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

Avaliação do volume do hipocampo por ressonância magnética em cães com síndrome de disfunção cognitiva.

Mestrando:
António Luís Videira Pinheiro de Almeida

Orientadores:
Professor Doutor Hugo Alexandre Ferreira, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa - IPL
Professora Doutora Maria João Carapinha, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa - IPL

Mestrado em Radiações Aplicadas às Tecnologias da Saúde - Imagem por Ressonância Magnética
13ª Edição - Ano letivo 2023/2024

Lisboa, 2024

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

Avaliação do volume do hipocampo por ressonância magnética em cães com síndrome de disfunção cognitiva.

Mestrando:
António Luís Videira Pinheiro de Almeida

Orientadores:
Professor Doutor Hugo Alexandre Ferreira, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa - IPL
Professora Doutora Maria João Carapinha, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa – IPL

Jurí:
Professora Doutora Margarida Pinto Ribeiro, ESTeSL
Professor Doutor Ricardo Jorge Faustino, ESSCVP

Mestrado em Radiações Aplicadas às Tecnologias da Saúde - Imagem por Ressonância Magnética
13ª Edição - Ano letivo 2023/2024

(esta versão incluiu as críticas e sugestões feitas pelo júri)

Lisboa, 2024

Agradecimentos

Obrigado, Visa.

Ao Professor Hugo Alexandre Ferreira agradeço a dedicação e preciosa ajuda na orientação deste trabalho, com o rigor e competência que lhe são conhecidos.

À Professora Maria João Carapinha pelo apoio prestado na organização desta tese, pela justeza dos seus comentários, fruto da sua experiência e qualificações profissionais.

Resumo e palavras-chave

A ressonância magnética é uma técnica de imagem de particular interesse na área da neurologia, permitindo a obtenção de dados biométricos, tais como o volume do hipocampo, usado como marcador para a Doença de Alzheimer (DA). Em cães, a Síndrome de Disfunção Cognitiva (SDC) é uma doença neurodegenerativa com paralelismos com a DA. O diagnóstico é feito através de inquérito realizado aos tutores, não existindo parâmetros biológicos objetivos que possam ser medidos e que sejam úteis em ambiente clínico.

Esta dissertação pretende avaliar a possível correlação entre o volume do hipocampo e a SDC canina, com recurso à imagiologia por ressonância magnética. A hipótese é que, tal como nos doentes humanos, também nos cães com a referida síndrome existe redução do volume do hipocampo.

Foram realizadas ressonâncias magnéticas ao encéfalo de 24 pacientes com mais de 2 anos que se apresentaram na Faculdade de Medicina Veterinária para realização de exame com anestesia, tendo 9 o diagnóstico de SDC e 15 pertencendo ao grupo de controlo. O volume do hipocampo foi medido com recurso a software de segmentação, tendo sido comparados os resultados dos dois grupos. Para normalizar as diferenças entre raças de cães, foi determinado o rácio hipocampo / encéfalo, dividindo o volume do hipocampo pelo volume do encéfalo em cada caso.

O estudo revelou que existe uma diferença estatisticamente significativa entre o rácio hipocampo / encéfalo e o diagnóstico de disfunção cognitiva, tendo os pacientes com SDC um rácio inferior (1,14 %), em comparação com os animais sem SDC (1,68 %) ($p < 0,001$).

Palavras-chave: Imagiologia por ressonância magnética; Síndrome de Disfunção Cognitiva; cão; Doença de Alzheimer; hipocampo.

Abstract and Keywords

Magnetic resonance imaging is an imaging technique of particular interest in the field of neurology, enabling the acquisition of biometric data such as hippocampal volume, which is used as a biomarker for Alzheimer's disease. In canines, cognitive dysfunction syndrome is a neurodegenerative disease with parallels to Alzheimer's disease. Diagnosis is made through surveys conducted with caregivers, as there are no objective biological parameters that can be measured and that are useful in a clinical setting.

This dissertation aims to evaluate the possible correlation between hippocampal volume and canine cognitive dysfunction syndrome, utilizing magnetic resonance imaging. The hypothesis is that, as in human patients, there is also a reduction in hippocampal volume in dogs with cognitive dysfunction syndrome.

Magnetic resonance imaging was conducted on the brains of 24 patients over the age of 2 years who were presented at the Veterinary Medicine College for examination under anesthesia. Of these, 9 were diagnosed with Cognitive Dysfunction Syndrome and 15 were assigned to the control group. The hippocampal volume was measured using segmentation software, and the results of the two groups were compared. To normalize differences between dog breeds, the hippocampus-to-brain ratio was determined by dividing the hippocampal volume by the brain volume in each case.

The study revealed a statistically significant difference between the hippocampus-to-brain ratio and the diagnosis of cognitive dysfunction, with patients with cognitive dysfunction having a lower ratio (1.14%), compared to animals without the syndrome (1.68%) ($p < 0.001$).

Keywords: Magnetic resonance imaging; Cognitive dysfunction; dog; Alzheimer’s disease; hippocampus.

Esta página foi propositadamente deixada em branco.

Índice Geral

Índice Geral ..... *vii*

Índice de tabelas ..... *ix*

Índice de figuras ..... *xi*

Lista de siglas e abreviaturas ..... *xiii*

1 Introdução *1*

1.1. Organização da dissertação **2**

1.2. Estado da arte **2**

1.2.1. Estudos em medicina humana 3

1.2.2. Estudos em pacientes caninos 4

1.3. Justificação do estudo **6**

1.4. Objetivo geral e objetivos específicos **8**

2 Enquadramento teórico *9*

2.1. Ressonância magnética **9**

2.2. Hipocampo **12**

2.2.1. Hipocampo humano 12

2.2.2. Hipocampo canino 13

2.3. Doença de Alzheimer **14**

2.4. Síndrome de disfunção cognitiva em cães **15**

3 Metodologia *17*

3.1. Natureza do estudo **17**

3.1.1. Tipo de estudo 17

3.1.2. Local de estudo 17

3.1.3. População-alvo e amostra 17

3.1.4. Variáveis do estudo 18

3.1.5. Considerações éticas 19

3.2. Procedimento de recolha de dados **19**

3.2.1. Inquérito 19

3.2.2. Equipamento de imagiologia por ressonância magnética 20
3.2.3. Preparação e posicionamento do paciente 21
3.2.4. Aquisição de imagens 23
3.2.5. Cálculo do volume do hipocampo e do encéfalo 27

4 Resultados: apresentação e discussão 31

4.1. Avaliação do volume do hipocampo 31

4.2. Análise descritiva 31

4.2.1. Síndrome de disfunção cognitiva 32
4.2.2. Sexo 33
4.2.3. Idade 34
4.2.4. Peso 35
4.2.5. Volume do Hipocampo 36
4.2.6. Volume do encéfalo 37

4.3. Análise correlacional 39

4.3.1. Relação entre o volume do hipocampo e a idade 39
4.3.2. Relação entre síndrome de disfunção cognitiva e a idade 41
4.3.3. Relação entre o volume do hipocampo e o sexo 42
4.3.4. Relação entre síndrome de disfunção cognitiva e sexo 44
4.3.5. Relação entre o volume do hipocampo e o peso 45
4.3.6. Relação entre o volume do encéfalo e o peso 46
4.3.7. Relação entre o volume do hipocampo e a síndrome de disfunção cognitiva 48
4.3.8. Relação entre o volume do hipocampo e pontuação do inquérito 50

4.4. Volume do encéfalo de acordo com três sequências de ressonância 52

4.4.1. Análise descritiva 52
4.4.2. Diferença entre a sequência *standard* e a sequência rápida 54
4.4.3. Diferença entre sequência *standard* e a sequência ultra-rápida 55
4.4.4. Discussão 56

5 Conclusão 57

5.1. Volume do hipocampo e síndrome de disfunção cognitiva em cães 57

5.1.1. Outras associações 58

5.2. Avaliação do volume do encéfalo de acordo com três sequências 58

6 Referências bibliográficas 59

Índice de tabelas

Tabela 3.1 - Parâmetros da sequência 3D ponderada em T1. 24
Tabela 3.2 - Parâmetros de sequências ponderadas em T2. 25
Tabela 4.1 - População do estudo. 31
Tabela 4.2 - População amostrada. 32
Tabela 4.3 - Testes de normalidade. Pontuação no inquérito. 33
Tabela 4.4 - Relação entre sexo e diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva. 34
Tabela 4.5 - Testes de normalidade. Idade. 35
Tabela 4.6 - Relação entre idade e diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva. .35
Tabela 4.7 - Testes de normalidade. Peso. 36
Tabela 4.8 - Testes de normalidade. Volume do hipocampo. 37
Tabela 4.9 - Testes de Normalidade. Rácio entre volume do encéfalo e peso. 38
Tabela 4.10 - Relação entre o volume do hipocampo e a idade. 39
Tabela 4.11 - Relação entre a idade e síndrome de disfunção cognitiva. 41
Tabela 4.12 - Relação entre o volume do hipocampo e o sexo. 43
Tabela 4.13 - Relação entre sexo e síndrome de disfunção cognitiva. 44
Tabela 4.14 - Relação entre sexo e síndrome de disfunção cognitiva. 44
Tabela 4.15 - Correlação entre o peso e o rácio hipocampo / encéfalo. 45
Tabela 4.16 - Relação entre peso e volume do encéfalo. 46
Tabela 4.17 - Relação entre o volume do hipocampo e síndrome de disfunção canina. 48
Tabela 4.18 - Teste de Mann-Whitney. Relação entre rácio hipocampo / encéfalo e diagnóstico de síndrome de disfunção canina. 50
Tabela 4.19 - Relação entre o volume do hipocampo e a pontuação no inquérito. 50
Tabela 4.20 - Medição dos volumes dos encéfalos de acordo com as três sequências. 53
Tabela 4.21 - Teste de Wilcoxon comparando a sequência standard e a sequência rápida. 55
Tabela 4.22 - Teste de Wilcoxon comparando a sequência standard e a sequência ultra-rápida. 55

Esta página foi propositadamente deixada em branco.

Índice de figuras

Figura 1.1 - Volume do hipocampo direito em pacientes com Alzheimer (AD), doença cognitiva ligeira (MCI) e grupo de controlo (CN). 4
Figura 1.2 - Volume do hipocampo em pacientes normais e com sindrom de disfunção canina. 5
Figura 1.3 - Relação entre volume do hipocampo e idade, em pacientes sem alterações cognitivas. 6
Figura 1.4 - Ressonância magnética a crânio de cão. 7
Figura 2.1- Raymond Damadian no primeiro exame sem sucesso devido ao excesso de gordura do paciente. 9
Figura 2.2 - Alinhamento dos átomos após aplicação de um campo magnético externo. 10
Figura 2.3 - Exemplo de um corte de encéfalo em sequência ponderada em T2*. 11
Figura 2.4 - Imagens coronal, sagital e axial do hipocampo em ressonância magnética. 12
Figura 2.5 - Visualização do hipocampo. 12
Figura 2.6 – Anatomia do encéfalo canino em RM. 13
Figura 2.7- Deposição de placas amiloides em cérebro canino. 15
Figura 3.1 - Paciente com hidrocefalia, excluído do estudo. 18
Figura 3.2 - Bobina de joelho usada nos exames de encéfalo. 20
Figura 3.3 - Aparelho de anestesia Mindray Wato Ex-20. 22
Figura 3.4 - Posicionamento do paciente em decúbito esternal. 22
Figura 3.5 - Foto de artefacto causado pelo microchip. 23
Figura 3.6 - T2 Standard e rápida. 25
Figura 3.7 - Fator turbo. 26
Figura 3.8 - Cálculo do volume do hipocampo. 27
Figura 3.9 - Cálculo do volume do encéfalo. 28
Figura 3.10 - As três sequências a nível do bulbo olfativo 28
Figura 3.11 - Medição do volume do encéfalo a nível do bulbo 29
Figura 3.12 - As três sequências a nível da fossa craniana média 29
Figura 3.13 - Segmentação do encefálo 30
Figura 4.1 - Pontuação no inquérito. 33
Figura 4.2 - Distribuição por sexo. 33
Figura 4.3 – Idade dos pacientes com e sem síndrome de disfunção cognitiva. 34

