência obtidos a partir do cálculo dos rácios de captação do GI encontram-se descritos na Tabela 6. O rácio de captação A ($3,61 \pm 0,58$) relativo à ligação específica do RF na totalidade dos corpos estriados; os rácios de captação B ($3,62 \pm 0,57$) e C ($3,60 \pm 0,60$) que se referem à captação específica ao nível dos corpos estriados esquerdo e direito, respetivamente; e o rácio de captação D ($1,01 \pm 0,05$) que corresponde ao rácio de simetria esquerda-direita.

Tal como na aplicação automática, também foi possível observar que os rácios B e C são semelhantes uma vez que correspondem à estrutura simétrica homóloga dos corpos estriados, existindo também uma ligeira diferença entre eles com o valor do rácio B maior que o rácio C; o valor de referência para o rácio A corresponde a um valor médio entre os corpos estriados esquerdo e direito; e o rácio D, sendo um rácio de simetria, e tendo em conta que as estruturas simétricas homólogas apresentam valores semelhantes, este tem o valor de aproximadamente 1.

Tabela 6: Valores de referência ($\bar{x} \pm \delta$) obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação semi-automática.

Rácios	Valor de Referência ($\bar{x} \pm \delta$)
A	3,61±0,58
B	3,62±0,57
C	3,60±0,60
D	1,01±0,05

Nas cartas de controlo obtidas (Figuras 40-43), foi possível verificar que cerca de 73% dos pacientes com teste negativo encontram-se dentro dos limites estabelecidos e que 78% dos pacientes com teste positivo encontram-se abaixo da linha ($\bar{x} - \delta$) (-1DP). De realçar que no rácio D apenas dois pacientes com teste negativo se encontram dentro dos limites especificados; como podemos observar pelos valores de referência da Tabela 6, o valor correspondente ao rácio D é muito próximo de 1 com um erro padrão bastante reduzido (0,05), e como foi possível verificar também existe uma diferença entre os valores dos rácios referentes aos corpos estriados esquerdo e direito, o que significa que certas imagens de estudos com teste negativo evidenciaram assimetria esquerda-direita, o que resulta em valores para o rácio D fora dos limites.

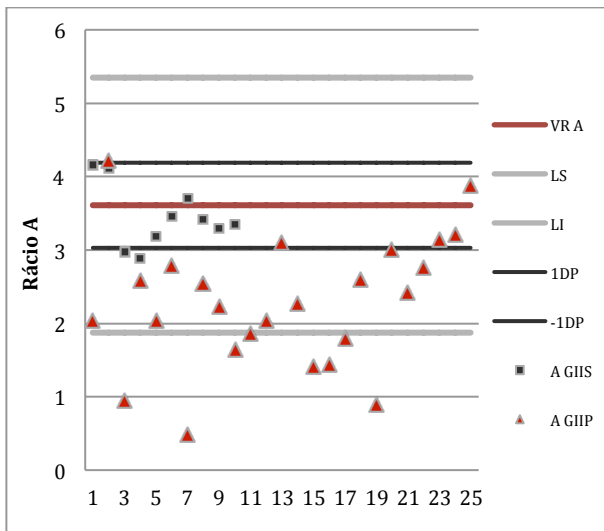


Figura 40: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação semi-automática.

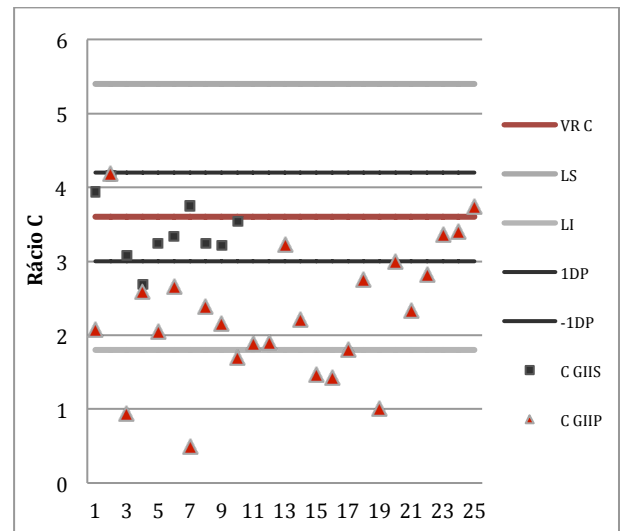


Figura 41: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação semi-automática.

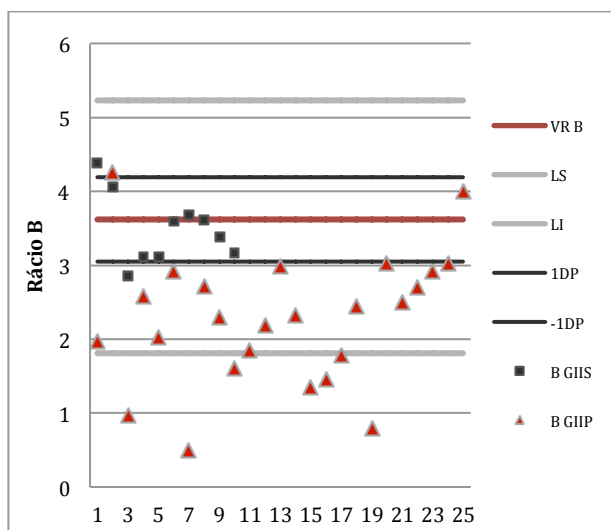


Figura 42: Carta de controlo GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação semi-automática.

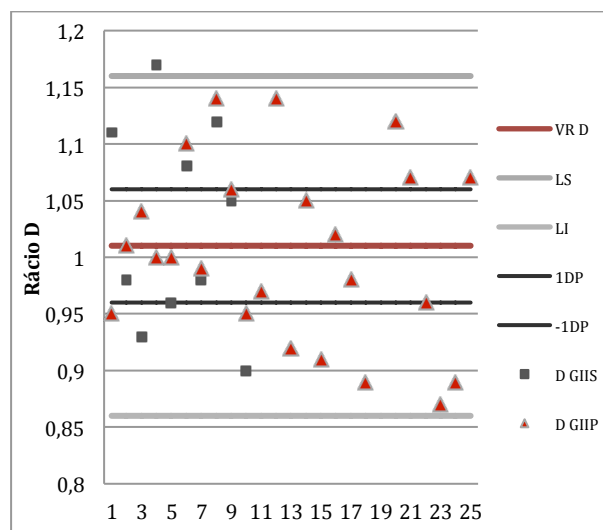


Figura 43: Carta controlo GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação semi-automática.

Os resultados das AUC obtidas pelas curvas ROC (Figuras 44-47), de Erro Padrão, de sensibilidade e especificidade dos rácios de captação A-D encontra-se na Figura 48. Neste caso, as AUC apresentavam valores compreendidos entre 0,50 (Rácio D) e 0,91 (Rácio B) variando o erro padrão entre 0,064 (Rácio B) e 0,11 (Rácio D). O rácio de captação específica que apresenta um valor de sensibilidade mais elevado é o rácio de captação B (0,92), sendo que o que apresenta menor valor é o rácio D (0,6). Os rácios B (0,8) e C (0,8) são os que apresentam maior valor relativamente à especificidade, sendo o rácio D (0,6) o que apresenta menor valor.

Em relação aos valores obtidos para AUC, é possível inferir que o rácio B (0,91) é considerado um excelente discriminador entre pacientes com teste positivo e pacientes com teste negativo, e os rácios A (0,8) e C (0,85) são considerados uma boa medida de discriminação. Assim, através da análise dos dados obtidos pela aplicação semi-automática tendo por base estes três rácios, existe 91% (rácio B), 85% (rácio C) e 80% (rácio A) de probabilidade de um estudo com teste positivo apresentar um valor de captação menor que um estudo com teste negativo^(5,19,54). Neste grupo, o rácio B é o que apresenta uma melhor medida, sendo superior ao rácio C e assim, tal como na aplicação automática, é possível constatar que nesta amostra, quando surgem alterações ao nível dos corpos estriados, estas ocorrem na sua maioria ao nível do lado esquerdo. O rácio D é o que apresenta o menor valor de AUC (0,5) sendo considerado um mau discriminador, pelos mesmos motivos enunciados para a aplicação automática.