Figura 4.4 - Distribuição dos pesos na população estudada. 36
Figura 4.5 - Média do rácio volume do hipocampo / volume do encéfalo.....37
Figura 4.6 - Volume médio do hipocampo como proporção do volume total do cérebro. 40
Figura 4.7 - Relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a idade.....40
Figura 4.8 - Média de Idade por síndrome de disfunção cognitiva. 42
Figura 4.9 - Média de hipocampo / encéfalo por sexo. 43
Figura 4.10 - Relação entre hipocampo / encéfalo e peso.....46
Figura 4.11 - Relação entre o volume do encéfalo e o peso.....47
Figura 4.12 - Rácio hipocampo / encéfalo em cães com e sem SDC.....49
Figura 4.13 - Relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação. 51
Figura 4.14 - Volume do encéfalo em cm^3 de acordo com as três sequências. 52
Figura 4.15 - Plot de Bland-Altman comparando sequência standard e rápida. 53
Figura 4.16 - Plot de Bland-Altman comparando sequência standard e ultra-rápida. ...54

Lista de siglas e abreviaturas

ASA Sociedade Americana de Anestesiologistas (do acrónimo em inglês, *American Society of Anesthesiologists*)

DICOM *Digital Imaging and Communications in Medicine*

DP Desvio-padrão

FA Ângulo de Nutação (do acrónimo em inglês, *Flip Angle*)

FOV Campo-de-Visão (do acrónimo em inglês, *Field-of-View*)

GRE Eco de Gradiente (do acrónimo em inglês, *Gradient echo*)

IRM Imagiologia por Ressonância Magnética

NSA Número de Excitações (do acrónimo em inglês, *Number of Signal Averages*)

RSSG *RF-Spoiled* GRE

RM Ressonância Magnética

SDC Síndrome de Disfunção Cognitiva

Sig Significância

SNR Relação Sinal-Ruído (do acrónimo em inglês, *Signal-to-Noise Ratio*)

SPSS *Statistical Package for the Social Sciences*

TE Tempo de Eco

TR Tempo de Repetição

TSE *Turbo Spin-Echo*

Esta página foi propositadamente deixada em branco.

1 Introdução

Aliando a minha paixão por animais ao acesso privilegiado a um equipamento de imagiologia por ressonância magnética (IRM) e ao desejo contínuo de adquirir e aprimorar competências, tentei conceber uma dissertação que entrelaçasse o mundo da tecnologia com o campo da medicina veterinária.

Em cães, a síndrome de disfunção cognitiva (SDC) é uma doença neurodegenerativa com paralelismos com a Doença de Alzheimer (DA). Em medicina humana, existem diversos marcadores biológicos que podem ser usados para obter um diagnóstico médico, entre os quais o volume hipocampal, que pode ser medido com recurso à IRM e *software* de análise de imagem. Em cães, o diagnóstico só é possível através de um inquérito realizado aos tutores.

O presente estudo pretende avaliar uma possível correlação entre o volume do hipocampo e a SDC em cães.

1.1. Organização da dissertação

O presente trabalho está estruturado em cinco capítulos. Inicialmente, apresenta-se uma parte introdutória que estabelece as bases para a investigação. Segue-se o capítulo 2, definindo o enquadramento teórico que sustenta o estudo. No capítulo 3, a metodologia adotada é então descrita, permitindo a replicação e compreensão dos procedimentos utilizados. Posteriormente, a apresentação e discussão de resultados, no capítulo 4, onde se procede à análise descritiva e quantitativa dos dados recolhidos, explorando as relações e padrões emergentes. Por fim, o capítulo 5, a conclusão sintetiza os principais achados e reflete sobre as suas implicações e o alcance do estudo.

1.2. Estado da arte

Para melhor avaliar o estado da arte em relação à problemática da relação entre o volume do hipocampo e a SDC canina foi primeiro realizada uma pesquisa livre em língua inglesa nas bases de dados PubMed, Google Scholar e *Radiological Society of North America* (RSNA), utilizando as palavras-chave "*mri*", "*hippocampal*", "*hippocampus*", "*dog*" e "*cognitive dysfunction*". Não foram considerados critérios de exclusão relacionados com o ano de publicação dos estudos. Devido ao pequeno número de estudos com interesse para a temática, foi também feita uma pesquisa usando as mesmas bases de dados, mas com foco na doença em humanos. Foi realizada uma pesquisa livre na língua inglesa "*mri", "hippocampal", "hippocampus" e "Alzheimer"*. Foi feita uma seleção não exaustiva de artigos com base na metodologia SANRA (*Scale for the Assessment of Narrative Review Articles*) (1), que permite uma avaliação objetiva e sumária dos estudos, tendo sido escolhidos alguns estudos com uma pontuação superior a 6 em 12, de acordo com a metodologia referida (Anexo 1).

1.2.1. Estudos em medicina humana

Apresentam-se de seguida os três estudos considerados mais relevantes para a temática em questão usando a metodologia SANRA.

- “Combination of MRI hippocampal volumetry and arterial spin labeling MR perfusion at 3-Tesla improves the efficacy in discriminating Alzheimer's disease from cognitively normal elderly adults” (2).

Neste estudo de 2014, foram submetidas 28 pessoas (13 adultos com DA e 15 pessoas no grupo de controlo, considerados cognitivamente normais) a exame de IRM num equipamento de 3 Tesla. Foram adquiridas sequências 3D ponderadas em T1 *Fast Field Echo*, e o volume dos hipocampos esquerdo e direito foram avaliados manualmente com o *software* ANALYZE (AnalyzeDirect, Inc). Foram avaliados outros parâmetros, como o fluxo sanguíneo cerebral. Demonstrou-se que tanto o volume do hipocampo como o fluxo cerebral em separado podem ser usados para auxiliar o diagnóstico de DA, mas que os melhores resultados são obtidos quando são usados ambos os parâmetros em conjunto. Usando apenas a volumetria do hipocampo existe uma sensibilidade entre 80% e 90% na deteção de DA.

- “Integrating longitudinal information in hippocampal volume measurements for the early detection of Alzheimer’s disease” (3).

Chincarini e a sua equipa (3) avaliaram 460 pacientes, incluindo pacientes sem doença clínica, com deficits cognitivos moderados e com DA. Foi realizada a volumetria do hipocampo e também considerada a evolução da volumetria do hipocampo nestes pacientes ao longo do tempo. Para tal foi feito um exame inicial, que foi repetido aos 12 e 24 meses. A investigação concluiu que a velocidade de progressão de declínio do volume era progressivamente maior em pacientes sem doença, com deficits cognitivos moderados e com DA, respetivamente, podendo fornecer informação com interesse clínico.

- “Hippocampal atrophy-based Alzheimer’s disease diagnosis via machine learning methods” (4).

Com recurso a algoritmos de aprendizagem automática, foram avaliadas imagens de sequências ponderadas em T1 de IRM de 217 pacientes com SDC moderada, 159 pacientes com DA e 109 pacientes com mais de 60 anos, mas sem déficits cognitivos. Este estudo usou imagens da base de dados da *Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative*. Assim, foi possível fazer a distinção não só entre os pacientes sem deficits e com DA, mas também entre os pacientes com déficits cognitivos moderados e os pacientes com DA (Figura 1.1).

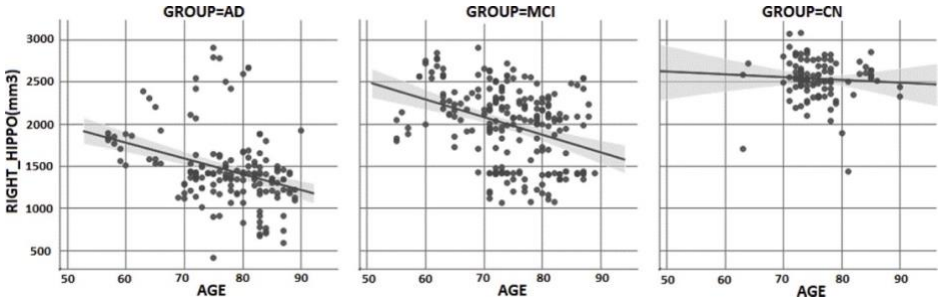


Figura 1.1 - Volume do hipocampo direito em pacientes com Alzheimer (AD), doença cognitiva ligeira (MCI) e grupo de controlo (CN) (4).

1.2.2. Estudos em pacientes caninos

Em cães, a temática está menos explorada e os estudos avaliados são em menor número. Apesar de haver estudos que relacionam o volume do hipocampo com a prevalência de epilepsia (5) e de outros parâmetros como a adesão intertalâmica em tomografia computorizada (6) e IRM (7) e a SDC, existem poucos estudos que relacionem o volume do hipocampo e a SDC.

Como estudos de maior interesse (e na realidade os únicos a abordar o tema), considerou-se:

- “Canine cognitive dysfunction patients have reduced total hippocampal volume compared with aging control dogs: A comparative magnetic resonance imaging study” (8).

O único estudo em que se avalia o volume do hipocampo em cães com SDC é um estudo retrospetivo onde se comparou um grupo de controlo de 26 cães sem alterações neurológicas e 16 pacientes com sinais de SDC. Foram usados dados provenientes de 5 instituições, usando 6 equipamentos de ressonância magnética de alto campo. Devido à muito grande variabilidade na dimensão dos encéfalos, pela utilização de pacientes com raças diferentes, foi feita uma normalização do volume do hipocampo em relação ao volume total do encéfalo (Figura 1.2). O estudo sugere que, tal como em pacientes humanos, a atrofia do hipocampo é uma característica da SDC. Uma das limitações do estudo, transversal a quase todos os estudos em medicina veterinária é o facto de ter sido usada uma amostra pequena.

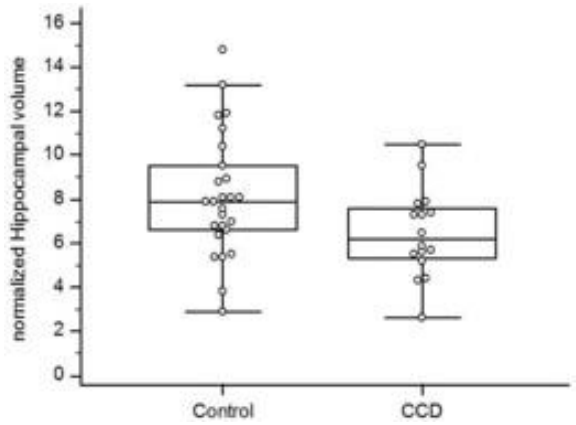


Figura 1.2 - Volume do hipocampo em pacientes normais e com síndrome de disfunção cognitiva (8).

- "Changes of magnetic resonance imaging on the brain in beagle dogs with aging" (9).

Este estudo de 2005 mediu quatro parâmetros radiómicos em cães de raça *beagle*, sem sinais de SDC ou de qualquer outra patologia do foro neurológico. Foi medido o volume do ventrículo lateral, volume de hipocampo e avaliadas áreas de hipointensidade de sinal em sequências ponderadas em T2 a nível do *globus pallidus* e da *substancia nigra*. Foram usados 19 cães entre os 8 meses e 16 anos de idade, criados em condições de laboratório semelhantes e controladas. Foi usado o mesmo equipamento de 4.7 Tesla na realização dos exames de IRM. O ponto forte deste estudo em relação ao anterior é de ser prospetivo e haver maior homogeneidade dos parâmetros do estudo, nomeadamente em relação aos pacientes e ao equipamento usado. É interessante realçar que neste estudo só se avaliaram animais considerados

saudáveis, o que de certa forma constitui um grupo de controlo para os estudos sobre SDC. A conclusão mais importante é que, em pacientes sem sintomatologia, não existe redução do volume do hipocampo com o avançar da idade (Figura 1.3).