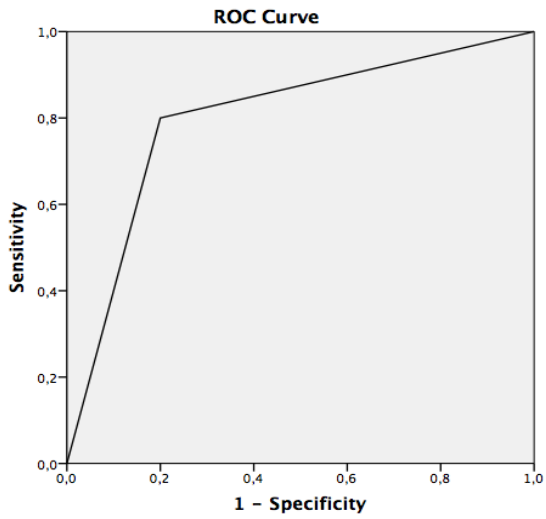


Figura 44: Curva ROC para o rácio A com a aplicação semi-automática

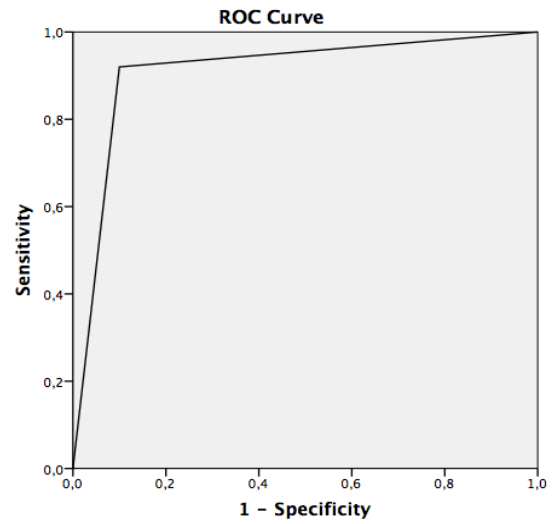


Figura 46: Curva ROC para o rácio B com a aplicação semi-automática

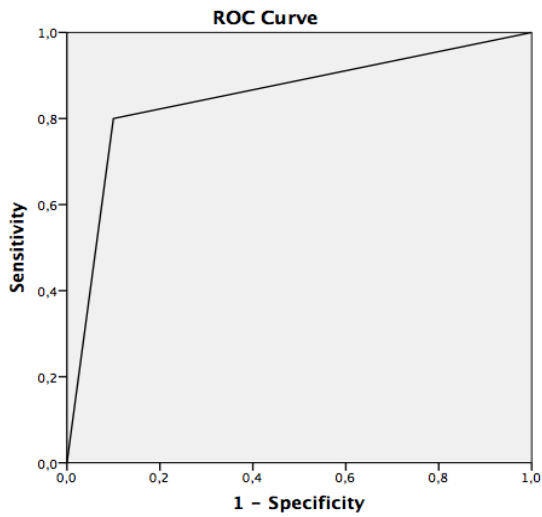


Figura 45: Curva ROC para o rácio C com a aplicação semi-automática

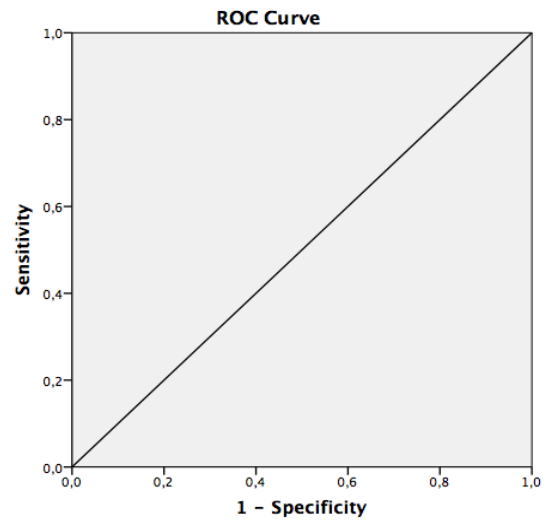


Figura 47: Curva ROC para o rácio D com a aplicação semi-automática

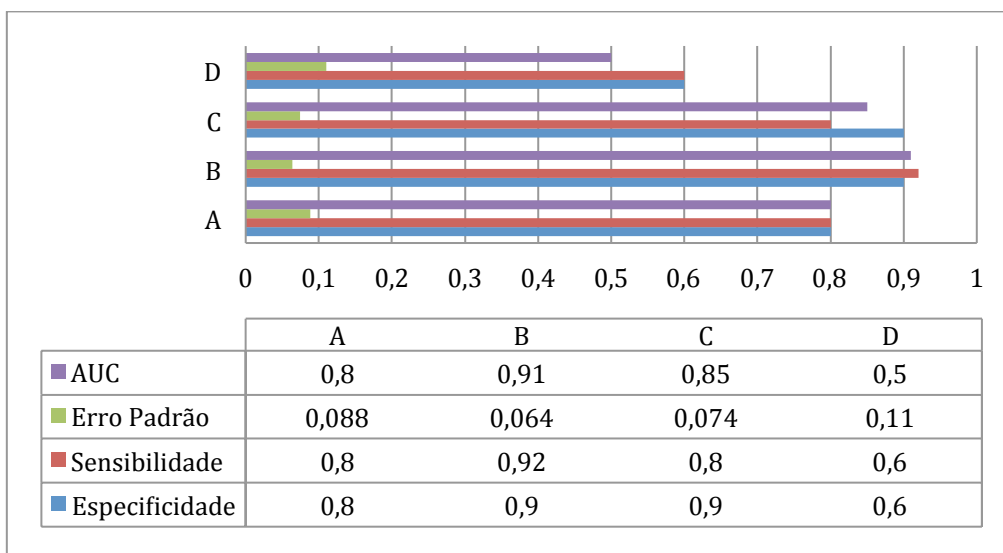


Figura 48: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação semi-automática.

Para avaliação da variabilidade intra-operador foram comparados os valores dos três ensaios realizados por cada operador para cada rácio de captação nos dois grupos de pacientes: com teste negativo (GI e GIIS) e com teste positivo (GIIP) (Figuras 49 e 50). Através da análise dos valores p resultantes da aplicação do teste de *Friedman*, verificou-se variabilidade estatisticamente significativa no operador 1, no cálculo dos rácios C e D (valores de $p=0,006$ e $0,005$, respetivamente), em pacientes com teste negativo; no caso de pacientes com teste positivo, foi verificada variabilidade estatisticamente significativa no operador 1 no cálculo do rácio B (valor de $p=0,02$). Estes resultados corroboram outros estudos que demonstram a existência de variabilidade intra-operador em métodos semi-automáticos nos estudos *DaTSCAN*^{TM(6-11)}.

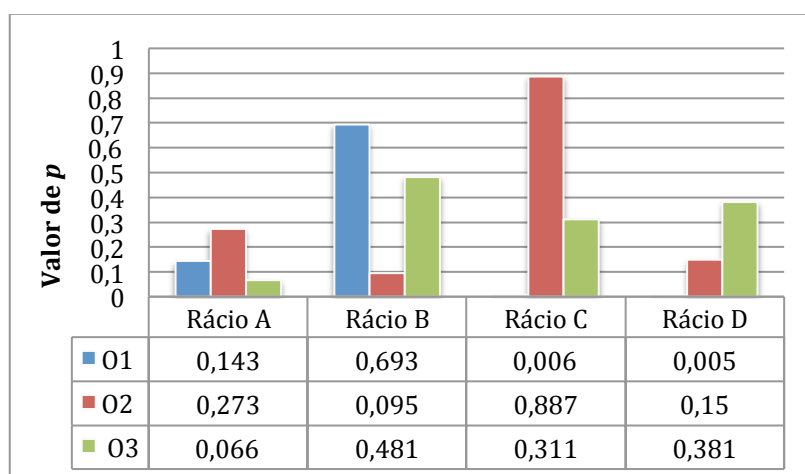


Figura 49: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação semi-automática

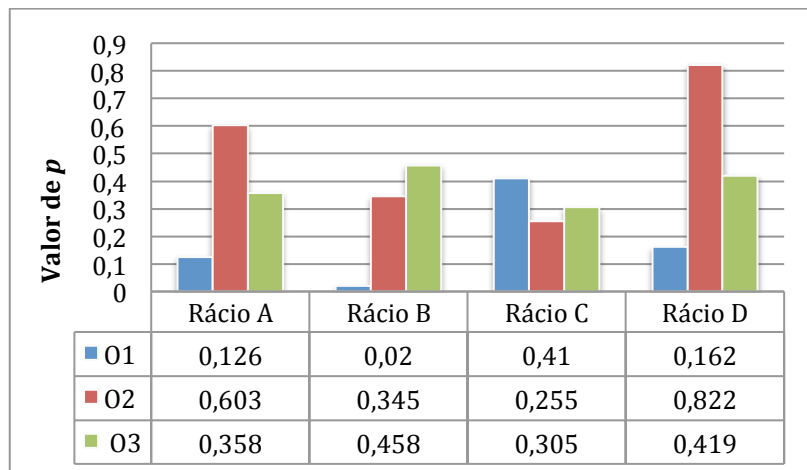


Figura 50: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação semi-automática

Para a determinação da variabilidade interoperador foram comparadas as médias dos três ensaios de cada operador para cada rácio de captação. Os valores p resultantes desta comparação foram todos inferiores a 0,05 em ambos os grupos em estudo, à exceção do rácio D com valor de $p=0,775$, em pacientes com teste positivo (Figuras 51 e 52), o que significa que, para o cálculo dos rácios A-D existiu variabilidade interoperador estatisticamente significativa, o que também corrobora a literatura na qual refere a existência de variabilidade interoperador nos métodos de quantificação semi-automática⁽⁶⁻¹¹⁾.

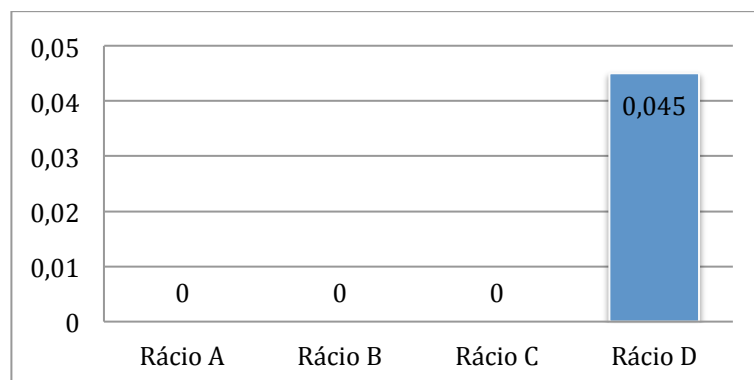


Figura 51: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação semi-automática

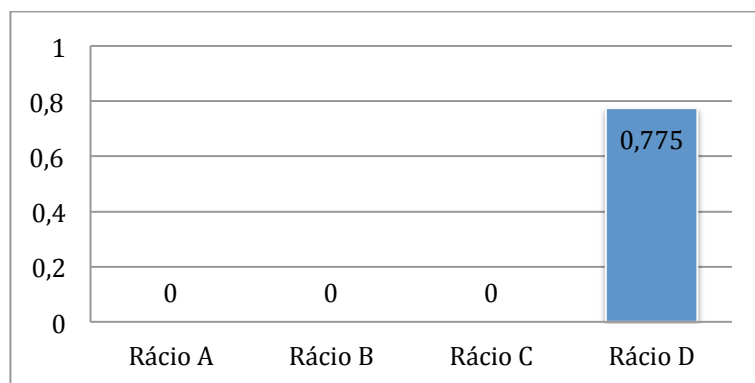


Figura 52: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação semi-automática

C. Aplicação *DaTSCAN V4*

Os valores de referência obtidos para a aplicação *DaTSCAN V4* a partir do cálculo dos rácios de captação do GI encontram-se descritos na Tabela 7. O rácio de captação A ($3,43 \pm 0,46$) relativo à ligação específica do RF na totalidade dos corpos estriados; os rácios de captação B ($3,46 \pm 0,49$) e C ($3,40 \pm 0,43$) que se referem à captação específica ao nível dos corpos estriados esquerdo e direito, respetivamente; e o rácio de captação D ($1,02 \pm 0,04$) que corresponde ao rácio de simetria esquerda-direita.

Neste caso, a diferença entre os valores de referência dos rácios B e C, referentes a estruturas simétricas homólogas, foi superior em comparação com as aplicações automática e semi-automática e por isso o rácio D apresenta um maior valor que as aplicações desenvolvidas, resultante da maior assimetria esquerda-direita; o valor de referência para o rácio A corresponde a um valor médio entre os corpos estriados esquerdo e direito.

Tabela 7: Valores de referência ($\bar{x} \pm \delta$) obtidos para os rácios A-D pela quantificação obtida com a aplicação *DaTSCAN V4*

Rácios	Valor de Referência ($\bar{x} \pm \delta$)
A	$3,43 \pm 0,46$
B	$3,46 \pm 0,49$
C	$3,40 \pm 0,43$
D	$1,02 \pm 0,04$

Nas cartas de controlo obtidas (Figuras 53-56), foi possível verificar que cerca de 85% dos pacientes com teste negativo encontram-se dentro dos limites estabelecidos e que 72% dos pacientes com teste positivo encontram-se fora dos limites.

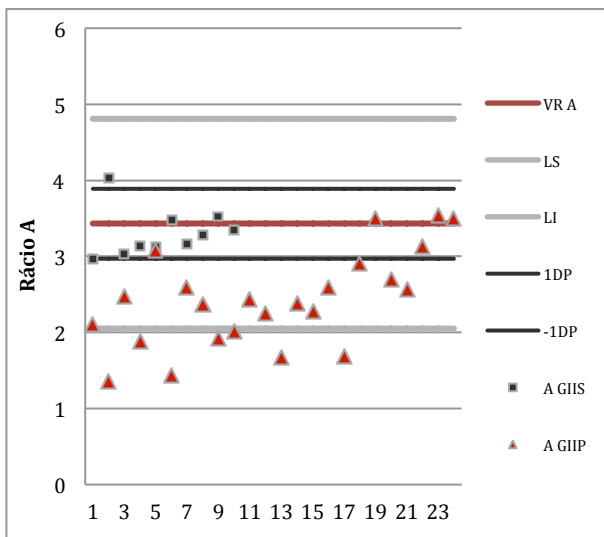


Figura 53: Carta de controle GIIS e GIIP para o Rácio A, na aplicação *DaTSCAN V4*.

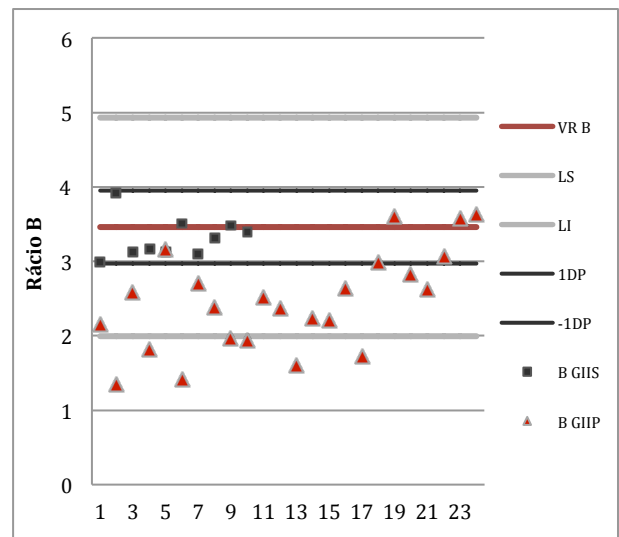


Figura 55: Carta de controle GIIS e GIIP para o Rácio B, na aplicação *DaTSCAN V4*.

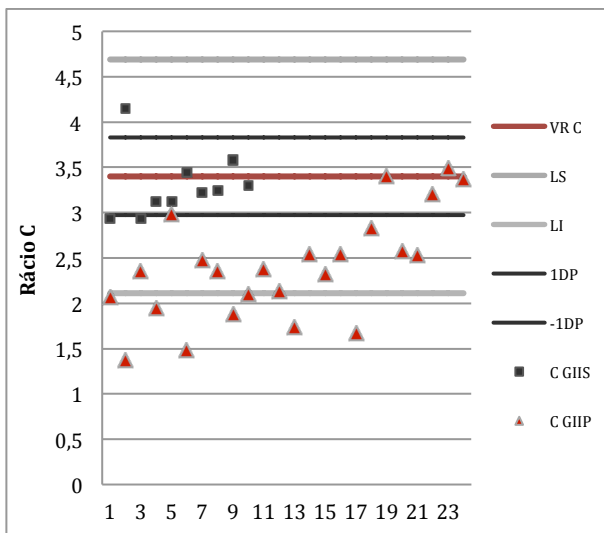


Figura 54: Carta de controle GIIS e GIIP para o Rácio C, na aplicação *DaTSCAN V4*.