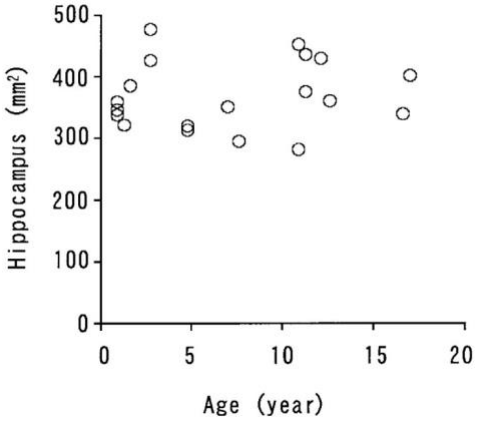


Figura 1.3 - Relação entre volume do hipocampo e idade, em pacientes sem alterações cognitivas (9).

No presente estado da arte é percetível a assimetria entre a riqueza de estudos com pacientes humanos e o número de estudos com pacientes caninos.

1.3. Justificação do estudo

A relação entre o volume do hipocampo e alterações de cognição, nomeadamente em pessoas com DA, está já bem fundamentada em humanos, havendo, como se viu, uma riqueza de estudos sobre o tema. Em pacientes caninos, apesar de estarem estabelecidos paralelismos entre a SDC e a DA (10), existe apenas uma publicação que tenta estabelecer a ligação entre o volume do hipocampo e a SDC. Este estudo visa contribuir para colmatar esta lacuna, dando o seu pequeno contributo para a ciência em geral.

A aquisição de um novo equipamento de IRM por parte do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária (Figura 1.4) e um interesse pronunciado na área da neuroimagem são o impulso para a realização deste estudo em particular, que se baseia em três necessidades principais.

Primeiro, observa-se um aumento da população geriátrica canina – a esperança média de vida dos animais tem vindo a aumentar, observando-se um aumento da incidência e prevalência de patologias do foro geriátrico.

Segundo, existe um aumento do interesse e da capacidade de investimento por parte dos tutores, que têm maior disponibilidade para exames avançados de imagem.

Finalmente, existe ainda um aumento crescente na disponibilidade de equipamentos de IRM para animais em Portugal. Apesar do uso de IRM em humanos estar amplamente difundido, o número de equipamentos disponíveis em medicina veterinária é reduzido, mas em franca expansão.

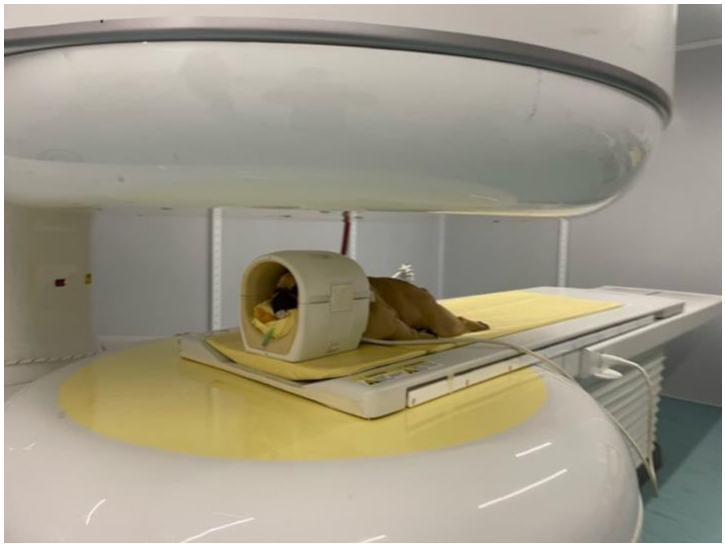


Figura 1.4 - Ressonância magnética a crânio de cão. Imagem original deste estudo.

Em comparação com a publicação previamente revista , existe a vantagem deste ser um estudo prospetivo com maior uniformização de vários parâmetros (como o equipamento). Como maiores limitações do estudo, identifica-se uma pequena amostra e um equipamento de baixo campo.

É igualmente importante assegurar a repetibilidade dos estudos. Ainda recentemente, e sobre a DA, a revista Nature teve de rever a publicação do artigo "*A specific amyloid-β protein assembly in the brain impairs memory*" (11), que serviu de base a muitos protocolos de tratamento nas últimas décadas, por surgirem dúvidas em alguns resultados apresentados, num estudo não reproduzido desde então.

1.4. Objetivo geral e objetivos específicos

O objetivo geral desta dissertação consiste em avaliar o volume do hipocampo em cães com e sem SDC. Os objetivos específicos são de:

1. Determinar o volume do hipocampo em cães com e sem diagnóstico de SDC.
2. Avaliar possíveis associações entre o volume do hipocampo e o diagnóstico de SDC.
3. Desenvolver protocolos e técnicas em RM *open-field* para medição do volume do encéfalo.

São objetivos secundários o estabelecimento de outras possíveis associações entre as variáveis em estudo e a familiarização com a anatomia encefálica dos cães, em IRM.

2 Enquadramento teórico

De forma a melhor enquadrar o estudo, apresenta-se uma descrição sucinta dos conceitos centrais ao tema de investigação, como sejam o fenómeno e equipamento de IRM, o hipocampo, a DA e a SDC canina.

2.1. Ressonância magnética

O fenómeno de ressonância magnética nuclear foi descrito nos anos 30 por Isidor Isaac Rabi (12), e nas décadas seguintes observou-se uma constante evolução do conhecimento nesta área. Em 1955, Erik Odeblad e Gunnar Lindström publicaram os primeiros trabalhos com células vivas e tecido animal, e no final dos anos 70 começaram a surgir os primeiros equipamentos de IRM com utilidade em contexto clínico. Com o trabalho de Raymond Damadian (Figura 2.1), entre outros, nos anos 70 e 80 formaram-se as bases do que seria a imagem por ressonância magnética que hoje conhecemos. Devido à conotação negativa do termo "nuclear", em particular nos anos 70, este caiu em desuso, sendo atualizada a nomenclatura para ressonância magnética (13). Em 2018, existiam 36 mil equipamentos de IRM em uso no mundo (14), sendo realizados aproximadamente 30 milhões de exames por ano.

Figura 2.1- Raymond Damadian no primeiro exame sem sucesso devido ao excesso de gordura do paciente (15).

Os equipamentos de IRM empregam um magneto potente capaz de produzir um campo magnético principal que força os protões em estudo a alinharem-se com o referido campo (Figura 2.2). Quando é aplicado um impulso de radiofrequência específico para os protões a estimular, existe modificação do estado energético destes. Quando o impulso de radiofrequência é desligado, e à medida que os átomos relaxam e se realinham com o campo magnético principal, existe libertação da energia ganha pelo impulso de radiofrequência. A máquina de IRM capta essa energia sob forma de radiofrequência e pode identificar a localização dos átomos, devido ao facto de estes girarem com velocidades e fases diferentes num gradiente de campo magnético aplicado, reconstruindo uma imagem dos tecidos em estudo. O tempo que leva para os protões a se realinharem com o campo magnético, bem como a quantidade de energia libertada, muda em função do ambiente e da natureza química das moléculas. É assim possível fazer a diferenciação entre vários tipos de tecidos com base nestas propriedades magnéticas, podendo esta tecnologia ser usada para detetar patologia (16).

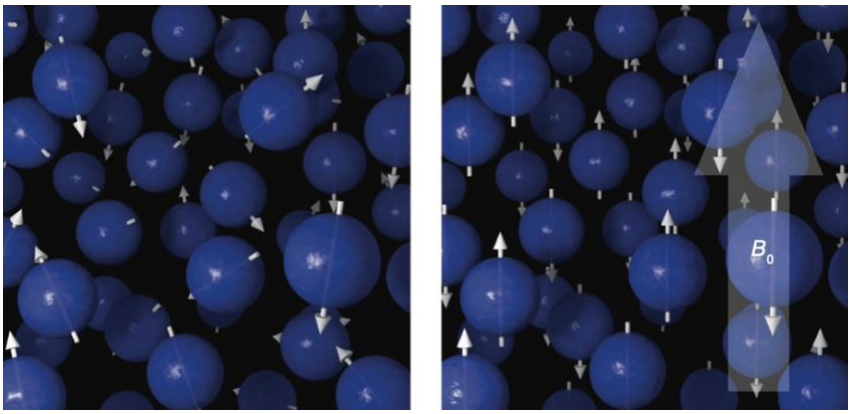


Figura 2.2 - Alinhamento dos átomos após aplicação de um campo magnético externo (17).

Agentes de contraste geralmente à base de gadolínio podem também ser administrados a um paciente por via endovenosa antes ou durante o exame de IRM para aumentar o contraste entre determinados tecidos. Os equipamentos de IRM são particularmente adequados para imagens de partes não ósseas ou tecidos moles do corpo (Figura 2.3) e têm como grande vantagem o facto de usarem radiação não ionizante, sendo menos prejudiciais para a saúde do que equipamentos que usem radiação X, ionizante, como os utilizados em radiografia e tomografia.

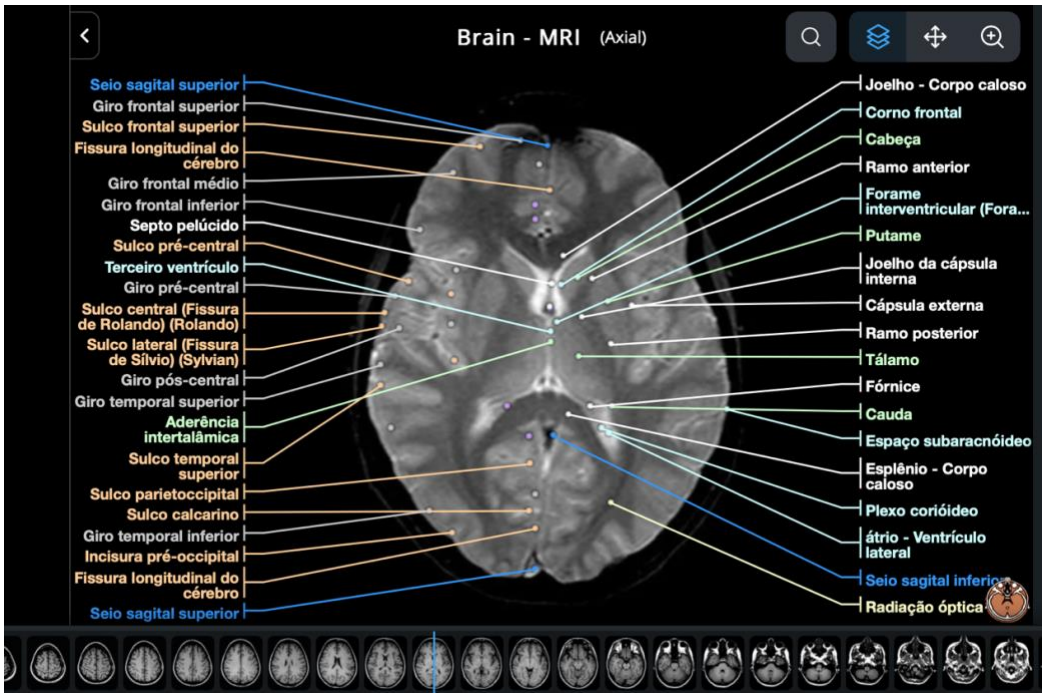


*Figura 2.3 - Exemplo de um corte de encéfalo em sequência ponderada em T2** (18).

Em medicina veterinária, o uso deste tipo de tecnologia está mais limitado devido ao custo do exame, ausência de sistema de saúde público para animais, à necessidade de anestesiar os pacientes e ao pequeno número de equipamentos disponíveis. Embora cada vez seja mais frequente o recurso a estes exames, a sua frequência de utilização não se aproxima dos registos praticados em medicina humana.

2.2. Hipocampo

O hipocampo faz parte do sistema límbico, um grupo de estruturas responsável por respostas comportamentais e emocionais. O hipocampo desempenha um papel fundamental na aprendizagem e na formação e armazenamento de memórias, localizando-se no sulco hipocampal, ventralmente ao corno temporal do ventrículo lateral, assemelhando-se grosseiramente a um cavalo-marinho (*Hippocampus hippocampus*) (Figura 2.4). É constituído por uma cabeça (posterior à amígdala), um corpo e uma cauda (19).

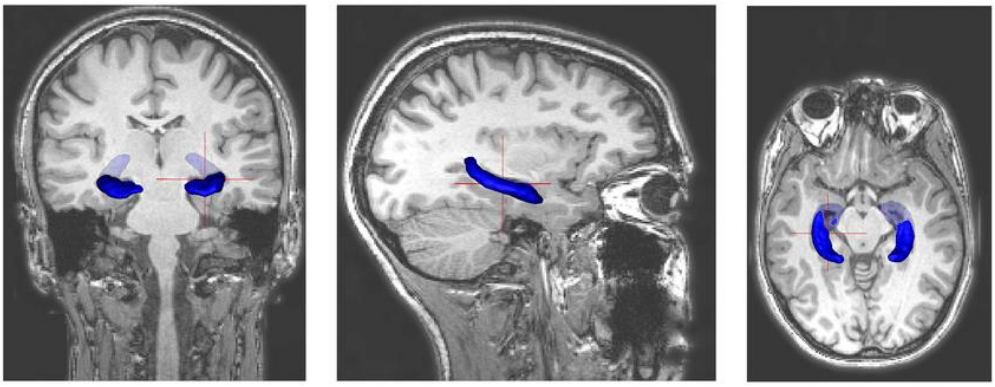


Figura 2.4 - Imagens coronal, sagital e axial do hipocampo em ressonância magnética (20).

2.2.1. Hipocampo humano

Em humanos, o hipocampo é mais facilmente visualizável no plano coronal, com uma angulação perpendicular ao eixo longo do corpo do hipocampo (Figura 2.5). As três porções do hipocampo podem ser identificadas com recurso a referências anatómicas locais.

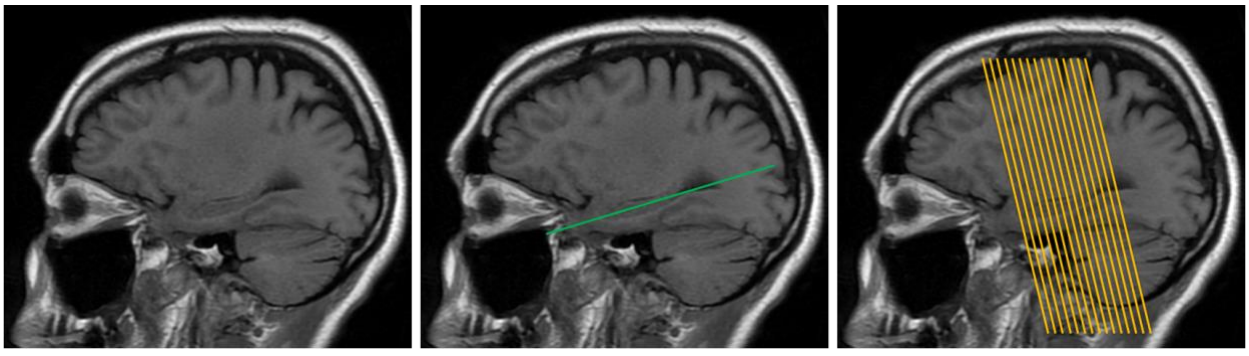


Figura 2.5 - Visualização do hipocampo, sendo o plano coronal (linhas amarelas) o mais relevante (21).

O volume do hipocampo está associado a alterações da cognição e formação de novas memórias, não só em indivíduos sãos (22) mas também em pessoas com doença neurológica como a DA. O volume do hipocampo pode ser usado não só na deteção precoce de doenças cognitivas, como no seu estadiamento (23).

2.2.2. Hipocampo canino

De forma semelhante aos humanos, o hipocampo canino está envolvido no processamento de informações espaciais e na formação de memórias de longo prazo. Estudos em cães têm mostrado que o hipocampo é extremamente ativo durante tarefas que envolvem navegação e reconhecimento de objetos ou pessoas. Além disso, pesquisas indicam que o envelhecimento pode afetar o hipocampo dos cães, potencialmente levando a declínios cognitivos semelhantes aos observados em humanos com doenças neurodegenerativas (24).

Em cães, o hipocampo é melhor identificado em sequências no plano transverso (Figura 2.6). Devido ao seu pequeno volume são necessárias sequências com boa resolução espacial (3D).

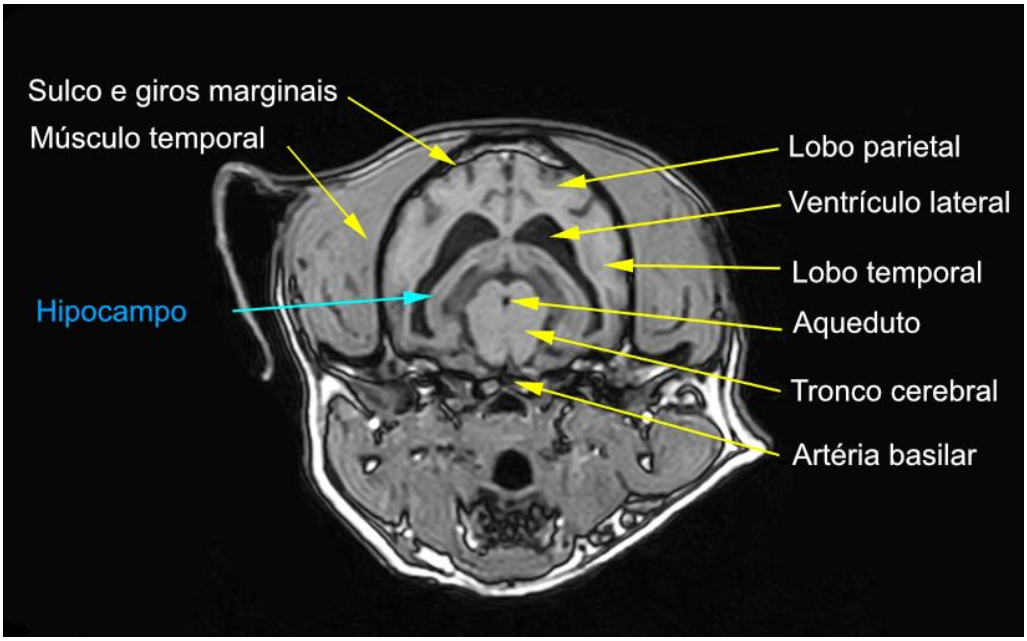


Figura 2.6 – Anatomia do encéfalo canino em RM. Imagem original deste estudo.

O hipocampo tem uma localização medial em relação aos ventrículos laterais, na parte média do lobo temporal, apresentando um formato alongado semelhante ao de um cavalo-marinho, como nos humanos. As diferenças no hipocampo entre humanos e cães refletem adaptações evolutivas. A estrutura no ser humano é otimizada para o processamento de memórias complexas e abstratas, enquanto nos cães está mais direcionada para a aprendizagem ambiental e a sobrevivência, utilizando sentidos como o olfato e a audição para orientação espacial e memória.

Em geral, embora o hipocampo humano e canino partilhem estruturas fundamentais, eles desenvolveram adaptações únicas para atender às necessidades específicas de memória de cada espécie.

2.3. Doença de Alzheimer

A DA é uma doença neurodegenerativa que se caracteriza pela deterioração progressiva da memória e cognição. Apesar de já ser conhecida na antiguidade, e de não ser nova a associação entre a idade e a diminuição das capacidades cognitivas, só no século XX se começaram a descrever lesões encefálicas características desta doença através do trabalho do Dr. Alois Alzheimer e do Dr. Emil Kraepelin (25). Em 1907 é publicado "*Uber eine eigenartige erkankung der hirnrinde*", pelo Dr. Alzheimer, primeira publicação científica sobre este tema (26), onde se descrevia aquilo que atualmente se chama de novelos neurofibrilares e placas amilóides.

É normal haver algum grau de redução do volume encefálico com a idade, mas em pessoas com DA existe uma diminuição generalizada do número de neurónios e de ligações interneuronais. Existem várias alterações moleculares descritas, como a deposição de placas de substância amiloide após quebra de uma proteína de maiores dimensões chamada proteína precursora da substância amiloide.

Os sintomas da DA incluem perda de memória, dificuldade na aprendizagem de novas ideias, dificuldades na leitura e escrita e no processamento de conceitos matemáticos. Em Portugal, estima-se uma prevalência de entre 80 mil e 112 mil pessoas com DA (27), representando cerca de 60 a 80% das demências diagnosticadas.

2.4. Síndrome de disfunção cognitiva em cães

A SDC em cães é uma síndrome neurológica que afeta cães idosos, estimando-se uma prevalência de cerca de 14% em animais com mais de 8 anos e de 60% em cães com mais de 15 anos (28). Cães com esta síndrome apresentam alterações como desorientação, interações alteradas com os tutores, com outros cães, e com o ambiente. Para além disso apresentam distúrbios do ciclo do sono, incontinência e modificações nas suas atividades diárias e dificuldade em aprender comandos novos ou até esquecer comandos previamente aprendidos e hábitos de higiene (29).

Cães idosos demonstram graus variáveis de declínio com características neuropatológicas similares às registadas em pessoas com DA. As placas de deposição amiloide (Figura 2.7) estão descritas como para os congéneres humanos, e as sequências de aminoácidos das proteínas precursoras de substância amiloide têm uma semelhança de 98,3% com as sequências em humanos. A síndrome é considerada o modelo canino da DA (30).

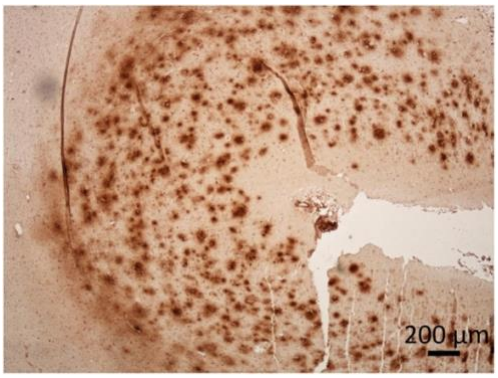


Figura 2.7- Deposição de placas amiloides em cérebro canino (30).

O diagnóstico da SDC em cães apresenta alguns desafios, visto não ser possível interrogar o paciente, baseando-se na anamnese detalhada e na observação dos sinais comportamentais. Não existem testes definitivos para a SDC, e o diagnóstico é frequentemente de exclusão, após eliminar outras causas médicas para os sintomas observados, como doenças sistémicas ou alterações sensoriais relacionadas com a idade (31).

Para os tutores, é fundamental reconhecer os primeiros sinais de SDC e procurar aconselhamento veterinário o mais cedo possível. Intervenções precoces podem não apenas retardar a progressão da SDC, mas também garantir que os cães mantenham uma boa qualidade de vida. Além disso, a educação contínua dos tutores sobre a saúde cognitiva canina pode prepará-los para os desafios que acompanham o envelhecimento de seus companheiros de estimação (32).

O diagnóstico é feito de forma indireta, através de um inquérito aos tutores, constituído por uma série de 13 perguntas às quais é atribuída uma pontuação. Quando a soma dos valores atribuídos a cada questão é igual ou superior a 50, considera-se que o animal tem SDC. Este questionário tem uma sensibilidade de 98% na deteção da SDC (33).

3 Metodologia

3.1. Natureza do estudo

3.1.1. Tipo de estudo

Trata-se de um estudo prospetivo, do tipo descritivo-correlacional de paradigma quantitativo.

3.1.2. Local de estudo

O presente estudo decorreu no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, na unidade de Imagiologia, após autorização do diretor clínico, Professor Doutor António Ferreira. Procedeu-se à recolha de dados no intervalo temporal entre 1 de setembro de 2023 e 1 de dezembro de 2023.