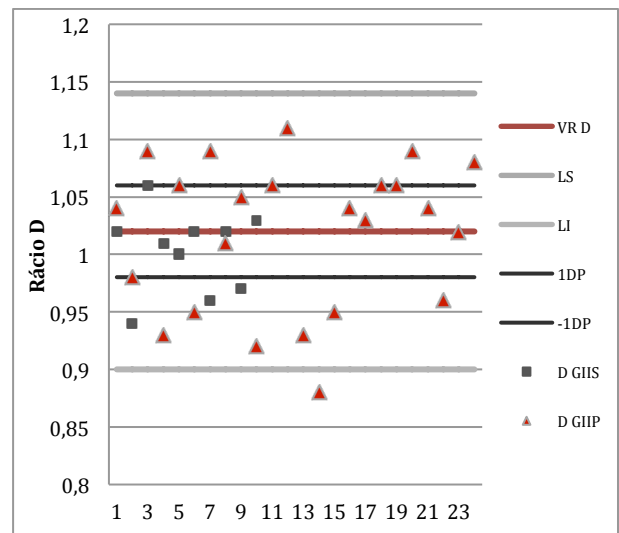


Figura 56: Carta de controle GIIS e GIIP para o Rácio D, na aplicação *DaTSCAN V4*.

Os resultados das AUC obtidas pelas curvas ROC (Figuras 57-60), de Erro Padrão, de sensibilidade e especificidade dos rácios de captação A-D encontra-se na Figura 61. Neste caso, as AUC apresentaram valores compreendidos entre 0,60 (Rácio D) e 0,896 (Rácio B) variando o erro padrão entre 0,054 (Rácio B) e 0,106 (Rácio D). Os rácios de captação específica que apresentam um valor de sensibilidade mais elevado são os rácios A, B e C (0,79), sendo que o que apresenta menor valor é o rácio D (0,5). O rácio B (1,0) é o que apresenta maior valor relativamente à especificidade, sendo o rácio D (0,7) o que apresenta menor valor.

Em relação aos valores obtidos para AUC, é possível inferir que os rácios A (0,846) e B (0,896) são considerados uma boa medida de discriminação entre pacientes com teste positivo e pacientes com teste negativo, e o rácio C (0,796) é considerado uma medida moderada de discriminação. Assim, através da análise dos dados obtidos pela aplicação *DaTSCAN V4* tendo por base estes três rácios, existe 89,6% (rácio B), 84,6% (rácio A) e 79,6% (rácio C) de probabilidade de um estudo com teste positivo apresentar um valor de captação menor que um estudo com teste negativo^(5,19,54). Neste grupo, o rácio B é o que apresenta uma melhor medida, sendo superior ao rácio C e assim é possível constatar, novamente, que nesta amostra, quando surgem alterações ao nível dos corpos estriados, estas ocorrem na sua maioria ao nível do lado esquerdo. O rácio B é o que apresenta maior valor de especificidade (1,00), sendo assim considerado um excelente parâmetro para garantir que um paciente é verdadeiramente saudável. O rácio D é o que apresenta o menor valor de AUC (0,6) sendo considerado um mau discriminador, tal como nas duas aplicações desenvolvidas; o que significa que estes resultados referentes ao rácio D dizem respeito à amostra utilizada, e por isso não dependem das técnicas de processamento utilizadas. De referir que os valores de sensibilidade são inferiores aos valores obtidos com as aplicações desenvolvidas, o que aumenta a reprodutibilidade destas aplicações.

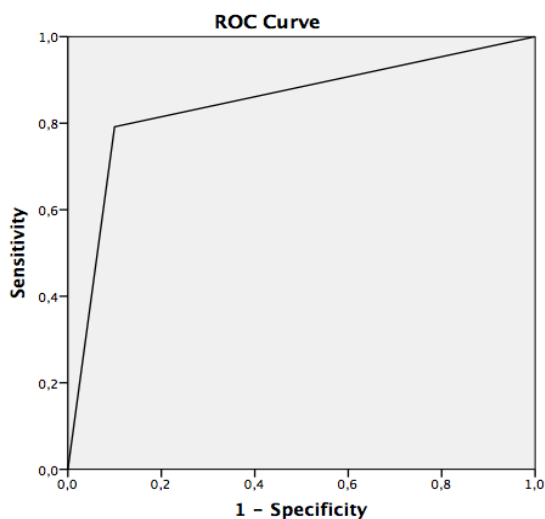


Figura 57: Curva ROC para o rácio A com a aplicação *DaTSCAN V4*

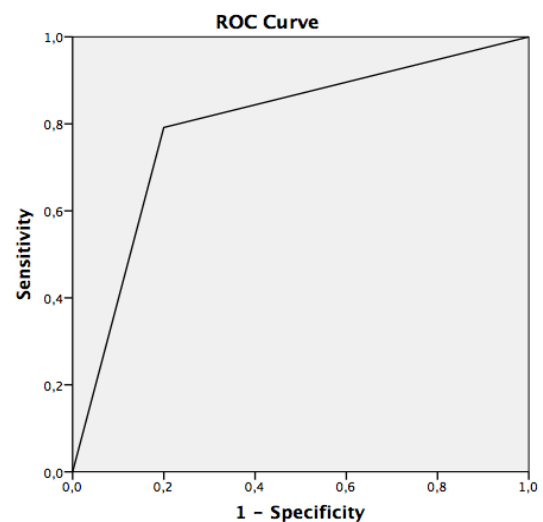


Figura 58: Curva ROC para o rácio C com a aplicação *DaTSCAN V4*

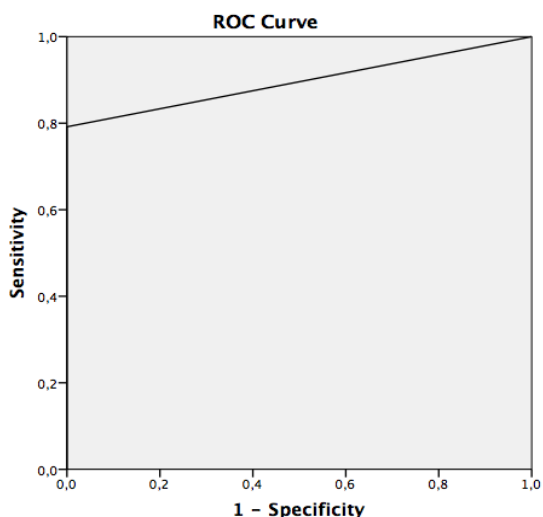


Figura 59: Curva ROC para o rácio B com a aplicação *DaTSCAN V4*

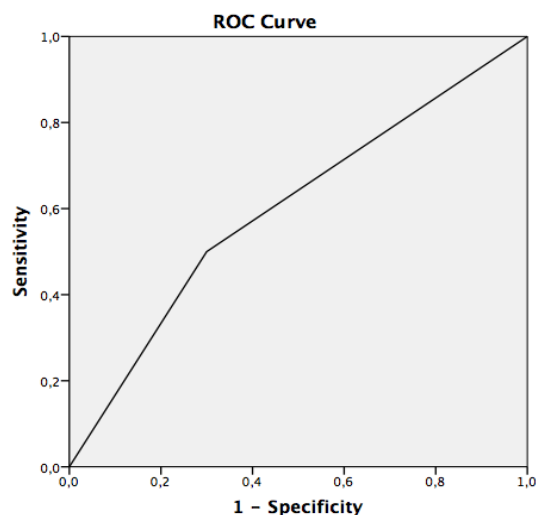


Figura 60: Curva ROC para o rácio D com a aplicação *DaTSCAN V4*

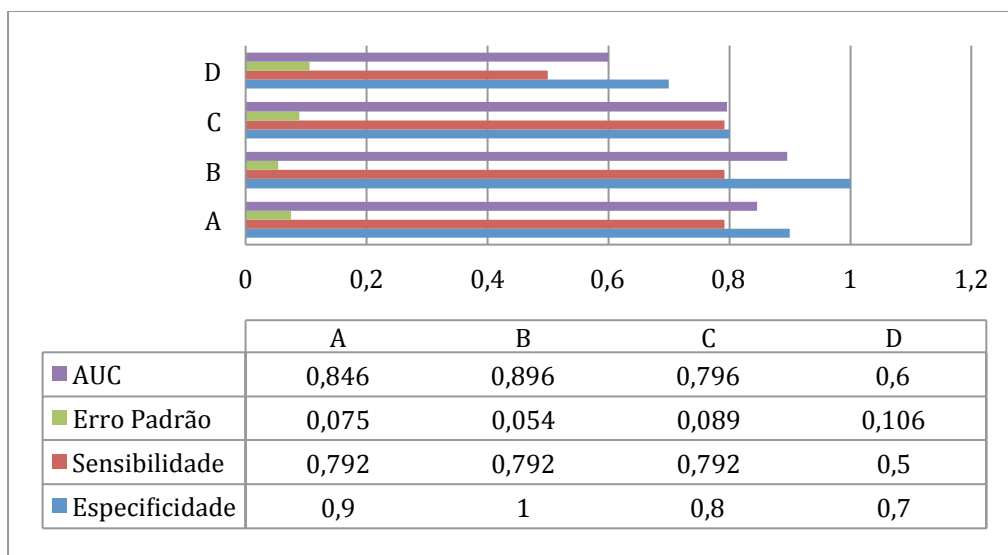


Figura 61: Resultados AUC, Erro Padrão, Sensibilidade e Especificidade Curvas ROC dos rácios A-D, para a aplicação *DaTSCAN V4*