3.1.3. População-alvo e amostra

A população-alvo é constituída por cães com e sem diagnóstico de SDC que se apresentem para exames com anestesia geral no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa.

Consideram-se como Critérios de Inclusão:

- Cães com idade superior a 2 anos, com critérios clínicos para a realização de exames com anestesia.
- Tutores maiores de idade, com capacidade de fornecer consentimento informado.

Consideram-se como Critérios de Exclusão:

- Suspeita de lesões intracranianas (Figura 3.1).
- Pacientes com próteses intracranianas.

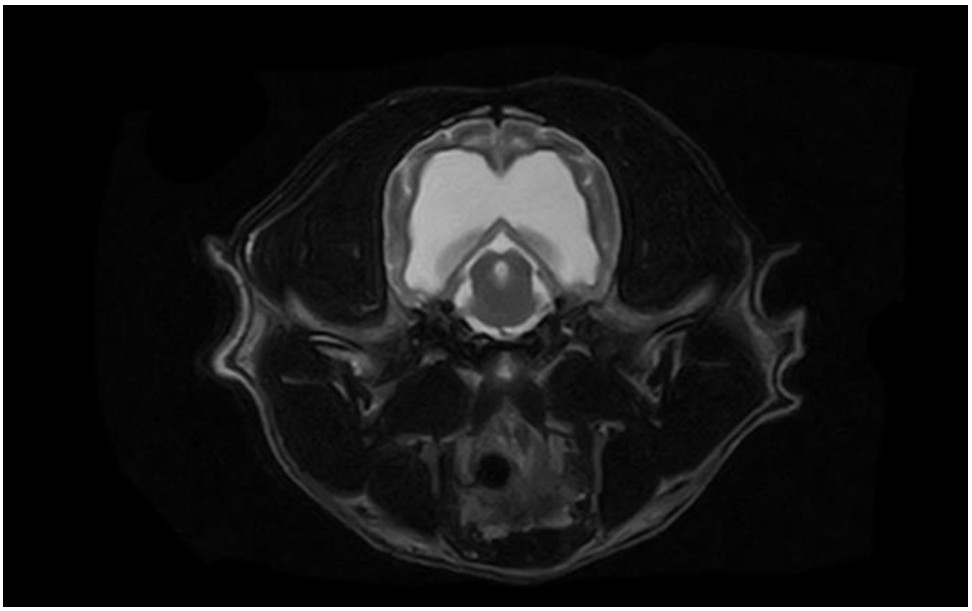


Figura 3.1 - Paciente com hidrocefalia, excluído do estudo. Imagem original deste estudo.

A amostra foi selecionada de forma não probabilística do tipo acidental, tendo sido usados maioritariamente animais com indicação médica para realização de tomografia imagiológica nas instalações do hospital escolar.

Os pacientes foram classificados em dois grupos (sem / com SDC) de acordo com a classificação obtida no inquérito.

Adicionalmente, foram realizadas as medições do volume do encéfalo usando três sequências distintas ponderadas em T2, tendo sido selecionados os animais de forma não probabilística, do tipo acidental.

3.1.4. Variáveis do estudo

As variáveis atributivas constituem variáveis não controláveis, dado serem características inatas dos pacientes. Neste estudo as variáveis atributivas são: o sexo; o volume do hipocampo; o peso; o volume do encéfalo; a pontuação no inquérito.

3.1.5. Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Conselho de Mestrado e Conselho Científico da Escola Superior de Tecnologias da Saúde de Lisboa. Foi igualmente obtida a aprovação do Conselho de Ética desta instituição (Anexo 2).

Foi ainda obtida a aprovação da Comissão de Ética para a Investigação e Ensino da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (Anexo 3).

A anonimidade dos dados dos doentes e dos seus tutores foi garantida por um número de identificação atribuído a cada animal que participou no estudo. Os dados foram guardados durante o tempo de realização do estudo numa base de dados MySQL® gerida exclusivamente pelo investigador principal, num servidor próprio.

3.2. Procedimento de recolha de dados

Neste capítulo, descreve-se o equipamento de RM empregado neste estudo, bem como as sequências de imagem utilizadas. Aborda-se também o processo de preparação e posicionamento do paciente para a realização do exame, assim como o questionário aplicado ao responsável pelo animal.

3.2.1. Inquérito

Antes da realização do exame de IRM foi feito um inquérito aos tutores consistindo em 13 perguntas às quais foi atribuída uma cotação (Apêndice 2). Este questionário foi traduzido do *Canine Cognitive Dysfunction Rating Scale* (34) e tem uma sensibilidade de 98% na deteção da SDC (33).

A cada pergunta é atribuída uma ponderação, e somando os valores, é considerado o diagnóstico de SDC em pacientes com um *score* igual ou superior a 50. Para além da informação fornecida aos tutores, foi também fornecido um link para um website com informação relativa à SDC canina (www.tomografia.vet). Não foi obtida

informação sobre a medicação em curso, tendo sido excluídos os pacientes com suspeita de ter uma lesão intracraniana. Uma das limitações desta metodologia reside no facto de se depender sempre da avaliação nem sempre objetiva dos próprios tutores, não havendo até agora marcadores biológicos que permitam chegar ao diagnóstico de SDC.

Após a avaliação e seleção dos participantes com base nos critérios estabelecidos para inclusão e exclusão neste estudo, obteve-se o consentimento informado, voluntário e devidamente esclarecido dos indivíduos para a sua participação na pesquisa (Apêndice 1).

3.2.2. Equipamento de imagiologia por ressonância magnética

Os exames foram todos realizados num equipamento Hitachi Aperto Lucent (Fujifilm Healthcare), com uma intensidade de campo de 0.4 Tesla. Sendo um equipamento projetado para pacientes humanos, foi necessário usar uma antena de joelho (Figura 3.2), por ser a que mais se adaptava às dimensões dos crânios dos pacientes.

Figura 3.2 - Bobina de joelho usada nos exames de encéfalo. Imagem original deste estudo.

O equipamento Hitachi Aperto Lucent está equipado com gradientes de campo magnético de magnitude 25 mT/m com uma rapidez de variação de 55 T/m/s e tem um design de pilar único que permite uma visão completa ao redor do paciente. Além disso,

a mesa possui um movimento lateral de ±150 mm, facilitando o posicionamento do paciente e otimizando o exame de IRM.

Foram realizados exames de ressonância magnética com avaliação do volume do encéfalo, numa sequência ponderada em T2 e do hipocampo, numa sequência 3D ponderada em T1.

Foram também realizados exames de ressonância magnética com avaliação do volume do encéfalo em três sequências ponderadas em T2. O objetivo deste estudo foi de verificar a possibilidade de realização de sequências rápidas para determinação do volume do encéfalo.

3.2.3. Preparação e posicionamento do paciente

Todos os animais realizaram o exame de IRM sob anestesia geral. O protocolo anestésico foi selecionado tendo em consideração as particularidades do paciente, após avaliação pelo protocolo da Associação Americana de Anestesiologistas (ASA), para determinar risco do paciente (35). Foi realizado um painel de análises sanguíneas, incluindo hemograma e painel básico de bioquímicas consistindo nos valores de ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, glucose, cálcio e proteínas totais.

3.2.3.1. Sedação

Os pacientes foram pré-medicados com midazolam (0,2 mg/kg) (Dormazolam® 5 mg/mL, Dechra) e butorfanol (0,2 mg/kg) (Torphadine® 1 mg/ml). A indução anestésica foi feita com propofol (4 mg/kg) (Lipuro® 10 mg/mL). A manutenção da anestesia foi realizada com recurso a anestesia volátil com isoflurano (IsoFlo®), fornecida por um aparelho de anestesia Mindray (China) Wato Ex-20 (Figura 3.3) após entubação com tubo endotraqueal de Magill. Em nenhum caso foi necessário recorrer a ventilação mecânica.

Figura 3.3 - Aparelho de anestesia Mindray Wato Ex-20. Imagem original deste estudo.

3.2.3.2. Posicionamento

Os pacientes foram posicionados em decúbito esternal sobre a mesa de exame, e foi colocada a bobine de joelho em volta do crânio. Os membros torácicos e pélvicos foram estendidos caudalmente (Figura 3.4).

Figura 3.4 - Posicionamento do paciente em decúbito esternal. Imagem original deste estudo

Em dois pacientes foi necessária a remoção do *microchip* para realização do estudo (Figura 3.5). Embora o artefacto causado pelo *microchip* não interfira diretamente com as sequências usadas no presente estudo, os dois pacientes foram sujeitos a IRM para diagnóstico de hérnia de disco cervical.

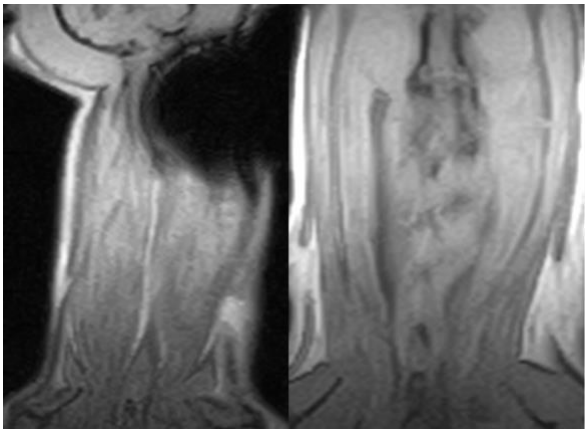


Figura 3.5 - Foto de artefacto causado pelo microchip antes(imagem esquerda) e após remoção (imagem direita). Imagens originais deste estudo.

3.2.4. Aquisição de imagens

3.2.4.1. Hipocampo

Foi usada uma sequência 3D ponderada em T1 (Tabela 3.1). Esta sequência foi escolhida devido à elevada resolução de contraste. As imagens ponderadas em T1 proporcionam excelente contraste entre os diferentes tecidos moles. Isso faz com que o hipocampo, que é uma estrutura de substância cinzenta, se destaque claramente em relação à substância branca circundante e ao líquido cefalorraquidiano, facilitando a delimitação precisa para a medição do volume. Devido ao pequeno volume do hipocampo, foi necessária a escolha de uma sequência que permitisse igualmente uma elevada resolução espacial. Finalmente, as sequências ponderadas em T1 são frequentemente usadas para estudos volumétricos porque fornecem valores de intensidade consistentes que são adequados para várias análises quantitativas, como medições de volume usando *software* de segmentação.

Tabela 3.1 - Parâmetros da sequência 3D ponderada em T1. Dados originais deste estudo.

Parâmetro	Sequência 3D ponderada em T1
Tempo	5m 46 s
Plano de Corte	Transverso 3D
Campo-de-Visão (FOV)	200 mm x 200 mm
Tempo de Repetição (TR)	30 ms
Tempo de Eco (TE)	10 ms
Ângulo de nutação (FA)	40º
Espessura	1.5 mm
Sequência	RSSG
Frequência	256
Fase	192
Matriz de Reconstrução	512
Número de Excitações (NSA)	2
Half Scan	Off

3.2.4.2. Encéfalo

Tendo em consideração o grande intervalo nas dimensões dos pacientes, foi necessário fazer a medição do volume do encéfalo para calcular o rácio entre o volume do hipocampo e o volume do encéfalo. Foi usada uma sequência ponderada em T2 (sequência *standard*) que faz parte do protocolo de exames de encéfalo usado na instituição.

Para além do estudo principal, foi também realizado um estudo acessório, onde se mediu o volume do encéfalo em duas sequências rápidas ponderadas em T2, para além da sequência *standard*. O objetivo deste segundo estudo foi de tentar desenvolver sequências mais rápidas para a avaliação do volume total do encéfalo, embora com prejuízo na qualidade da imagem (Figura 3.6).

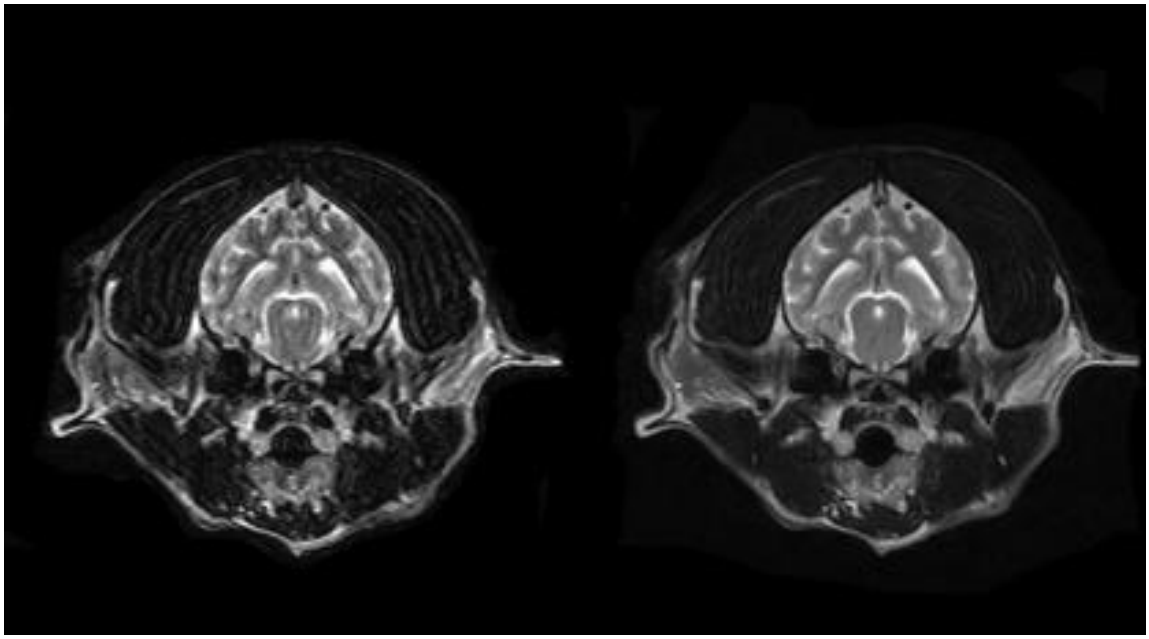


Figura 3.6 - T2 Standard (direita) e rápida (esquerda). Imagens originais deste estudo.

Para obter sequências mais rápidas foram alterados parâmetros das sequências (Tabela 3.2) com consequente perda de sinal e de resolução espacial.

Tabela 3.2 - Parâmetros de sequências ponderadas em T2. Dados originais deste estudo.

Parâmetro	Sequência *Standard*	Sequência Rápida	Sequência Ultra-Rápida
Tempo	216 s	56 s	26 s
Plano de Corte	Transverso 2D FSE	Transverso 2D FSE	Transverso 2D FSE
FOV	220 mm x 220 mm	220 mm x 220 mm	220 mm x 220mm
TR	5000 ms	5000 ms	5000 ms
TE	100 ms	120 ms	90 ms
FA	90˚	90˚	90˚
Espessura	5 mm	5 mm	5 mm
Intervalo entre cortes	5 mm	5 mm	5 mm
Frequência	256	256	256
Fase	224	224	128
Matriz	512	512	512
NSA	2	1	1
Half Scan	Off	On	On
Fator turbo	10	11	15
Inter Echo Time	20 ms	20 ms	15 ms

Os principais parâmetros otimizados foram:

Fase: A resolução espacial de uma imagem de RM depende do campo-de-visão (FOV) e do tamanho da matriz. O tamanho da matriz corresponde ao número de etapas de codificação de frequência numa direção e o número de etapas de codificação de fase noutra direção no plano de imagem. Supondo que todos os outros parâmetros permaneçam constantes, a diminuição do número de codificações de fase permite uma redução marcada no tempo de exame, em prejuízo da resolução espacial. Esta redução do tamanho da matriz é acompanhada de um aumento ligeiro a nível da relação sinal-ruído (SNR).

***Number of Signal Averages (NSA)*:** Este parâmetro refere-se à quantidade de vezes que um determinado conjunto de dados é adquirido durante um exame. Este parâmetro é crucial para equilibrar a relação entre tempo de aquisição e qualidade da imagem. A escolha de um NSA de 1 em vez de 2 permite uma redução para metade do tempo de exame com um prejuízo de cerca de 40% ($\sqrt{2}$ - 1) do sinal.

Tempo de Eco, Fator turbo, e *Inter Eco Time*: O fator turbo (Figura 3.7) é outro parâmetro que influencia diretamente a velocidade de aquisição das imagens. Ao aumentar o fator turbo, é possível acelerar o processo de formação da imagem ao recolher vários ecos de sinal após um único impulso de excitação. Isso é particularmente útil para reduzir o tempo do exame. Na sequência ultra-rápida, foram usados 15 ecos por cada excitação, tendo sido reduzido o tempo entre ecos.

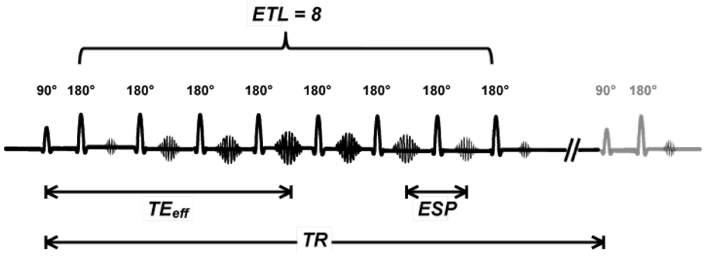


Figura 3.7 - Fator turbo (36).

***Half scan* / Simetria conjugada:** As sequências de simetria conjugada de fase utilizam os dados da metade superior do espaço k para fazer uma estimativa dos dados na metade inferior do espaço k. É assim possível adquirir dados com uma redução do

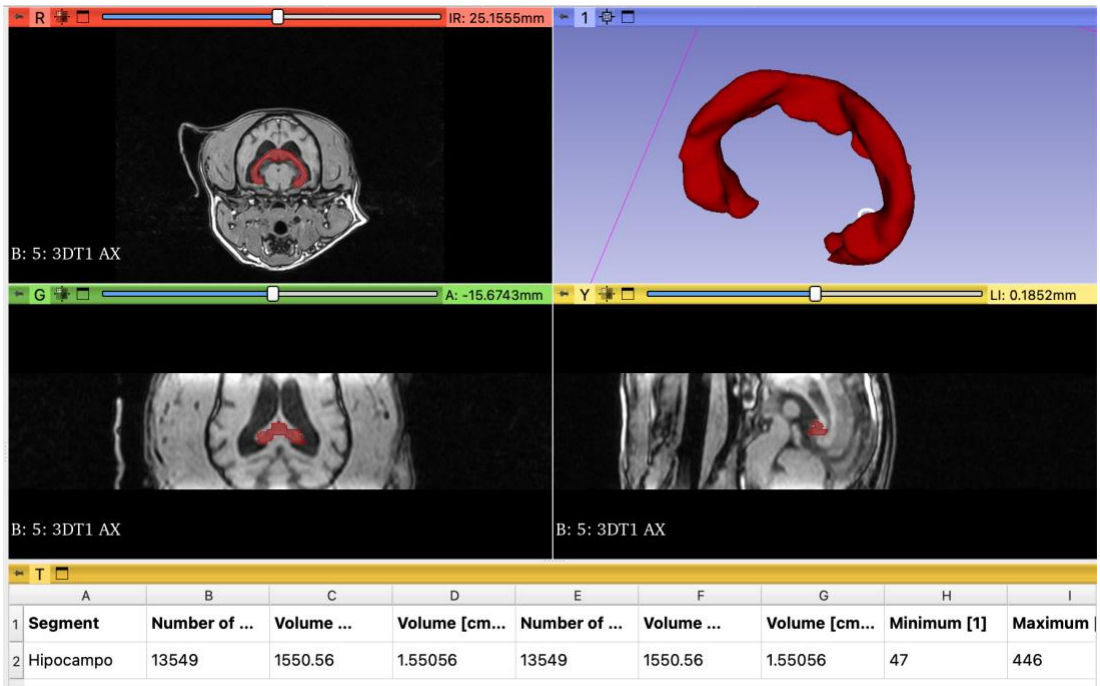
tempo de exame de cerca de 40%. Para imagens de simetria conjugada, a SNR é reduzida por um fator de (1 - √½), ou 30% menos do que uma sequência comparável usando o número total de passos de codificação de fase.

Ao optimizar estes parâmetros foi possível reduzir o tempo de exame, passando de 3 min e 36 s na sequência *standard* para 56 s na sequência rápida e 26 s na sequência ultra-rápida, com prejuízo da qualidade do sinal e resolução espacial.

3.2.5. Cálculo do volume do hipocampo e do encéfalo

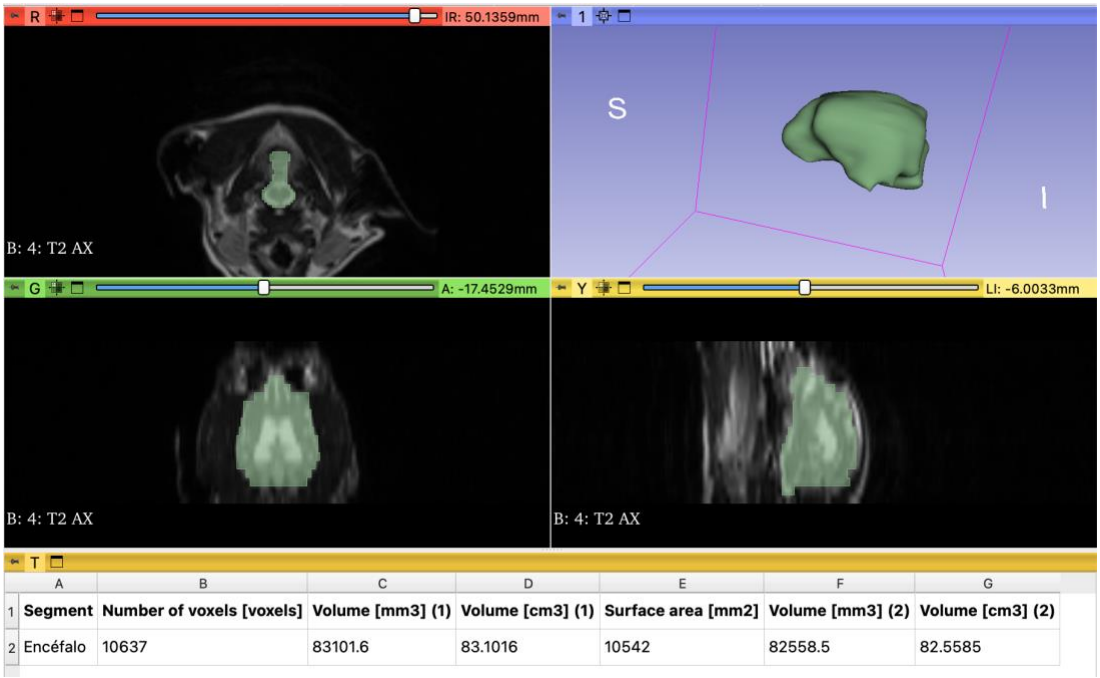
Para fazer o cálculo dos volumes do hipocampo e do encéfalo, foi utlizado o *software open source* 3D Slicer v5.4.0. O programa usa um processo chamado de segmentação, que consiste na seleção da estrutura de interesse nos diferentes cortes obtidos no exame de IRM, sendo construído um modelo 3D a partir desta seleção. O 3D Slicer calcula o volume deste modelo 3D integrando o volume de cada voxel dentro da área segmentada.

Foi calculado o volume do hipocampo dos pacientes (Figura 3.8) e do encéfalo (Figura 3.9), calculando a área da região-de-interesse em cada um dos cortes do estudo.