Para avaliação da variabilidade intra-operador foram obtidos os valores de p das Figuras 62 e 63, a partir do teste de *Friedman*. Através da análise dos valores p não foi verificada variabilidade intra-operador estatisticamente significativa no cálculo dos vários rácios (valores de p inferior a 0,05), tanto em pacientes com teste negativo como em pacientes com teste positivo. Estes resultados não vão de encontro à literatura, que afirma a existência de variabilidade intra-operador em métodos semi-automáticos⁽⁶⁻¹¹⁾; no entanto, para a aplicação *DaTSCAN V4* apenas houve o estudo da variabilidade intra-operador entre dois operadores, e a amostra em estudo também é de dimensão reduzida; de salientar que

esta técnica de processamento separa as duas estruturas do corpo estriado (núcleo caudado e putâmen) e os ajustes manuais realizados permitem também a rotação das ROI bem como um ajuste mais fino, em comparação com a atual versão da aplicação semi-automática desenvolvida.

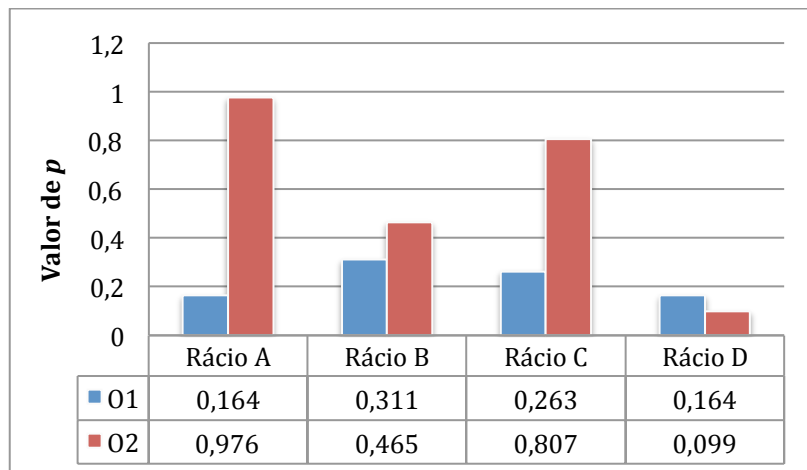


Figura 62: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação *DaTSCAN V4*

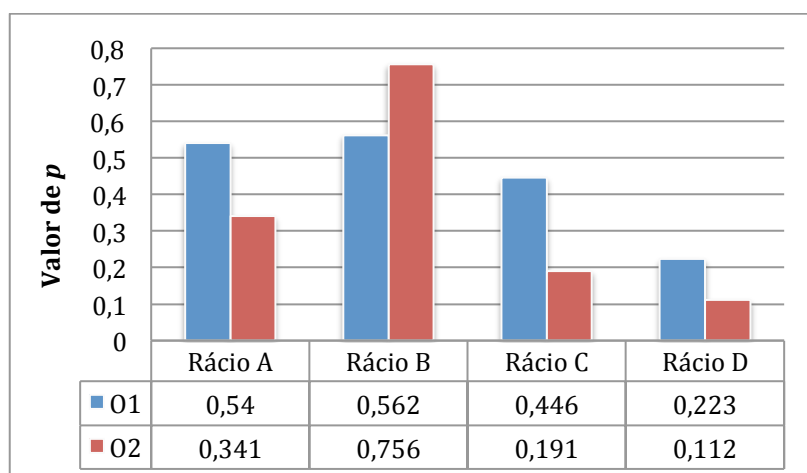


Figura 63: Variabilidade intra-operador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação *DaTSCAN V4*

Em relação à variabilidade interoperador, os valores p resultantes desta comparação foram todos superiores a 0,05 nos pacientes com teste negativo, pelo que se considera não existir variabilidade significativa para esta amostra; no entanto, para a amostra com teste positivo é possível verificar variabilidade interoperador estatisticamente significativa para todos os rácios (Figuras 64 e 65), o que se encontra em concordância com a literatura referente à variabilidade interoperador em métodos semi-automáticos⁽⁶⁻¹¹⁾. Estes resultados advêm do facto das imagens de pacientes com teste positivo apresentarem defeitos ao nível

da captação específica do RF e por isso a colocação das ROI em torno dos corpos estriados torna-se um processo mais complexo dada a dificuldade de encontrar os limites geométricos dos objetos em estudo^(5,19,54).

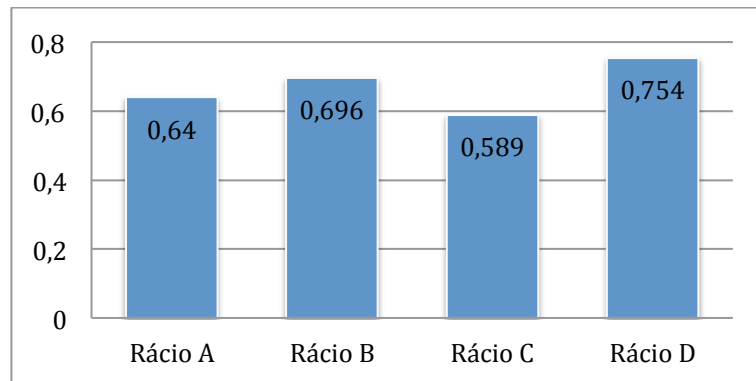


Figura 64: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste negativo (GI e GIIS), na aplicação *DaTSCAN V4*

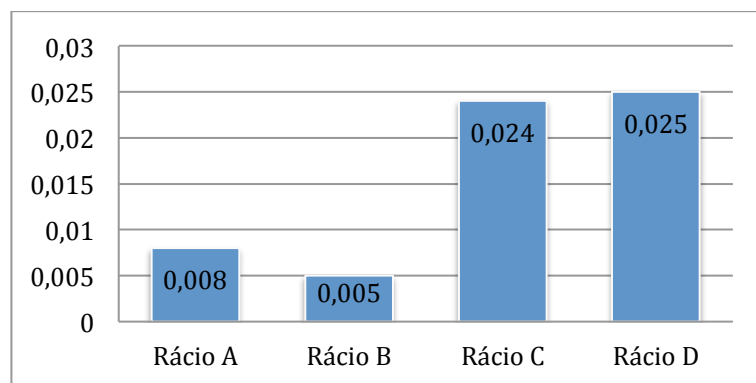


Figura 65: Variabilidade interoperador na análise dos rácios de captação dos pacientes com teste positivo (GIIP), na aplicação *DaTSCAN V4*

1.2 Comparação entre a Aplicação Automática e a Aplicação *DaTSCAN V4*

Para inferência estatística da comparação entre a aplicação automática e a aplicação *DaTSCAN V4* foi utilizado o teste paramétrico *t-student* para amostras emparelhadas (Tabela 8). A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas entre as médias obtidas dos rácios A-C para a aplicação automática e aplicação *DaTSCAN V4* (valores de p inferiores a 0,05), em estudos com teste negativo; enquanto que nos estudos com teste positivo essas diferenças não existem (valores de p superiores a 0,05). Estes resultados obtidos não se encontram de acordo com o esperado uma vez que seria de esperar que existissem diferenças estatisticamente

significativas nos estudos com teste positivo, sendo nestes mais difícil de posicionar automaticamente as ROI nos corpos estriados, relacionado com a degeneração dopaminérgica dos mesmos^(5,19,54). No entanto, podemos concluir que o método automático permite obter resultados semelhantes à aplicação *DaTSCAN V4*, em pacientes com teste positivo, o que permite uma maior reprodutibilidade na aplicação automática no estudo destes pacientes, o que pode ser vantajoso tendo em conta que é neste grupo de doentes que a quantificação pode ter maior utilidade⁽⁶⁻⁸⁾.