	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	**Segment**	**Number of ...**	**Volume ...**	**Volume [cm...**	**Number of ...**	**Volume ...**	**Volume [cm...**	**Minimum [1]**	**Maximum**
2	Hipocampo	13549	1550.56	1.55056	13549	1550.56	1.55056	47	446

Figura 3.8 - Cálculo do volume do hipocampo. Imagem original deste estudo.



	A	B	C	D	E	F	G
1	**Segment**	**Number of voxels [voxels]**	**Volume [mm3] (1)**	**Volume [cm3] (1)**	**Surface area [mm2]**	**Volume [mm3] (2)**	**Volume [cm3] (2)**
2	Encéfalo	10637	83101.6	83.1016	10542	82558.5	82.5585

Figura 3.9 - Cálculo do volume do encéfalo. Imagem original deste estudo.

Para além deste estudo, foi medido o volume do encéfalo usando as três aquisições ponderadas em T2 (*standard*, rápida e ultra-rápida) nos 20 pacientes. O volume do encéfalo foi assim medido, integrando as sucessivas áreas do encéfalo em cada corte. A delimitação do encéfalo é mais difícil em certas regiões, como a nível do bulbo olfativo, sendo a diferença na qualidade das imagens obtidas evidente (Figura 3.10). Os resultados da demarcação do encéfalo são mais heterogéneos nesta zona (Figura 3.11).

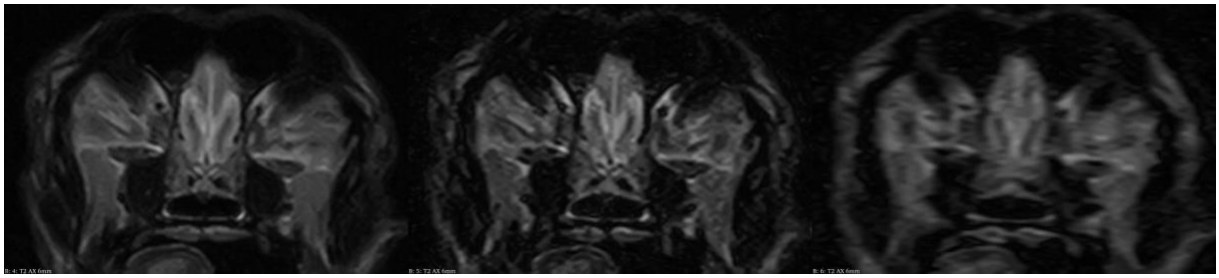


Figura 3.10 - As três sequências a nível do bulbo olfativo, de esquerda para a direita em sequência standard, rápida e ultra-rápida. Imagem original deste estudo.

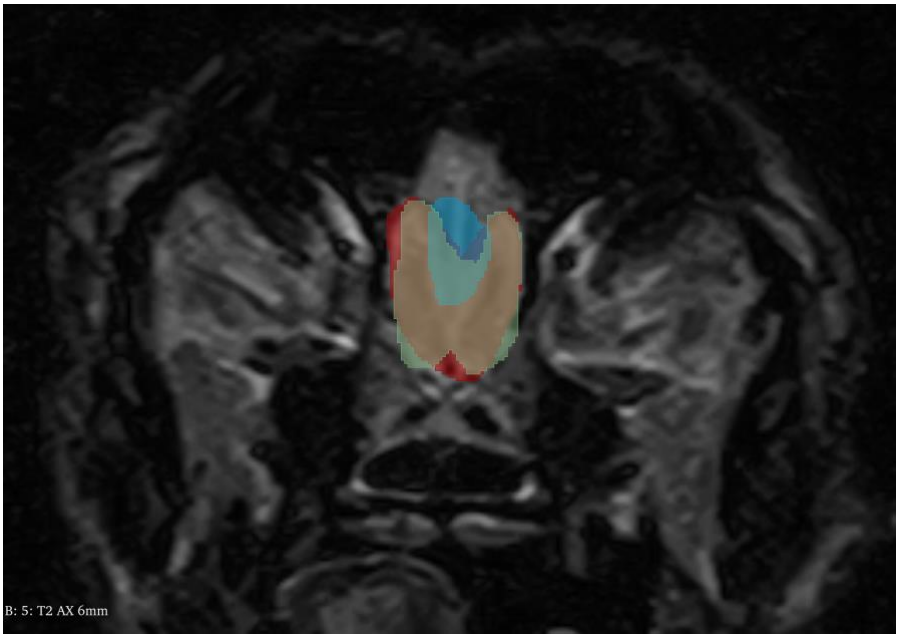


Figura 3.11 - Medição do volume do encéfalo a nível do bulbo, com a seleção da área de interesse em vermelho (sequência standard), verde (rápida) e azul (ultra-rápida). Imagem original deste estudo.

Já a nível da fossa craniana média, apesar de existir uma diferença clara na qualidade do sinal (Figura 3.12), a delimitação das margens do encéfalo é mais consistente (Figura 3.13).

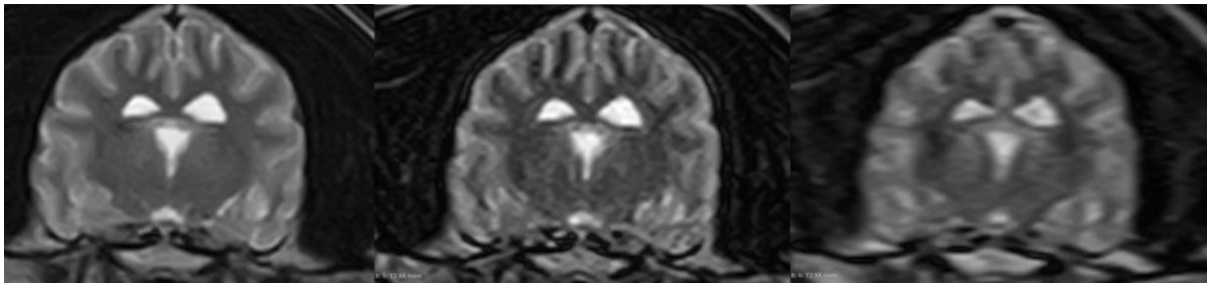


Figura 3.12 - As três sequências a nível da fossa craniana média, de esquerda para a direita em sequência standard, rápida e ultra-rápida. Imagens originais deste estudo.

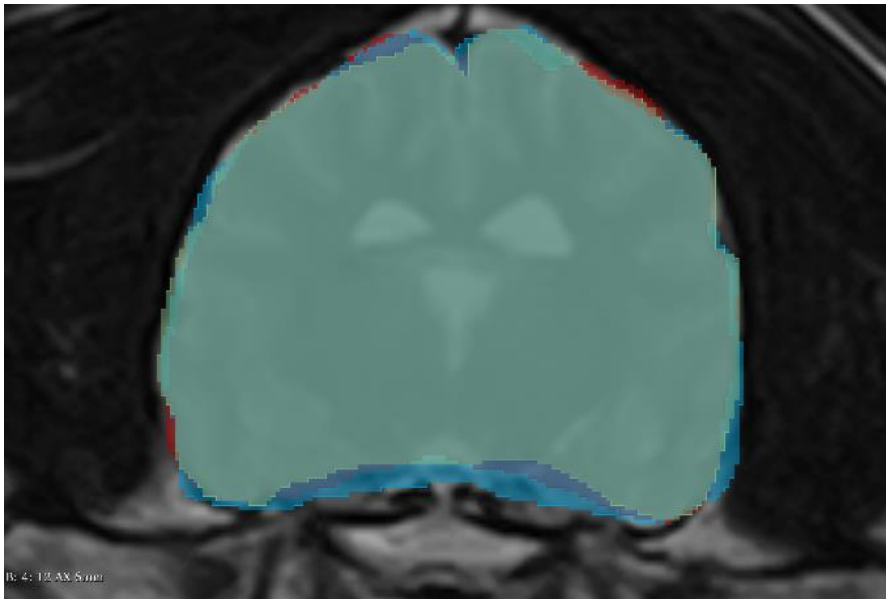


Figura 3.13 - Segmentação do encefálo, com a seleção da área de interesse em vermelho (sequência standard), verde (rápida) e azul (ultra-rápida). Imagem original deste estudo.

Depois de se selecionarem as áreas de interesse, o *software* calcula o volume da seleção, usando os metadados presentes no ficheiro *Digital Imaging and Communications in Medicine* referentes ao volume do voxel.

Para realizar o tratamento estatístico dos dados adquiridos, foi utilizado o *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) © versão 29. Foi também usado o *software Excel* da *Microsoft* versão 16.80. Foi considerado um nível de significância de 5% neste estudo.

4 Resultados: apresentação e discussão

4.1. Avaliação do volume do hipocampo

A primeira parte do estudo teve como objetivo medir o volume do hipocampo de pacientes com e sem SDC, e encontrar possíveis associações entre estes parâmetros.

4.2. Análise descritiva

A amostra do estudo é de 24 pacientes, incluindo 15 animais saudáveis (62,5%) e 9 (37,5%) pacientes com diagnóstico de SDC .

Tabela 4.1 - População do estudo. Dados originais deste estudo.

	Síndrome de SDC							
	Não (N = 15)				Sim (N = 9)			
	Sexo				Sexo			
	Fêmea (N = 6)		Macho (N = 9)		Fêmea (N = 3)		Macho (N = 6)	
	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão	Média	Desvio-padrão
Pontuação Inquérito	34,3	0,5	38,0	4,7	56,7	10,7	56,7	5,0
V. do Hipocampo (cm^3)	1,2	0,4	1,6	0,5	1,2	0,2	1,0	0,2
V. do Encéfalo (cm^3)	79,9	27,9	89,0	22,8	97,7	24,0	92,0	14,3
Hipocampo / Encéfalo (%)	1,6	0,1	1,8	0,2	1,2	0,1	1,1	0,1
Peso (Kg)	16,2	13,6	17,5	12,8	25,0	20,7	16,4	8,0
Idade (meses)	112,3	56,1	141,4	38,4	130,7	14,8	137,5	27,3

A análise de estatísticas descritivas presente na Tabela 4.1 mostra que o maior peso médio de 25,0 ± 20,7 kg foi observado entre cães fêmeas com SDC. Observa-se que o maior volume médio de hipocampo de 1,6 ± 0,5 cm^3 foi observado em cães machos sem SDC. Além disso, notamos que o maior volume médio de encéfalo de 97,7 ± 24,0 cm^3 foi observado em cães fêmeas com SDC. O maior rácio entre o volume do hipocampo e do encéfalo foi de 1,8 ± 0,2 %, observado entre cães machos sem SDC. Por fim, podemos observar que a idade mais elevada de 141,4 ± 38,4 meses foi

observada entre cães machos sem SDC. Num estudo prévio foi identificada a idade como fator de risco para o desenvolvimento de SDC (37), não tendo sido encontrada relação entre o sexo e a doença. Em relação ao único estudo sobre volume do hipocampo e SDC, este também considerou que havia diminuição do volume do hipocampo em cães com SDC em comparação com cães sem SDC (8).

Tabela 4.2 - População amostrada. Dados originais deste estudo.

	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Mediana	Intervalo interquartil
Peso (Kg)	2,8	48,9	17,8	12,5	14,1	20,9
Volume do Hipocampo (cm^3)	0,6	2,4	1,3	0,4	1,2	0,6
Volume do Encéfalo (cm^3)	54,2	125,1	88,6	21,9	96,0	38,7
Hipocampo / Encéfalo (%)	0,9	2,1	1,5	0,3	1,5	0,5
Pontuação Inquérito	34	69	44,1	11,1	38,0	19
Idade (meses)	24	187	131,8	39,0	133,0	47

Em relação à população amostrada (Tabela 4.2), verificamos que houve uma grande amplitude no peso dos pacientes (entre 2,8 Kg e 48,9 Kg), no volume dos encéfalos (entre 51,2 cm^3 e 125,1 cm^3) e na idade destes (entre 2 e 15,6 anos), traduzindo as diferenças de raças dos animais incluídos no estudo (

Apêndice 3).