Tabela 8: Valores de médias e valor de *p* obtidos pelo teste *t-student* para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes teste positivo e negativo, para a aplicação automática (AUT) e aplicação *DaTSCAN V4* (GE)

		Pacientes com Teste Negativo		Pacientes com Teste Positivo	
		Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)	Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)
Par 1	AAUT	3,758	0,000	2,383	0,969
	AGE	3,400		2,386	
Par 2	BAUT	3,767	0,000	2,368	0,585
	BGE	3,424		2,410	
Par 3	CAUT	3,749	0,000	2,398	0,700
	CGE	3,377		2,362	
Par 4	DAUT	1,006	0,324	0,986	0,050
	DGE	1,014		1,016	

Apesar de estatisticamente diferentes, as médias obtidas pela aplicação automática são superiores às obtidas pela aplicação *DaTSCAN V4* de forma proporcional, pelo que foi estudada a correlação entre os dois métodos relativamente aos rácios A-D. A partir do teste de correlação de *Pearson* foram obtidos os seguintes valores de correlação: rácio A (0,91), rácio B (0,91), rácio C (0,74) e rácio D (0,17). Tendo em conta estes resultados é possível afirmar que existe uma correlação positiva muito forte entre os dois métodos no cálculo dos rácios A e B, uma correlação forte para o rácio C, sendo que no rácio D a correlação é fraca. Assim, apesar das diferenças estatisticamente significativas, existe uma forte correlação entre os dois métodos nos rácios A-C.

De salientar que relativamente à variabilidade intra e interoperador, esta não existe na aplicação automática, uma vez que não há a interferência de um operador, ao contrário

da aplicação *DaTSCAN V4* (método semi-automático) no qual ocorre o manuseamento por parte de operadores, sendo que neste método ocorreu variabilidade interoperador⁽⁶⁻¹¹⁾.

1.3 Comparação entre a Aplicação Semi-Automática e a Aplicação *DaTSCAN V4*

A partir dos resultados obtidos (Tabela 9), foi possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos rácios A-C para a aplicação semi-automática e a aplicação *DaTSCAN V4* ($p=0,007$; $p=0,026$; $p=0,003$), em pacientes com teste negativo; para o rácio D não existem diferenças estatisticamente significativas ($p=0,529$). Para os pacientes com teste positivo, foi possível concluir que existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos rácios A e B para a aplicação semi-automática e a aplicação *DaTSCAN V4* ($p=0,015$; $p=0,003$); para os rácios C e D não existem diferenças estatisticamente significativas ($p=0,063$; $p=0,488$).

Tabela 9: Valores de médias e valor de p obtidos pelo teste *t-student* para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes com teste positivo e negativo, para a aplicação semi-automática (SA) e aplicação *DaTSCAN V4* (GE)

	Pacientes com Teste Negativo		Pacientes com Teste Positivo	
	Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)	Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)
Par 1	ASA	3,563	2,232	0,015
	AGE	3,401	2,418	
Par 2	BSA	3,576	2,231	0,003
	BGE	3,428	2,442	
Par 3	CSA	3,545	2,234	0,063
	CGE	3,374	2,393	
Par 4	DSA	1,009	1,003	0,488
	DGE	1,016	1,015	

Para comparar estes dois métodos, foi também usado o teste de correlação de *Pearson* tendo sido obtidos os seguintes valores: rácio A (0,91), rácio B (0,89), rácio C (0,89) e rácio D (0,06). Tendo em conta estes resultados é possível afirmar que existe uma correlação positiva muito forte entre os dois métodos no cálculo do rácio A, uma correlação

forte para os rácios B e C, sendo que no rácio D a correlação é fraca. Assim, apesar das diferenças estatisticamente significativas, existe uma forte correlação entre os dois métodos nos rácios A-C.

Relativamente a estes dois métodos, ambos semi-automáticos, a variabilidade intra e interoperador é superior na aplicação semi-automática desenvolvida em comparação com a aplicação *DaTSCAN V4*. Este facto pode dever-se a que a aplicação *DaTSCAN V4* seja uma aplicação já validada e otimizada, algo que a aplicação semi-automática desenvolvida não é e ainda necessita de otimizações.

1.4 Comparação entre a Aplicação Automática e a Aplicação Semi-Automática

A partir dos resultados obtidos (Tabela 10), foi possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos rácios A-C para a aplicação automática e a aplicação semi-automática ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$), em pacientes com teste negativo; para o rácio D não existem diferenças estatisticamente significativas ($p=0,513$). Para os pacientes com teste positivo, foi possível concluir que existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios dos rácios A-C para a aplicação automática e o aplicação semi-automática ($p=0,000$; $p=0,000$; $p=0,000$); para o rácio D não existem diferenças estatisticamente significativas ($p=0,488$).

Tabela 10: Valores de médias e valor de p obtidos pelo teste *t-student* para amostras emparelhadas, no grupo de pacientes com teste positivo e negativo, para a aplicação automática (AUT) e aplicação semi-automática (SA)

		Pacientes com Teste Negativo		Pacientes com Teste Positivo	
		Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)	Média	Teste <i>t-student</i> (valor p)
Par 1	AAUT	3,732	0,000	2,564	0,000
	ASA	3,553		2,352	
Par 2	BAUT	3,743	0,000	2,552	0,000
	BSA	3,571		2,347	
Par 3	CAUT	3,720	0,000	2,575	0,000
	CSA	3,535		2,357	
Par 4	DAUT	1,007	0,513	0,991	0,488
	DSA	1,012		1,000	

Relativamente ao teste de correlação de *Pearson* foram obtidos os seguintes valores: rácio A (0,99), rácio B (0,99), rácio C (0,99) e rácio D (0,70). Tendo em conta estes resultados é possível afirmar que existe uma correlação positiva muito forte entre os dois métodos no cálculo dos rácios A, B e C, sendo que no rácio D a correlação é fraca. Assim, apesar das diferenças estatisticamente significativas, existe uma forte correlação entre os dois métodos nos rácios A-C.

Com estes resultados podemos verificar que, apesar de estatisticamente diferentes, existe uma correlação muito forte entre os dois métodos, pelo que a inclusão de um operador não variou de grande forma o processamento das imagens dos pacientes.

Neste caso, tal como na primeira comparação, relativamente à variabilidade intra e interoperador, esta não existe na aplicação automática, uma vez que não há a interferência de um operador, ao contrário aplicação semi-automática na qual ocorre o manuseamento por parte de operadores, sendo que neste método ocorreu variabilidade intra e interoperador⁽⁶⁻¹¹⁾.

1. Conclusão

O objetivo deste trabalho final de mestrado foi a construção de uma aplicação automática para análise de cortes transaxiais dos corpos estriados em imagens obtidas por [¹²³I]FP-CIT SPECT, com a consequente comparação com dois métodos semi-automáticos, com ajuste manual das ROI por parte de um operador: abordagem comercial *DaTSCAN V4* e aplicação semi-automática desenvolvida.

Tendo em conta a análise dos dados é possível concluir que, à exceção do rácio D de simetria esquerda-direita (AUC=0,63, sensibilidade=56%, especificidade=70%), a aplicação automática desenvolvida consegue discriminar com sucesso os pacientes com teste positivo dos pacientes com teste negativo nos rácios A (Corpos estriados/Occipital) (AUC=0,85, sensibilidade = 80%, especificidade= 90%), B (Corpo estriado esquerdo/Occipital) (AUC=0,82, sensibilidade = 84%, especificidade= 80%) e C (Corpo estriado direito/Occipital) (AUC=0,85, sensibilidade = 80%, especificidade= 90%), com forte correlação com os métodos semi-automáticos (*DaTSCAN V4* e aplicação desenvolvida).

Paralela e relativamente aos valores de sensibilidade e especificidade de cada método, à exceção do rácio de simetria, foram obtidos valores elevados e idênticos nos três métodos. A aplicação automática, sendo totalmente independente de um operador, não tem inerente variabilidade intra e interoperador, algo que foi verificado nos métodos semi-automáticos.

Consideramos ainda que, a maior limitação neste trabalho final de mestrado foi a utilização de uma amostra de dimensão reduzida, não sendo por isso possível analisar os resultados com discriminação de género e idade, nem introduzir outras medidas estatísticas.

No seguimento do trabalho desenvolvido, e como trabalho futuro, sugere-se a inclusão de uma amostra de dimensão superior, na tentativa de criar padrões com maior consistência, nomeadamente na definição de valores de referência, particularmente com um maior número de indivíduos, de forma a estudar a influência do género e da idade no cálculo dos rácios de captação específica.

Uma vez que em alguns pacientes com teste positivo apenas o putâmen se encontra degenerado, sendo essa a primeira estrutura a sofrer alterações dopaminérgicas em SP, julgamos que seria útil incluir na aplicação a capacidade de diferenciar o núcleo caudado do putâmen no corpo estriado. Dada a complexidade de o fazer utilizando somente imagens SPECT, e dada a recorrência atual das tecnologias híbridas, *e.g.*, SPECT-CT, a segmentação do núcleo caudado e do putâmen seria provavelmente mais eficaz recorrendo

a imagens anatômicas e/ou de “fusão”, em virtude da utilização de imagens de maior resolução espacial.

Eventualmente, poderia também ser vantajoso estudar os corpos estriados em 3D, de forma a englobar todo o volume dessas estruturas para o cálculo da captação específica, incluindo outros métodos de segmentação que permitam uma melhor identificação destas estruturas.

Tendo em conta que os valores dos raios de captação dependem do método de reconstrução utilizado, seria também interessante estudar a influência do algoritmo de reconstrução tomográfica na segmentação e quantificação das imagens DaTSCAN™.

Referências Bibliográficas

1. Shen L, Liao M, Tseng Y. Recent Advances in Imaging of Dopaminergic Neurons for Evaluation of Neuropsychiatric Disorders. *J Biomed Biotechnol.* 2012;2012:1–14.
2. Madsen MT. Recent Advances in SPECT Imaging. *J Nuc Med.* 2007;48(4):661–73.
3. Khalil MM. Elements of Gamma Camera and SPECT Systems. In: Khalil MM, editor. *Basic Sciences of Nuclear Medicine.* 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p.155-78.
4. Djang DSW, Janssen MJR, Bohnen N, Booij J, Henderson T a, Herholz K, et al. SNM practice guideline for dopamine transporter imaging with 123I-ioflupane SPECT 1.0. *J Nucl Med.* 2012;53(1):154–63.
5. Darcourt J, Booij J, Tatsch K, Varrone A, Vander Borght T, Kapucu ÖL, et al. EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT using 123I-labelled dopamine transporter ligands, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;37(2):443–50.
6. Badiavas K, Molyvda E, Iakovou I, Tsolaki M, Psarrakos K, Karatzas N. SPECT imaging evaluation in movement disorders: Far beyond visual assessment. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;38(4):764–73.
7. Nobili F, Naseri M, De Carli F, Asenbaum S, Booij J, Darcourt J, et al. Automatic semi-quantification of [123I]FP-CIT SPECT scans in healthy volunteers using BasGan version 2: Results from the ENC-DAT database. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2013;40(4):565–73.
8. Augimeri A, Cherubini A, Cascini GL, Galea D, Caligiuri ME, Barbagallo G, et al. CADA—computer-aided DaTSCAN analysis. *EJNMMI Physics.* 2016;3(1):1-13.
9. Koch W, Radau PE, Hamann C, Tatsch K. Clinical testing of an optimized software solution for an automated, observer-independent evaluation of dopamine transporter SPECT studies. *J Nucl Med.* 2005;46(7):1109–18.
10. Pencharz DR, Hanlon P, Chakravartty R, Navalkisoor S, Quigley AM, Hall M, et al. Automated quantification with BRASS reduces equivocal reporting of DaTSCAN (123I-FP-CIT) SPECT studies. *Nucl Med Rev.* 2014;17(2):65–9.
11. Soret M, Koulibaly PM, Darcourt J, Hapdey S, Buvat I. Quantitative Accuracy of Dopaminergic Neurotransmission Imaging with 123I SPECT. *J Nucl Med.* 2003;44(7):1184–94.
12. Faria DAB. Segmentação, Reconstrução e Quantificação 3D de Estruturas em Imagens Médicas – Aplicação em Imagem Funcional e Metabólica [Dissertação]. Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto; 2013.
13. Tossici-Bolt L, Dickson JC, Sera T, Booij J, Asenbaun-Nan S, Bagnara MC, et al. [(123I)]FP-CIT ENC-DAT normal database: the impact of the reconstruction and quantification methods. *EJNMMI Physics.* 2017;4(1):1-16.
14. Leisman G, Melillo R, Carrick FR. Clinical Motor and Cognitive Neurobehavioral Relationships. In: Barrios FA, Clemens B, editors. *InTech;* 2013. p.1-22.
15. Guyton A., Hall J. The Nervous System: C. Motor and Integrative Neurophysiology. In: Guyton A., Hall J, editors. *Textbook of Medical Physiology.* 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p.555-609.
16. Seeley RR, Stephens TD, Tate P. Parte 3: Sistemas de Integração e Controlo. In: Lange MJ, editor. *Anatomia & Fisiologia.* Tradução de Leal MT, Durão MC, Abecasis L. 6th ed. Lusociência; 2005. p.475–512.

17. Van Heertum R., Ichise M. Brain. In: Biersack HJ, Freeman LM, editors. *Clinical Nuclear Medicine*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2007. p. 77–91.
18. Oliveira FPM, Castelo-Branco M. Computer-aided diagnosis of Parkinson's disease based on [(123)I]FP-CIT SPECT binding potential images, using the voxels-as-features approach and support vector machines. *J Neural Eng*. IOP Publishing; 2015;12(2):1-10.
19. Murray AD. The Brain, Salivary and Lacrimal Glands. In: Sharp PF, Gemmell HG, Murray AD, editors. *Practical Nuclear Medicine*. 3rd ed. London: Springer London; 2005. p. 231–46.
20. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: Mechanisms and models. *Neuron*; 2003;39(6): 889–909.
21. Gayed I, Joseph U, Fanous M, Wan D, Schiess M, Ondo W, et al. The impact of DaTscan in the diagnosis of Parkinson disease. *Clin Nucl Med*. 2015;40(5):390–3.
22. Zanzonico P, Heller S. Physics, Instrumentation, and Radiation Protection. In: Biersack HJ, Freeman LM, editors. *Clinical Nuclear Medicine*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2007. p.1-33.
23. Vaz T. Material de apoio na unidade curricular de Tecnologia de Equipamentos de Medicina Nuclear: Texto inédito. 2013. 30 p. Localizado em: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Área Científica de Medicina Nuclear, Lisboa.
24. Zeng GL, Galt JR, Wernick MN, Mintzer RA, Aarsvold JN. Single-Photon Emission Computed Tomography. In: Wernick MN, Aarsvold JN, editors. *Emission Tomography (The Fundamentals of PET and SPECT)*. 1st ed. London: Elsevier Inc.; 2004. p. 127–50.
25. Sharp PF, Goatman KA. Nuclear Medicine Imaging. In: Sharp PF, Gemmell HG, Murray AD, editors. *Practical Nuclear Medicine*. 3rd ed. London: Springer London; 2005. p. 1–20.
26. Cooke CD, Faber TL, Galt JR. Fundamentals of Image Processing in Nuclear Medicine. In: Khalil MM, editor. *Basic Sciences of Nuclear Medicine*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 217–58.
27. Khalil MM. Emission Tomography and Image Reconstruction. In: Khalil MM, editor. *Basic Sciences of Nuclear Medicine*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 259–83.
28. Gemmell HG, Staff RT. Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT). In: Sharp PF, Gemmell HG, Murray AD, editors. *Practical Nuclear Medicine*. 3rd ed. London: Springer London; 2005. p. 21–34.
29. Groch MW, Erwin WD. SPECT in the year 2000: basic principles. *J Nucl Med Technol*. 2000;28(4):233–44.
30. Patton JA, Turkington TG. SPECT/CT Physical Principles and Attenuation Correction. *J Nucl Med Technol*. 2008;36(1):1–10.
31. Figueiredo S. Material de apoio na unidade curricular de Processamento Digital de Imagem: Texto inédito. 2016. 69 p. Localizado em: Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Área Científica de Mestrado em Engenharia Biomédica, Lisboa.
32. Tsui BM, Frey E. Analytic Image Reconstruction Methods in Emission Computed Tomography. In: Zaidi H, editor. *Quantitative Analysis in Nuclear Medicine Imaging*. 1st ed. New York: Springer New York; 2006. p. 82–106.
33. Da Silva LB. A Reconstrução Tomográfica em SPECT com Utilização dos Novos Métodos Iterativos “WBR”: Comparação com Métodos Analíticos. [Dissertação]. Porto: Instituto Superior de Engenharia do Porto; 2013.

34. Ritt P, Vija H, Hornegger J, Kuwert T. Absolute quantification in SPECT. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(S1):69–77.
35. Ljungberg M. Quantitative SPECT Imaging. In: Khalil MM, editor. *Basic Sciences of Nuclear Medicine*. 1st ed. Berlin: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 285–308.
36. King MA, Glick SJ, Pretorius PH, Wells RG, Howard CG, Narayanan MV, et al. Attenuation, Scatter, and Spatial Resolution Compensation in SPECT. In: Wernick MN, Aarsvold JN, editors. *Emission Tomography (The Fundamentals of PET and SPECT)*. 1st ed. London: Elsevier Inc.; 2004. p. 473–94.
37. Zaidi H, Hasegawa BH. Attenuation Correction Strategies in Emission Tomography. In: Zaidi H, editor. *Quantitative Analysis in Nuclear Medicine Imaging*. 1st ed. New York: Springer New York; 2006. p. 167–204.
38. Van Laere K, Zaidi H. Quantitative Analysis in Functional Brain Imaging. In: Zaidi H, editor. *Quantitative Analysis in Nuclear Medicine Imaging*. 1st ed. New York: Springer New York; 2006. p. 435–70.
39. Sharma N, Aggarwal LM. Automated medical image segmentation techniques. *J Med Phys*. 2010;35(1):3-14.
40. Boudraa AO, Zaidi H. Image Segmentation Techniques in Nuclear Medicine Imaging. In: Zaidi H, editor. *Quantitative Analysis in Nuclear Medicine Imaging*. 1st ed. New York: Springer New York; 2006. p. 308–47.
41. Rogowska J. Overview and Fundamentals of Medical Image Segmentation. In: Bankman IN, editor. *Handbook of Medical Image Processing and Analysis*. 1st ed. London: Elsevier Inc.; 2009. p. 73–90.
42. Solomon C, Breckon T. Image Segmentation. In: Solomon C, Breckon T, editors. *Fundamentals of Digital Image Processing: A Practical Approach with Examples in Matlab*. John Wiley & Sons, Ltd; 2011. p. 263–90.
43. Balarini JP, Nesmachnow S. A C ++ Implementation of Otsu's Image Segmentation Method. *Image Process On Line*. 2016;6:155–164.
44. Silva PF, Ma Z, Tavares JM. Segmentação de Imagem Médica: Algoritmos para Aplicação à Cavidade Pélvica Feminina. *Livro de Atas de Conferência Internacional: CIBEM 10*, Porto. 2011;329-7.
45. Teixeira AS. Desenvolvimento de uma Interface Gráfica para Classificadores de Imagem [Dissertação]. Castelo Branco: Instituto Politécnico de Castelo Branco: Escola Superior de Tecnologia; 2011.
46. Li L, Rakitsch B, Borgwardt K. ccSVM: correcting Support Vector Machines for confounding factors in biological data classification. *Bioinformatics*. 2011;27(13):i342–8.
47. Dhanachandra N, Manglem K, Chanu YJ. Image Segmentation Using K -means Clustering Algorithm and Subtractive Clustering Algorithm. *Procedia Comput Sci*. 2015;54:764–71.
48. Solomon C, Breckon T. Classification. In: Solomon C, Breckon T, editors. *Fundamentals of Digital Image Processing: A Practical Approach with Examples in Matlab*. John Wiley & Sons, Ltd; 2011. p. 291–313.
49. Araujo AF. Novas Metodologias para Análise de órgãos e músculos a partir de imagens médicas – Aplicações à Cavidade Pélvica Feminina. [Dissertação]. Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto; 2010.
50. Jayadevappa D, Kumar SS, Murty DS. Medical Image Segmentation Algorithms using Deformable Models: A Review. *Iete Tech Rev*. 2011;28(3):248–55.

51. Kass M, Witkin A, Terzopoulos D. Active contour models. *International Journal of Computer Vision*. 1988;321–31.
52. Tsechpenakis G. Deformable Model-Based Medical Image Segmentation. In: El-Baz A, Acharya UR, Mirmehdi M, Suri JS, editores. *Multi Modality State-of-the-Art Medical Image Segmentation and Registration Methodologies*. Boston, MA: Springer US; 2011. p.33–67.
53. Tolosa E, Vander Borgh T, Moreno E. Accuracy of DaTSCAN (123I-IOFLUPANE) SPECT in diagnosis of patients with clinically uncertain parkinsonism: 2-Year follow-up of an open-label study. *Mov Disord*. 2007;22(16):2346–51.
54. Hauser RA, Bajaj N, Kenneth M, Seibyl J, Kupsch A, Plotkin M, et al. Sensitivity , Specificity , Positive and Negative Predictive Values and Diagnostic Accuracy of DaTscan TM (Ioflupane I123 Injection): Predicting Clinical Diagnosis in Early Clinically Uncertain Parkinsonian Syndrome. *J Neurol Stroke*. 2014;1(1):1–13.
55. GE Healthcare. DaTscan Ioflupane. [Internet]. [Consultado em 2017 Dez 10]. Disponível em: http://www3.gehealthcare.com/en/products/categories/nuclear_imaging_agents/datscan.
56. Mozley LH, Gur RC, Mozley PD, Gur RE. Striatal Dopamine Transporters and Cognitive Functioning in Healthy Men and Women. *Am J Psychiatry*. 2001 Sep;158(9):1492–9
57. Costa DC, Verhoeff NPLG, Cullum ID, Ell PJ, Syed GMS, Barrett J, et al. In vivo characterisation of 3-iodo-6-methoxybenzamide123I in humans. *Eur J Nucl Med*. 1990;16(11):813–6.
58. Fleming JS, Bolt L, Stratford JS, Kemp PM. The specific uptake size index for quantifying radiopharmaceutical uptake. *Phys Med Biol*. 2004;49(14):227–34.
59. Tossici-Bolt L, Hoffmann SMA, Kemp PM, Mehta RL, Fleming JS. Quantification of [123I]FP-CIT SPECT brain images: an accurate technique for measurement of the specific binding ratio. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;33(12):1491–9.
60. Zubal IG, Early M, Yuan O, Jennings D, Marek K, Seibyl JP. Optimized, Automated Striatal Uptake Analysis Applied to SPECT Brain Scans of Parkinson's Disease Patients. *J Nucl Med*. 2007;48(6):857–64.
61. Calvini P, Rodriguez G, Inguglia F, Mignone A, Guerra U, Nobili F. The basal ganglia matching tools package for striatal uptake semi-quantification: description and validation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2007;34(8):1240–53.
62. Mirzaei S, Zakavi R, Rodrigues M, Schwarzgruber T, Brücke T, Bakala J, et al. Fully automated 3D basal ganglia activity measurement in dopamine transporter scintigraphy (Spectalyzer). *Ann Nucl Med*. 2010;24(4):295–300.
63. EXINI Software. EXINI dat reports DaT SPECT scans, brilliantly [Internet]. [Consultado em 2016 Nov 13]. Disponível em: <http://exini.com/software/exini-dat/#features-81>.
64. Davidsson A, Georgiopoulos C, Dizdar N, Granerus G, Zachrisson H. Comparison between visual assessment of dopaminergic degeneration pattern and semi-quantitative ratio calculations in patients with Parkinson's disease and Atypical Parkinsonian syndromes using DaTSCAN® SPECT. *Ann Nucl Med*. 2014;28(9):851–9.
65. GE Healthcare. DaTQUANT [Internet]. [Consultado em 2016 Nov 13]. Disponível em: http://www3.gehealthcare.com/en/products/categories/nuclear_medicine/xeleris_work_stations_and_applications/datquant.

66. Wellcome Trust Centre for Neuroimaging. SPM – Statistical Parametric Mapping [Internet]. University College London, UK. [Consultado em 2017 Ag 30]. Disponível em: <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>
67. Takada S, Yoshimura M, Shindo H, Saito K, Koizumi K, Utsumi H, et al. New semiquantitative assessment of ¹²³I-FP-CIT by an anatomical standardization method. *Ann Nucl Med*. 2006;20(7):477–84.