4.2.1. Síndrome de disfunção cognitiva

Os resultados do inquérito permitiram-nos classificar os animais em dois grupos. 62% dos indivíduos não apresentavam SDC, correspondendo a 15 pacientes e 38% foram classificados como tendo SDC, o que corresponde a 9 pacientes (Figura 4.1).

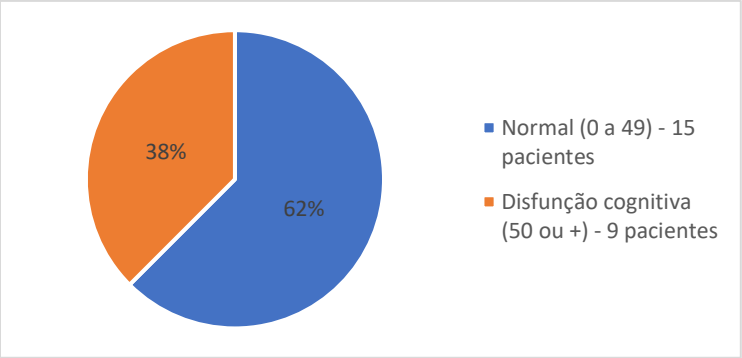


Figura 4.1 - Pontuação no inquérito. Dados originais deste estudo.

A pontuação obtida no inquérito não apresenta distribuição normal (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 - Testes de normalidade. Pontuação no inquérito. Dados originais deste estudo.

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Pontuação	,249	24	<,001	,838	24	,001

a. Correlação de Significância de Lilliefors

4.2.2. Sexo

Os cães do sexo masculino representam 62,5% (15/24) da população geral e 66,7% (6/9) dos indivíduos com SDC (Figura 4.2).

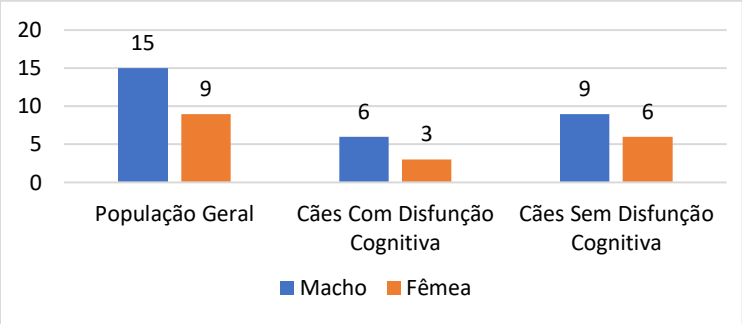


Figura 4.2 - Distribuição por sexo. Dados originais deste estudo.

Foi realizado um teste de Chi^2 de Pearson que demonstrou que os grupos com e sem SDC não são significativamente diferentes no que se refere à distribuição de sexo (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 - Relação entre sexo e diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

	Valor	df	Significância Assintótica (Bilateral)	Sig exata (2 lados)	Sig exata (1 lado)
Qui-quadrado de Pearson	,107[a]	1	,744		
Correção de continuidade[b]	,000	1	1,000		
Razão de verossimilhança	,107	1	,743		
Teste Exato de Fisher				1,000	,547
Associação Linear por Linear	,102	1	,749		
N de Casos Válidos	24				

4.2.3. Idade

A idade média dos pacientes do estudo foi de 11 anos, tendo os cães com SDC uma média de idades ligeiramente superior (11,3 anos) à dos cães sem SDC (10,8 anos) (Figura 4.3). A mediana das idades foi de 11,1 anos para os pacientes do estudo, 11,2 para aqueles com SDC e de 11 anos para os que não tinham SDC. A idade variou entre um valor mínimo de 2 anos e um valor máximo de 15,6 anos.

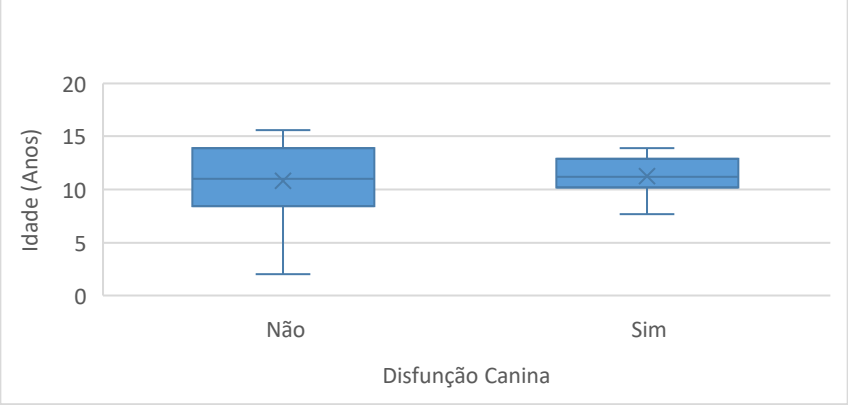


Figura 4.3 – Idade dos pacientes com e sem síndrome de disfunção cognitiva. Dados Originais deste estudo.

A variável “idade” apresenta uma distribuição normal (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 - Testes de normalidade. Idade. Dados originais deste estudo.

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Idade	,139	9	,200*	,964	9	,837

*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

Foi também realizado um teste U de Mann-Whitney (Tabela 4.6) que nos indicou que não existe diferença estatisticamente significativa na distribuição de idades entre os animais com e sem SDC.

Tabela 4.6 - Relação entre idade e diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

	Idade
U de Mann-Whitney	65,000
Wilcoxon W	110,000
Z	-,149
Significância Sig. (2 extremidades)	,881
Sig exata [2*(Sig. de 1 extremidade)]	,907[b]

4.2.4. Peso

Tendo em consideração as diversas raças presentes no estudo, era expectável ter uma amplitude elevada no peso destes. Os pacientes apresentaram um intervalo de pesos compreendido entre 2,8 Kg e 48,9 Kg, com uma mediana de 13,8 Kg (Figura 4.4).

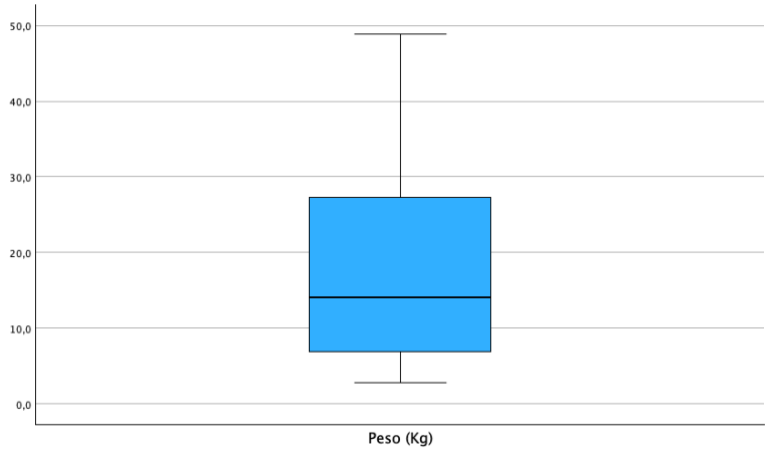


Figura 4.4 - Distribuição dos pesos na população estudada. Dados originais deste estudo.

A variável “peso” apresenta uma distribuição normal (Tabela 4.7).

Tabela 4.7 - Testes de normalidade. Peso. Dados originais deste estudo.

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Peso	,150	24	,175	,925	24	,074

a. Correlação de Significância de Lilliefors

4.2.5. Volume do Hipocampo

O volume do hipocampo variou entre o valor mínimo de 0,60 cm^3 e o valor máximo de 2,45 cm^3 com um valor médio de 1,30 cm^3 e uma mediana de 1,19 cm^3. Devido à grande variedade no tamanho dos animais, o volume do hipocampo foi dividido pelo volume do encéfalo, e multiplicado por 100. O rácio médio entre o volume do hipocampo e o volume do encéfalo foi de 1,48 % entre a população geral, com um valor mínimo de 0,9% e um valor máximo de 2,1%. Em animais com SDC o rácio médio foi de 1,14%, e em animais sem sinais de SDC foi de 1,68% (Figura 4.5).

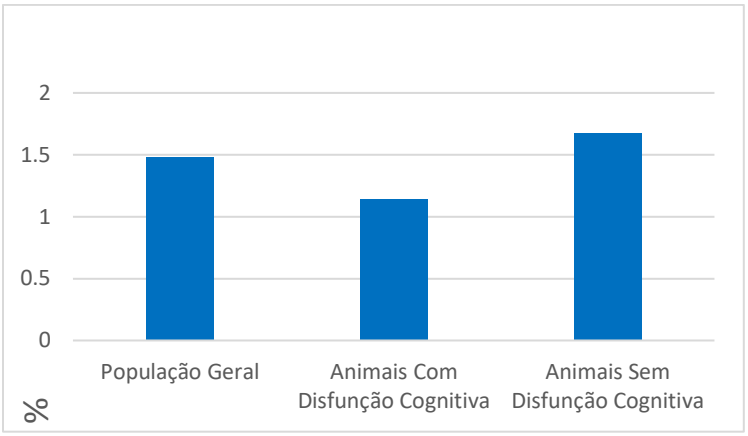


Figura 4.5 - Média do rácio volume do hipocampo / volume do encéfalo. Dados originais deste estudo.

A variável "volume do hipocampo" tem distribuição normal (Tabela 4.8).

Tabela 4.8 - Testes de normalidade. Volume do hipocampo. Dados originais deste estudo.

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Hipocampo / Encéfalo	,121	24	,200*	,970	24	,663

*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

4.2.6. Volume do encéfalo

O volume do encéfalo situou-se entre o valor mínimo de 54,2 cm^3 até ao valor máximo de 125,1 cm^3, com um valor médio de 88,6 cm^3. Devido à grande variação nas dimensões dos pacientes, foi dividido o volume do encéfalo pelo peso. O rácio entre o volume do encéfalo e o peso variou entre o valor mínimo de 2,49 cm^3 / Kg e o valor máximo de 19,36 cm^3 / Kg, com um valor médio de 7,61 cm^3 / Kg, e apresentando uma distribuição normal (Tabela 4.9). Nos pacientes com SDC a média foi de 6,36 cm^3 / Kg enquanto nos pacientes sem SDC a média foi de 8,3 cm^3 / Kg.

Tabela 4.9 - Testes de Normalidade. Rácio entre volume do encéfalo e peso. Dados originais deste estudo.

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
Volume do Encéfalo	,163	24	,101	,935	24	,127

a. Correlação de Significância de Lilliefors

4.3. Análise correlacional

Com os dados obtidos no estudo foi feita uma análise correlacional para encontrar possíveis associações entre as variáveis em estudo.

4.3.1. Relação entre o volume do hipocampo e a idade

Hipótese nula: Não existe relação entre o volume do hipocampo e a idade.

Hipótese alternativa: Existe uma relação entre o volume do hipocampo e a idade.

Para testar a hipótese, foi realizado um teste de correlação de Pearson (Tabela 4.10) que testa a relação entre duas variáveis numéricas com distribuição normal. O volume do hipocampo foi dividido pelo volume do encéfalo.

Tabela 4.10 - Relação entre o volume do hipocampo e a idade. Dados originais deste estudo.

		Hipocampo / Encéfalo	Idade
Hipocampo / Encéfalo	Correlação de Pearson	1	-,049
	Sig. (2 extremidades)		,820
	N	24	24
Idade	Correlação de Pearson	-,049	1
	Sig. (2 extremidades)	,820	
	N	24	24

Não foi encontrada correlação estatisticamente significativa entre o volume do hipocampo e a idade. O valor do coeficiente de correlação de -0,049 indica que existe uma associação negativa negligenciável entre o hipocampo e a idade. Num estudo prévio (38), foi encontrada uma diminuição ligeira do rácio entre o volume do hipocampo e o encéfalo quando se comparam cães jovens (6 meses a 3.9 anos) e cães idosos / sénior (mais de 8 anos), embora essa diminuição não esteja presente quando a comparação se faz entre cães idosos e cães seniores (Figura 4.6).

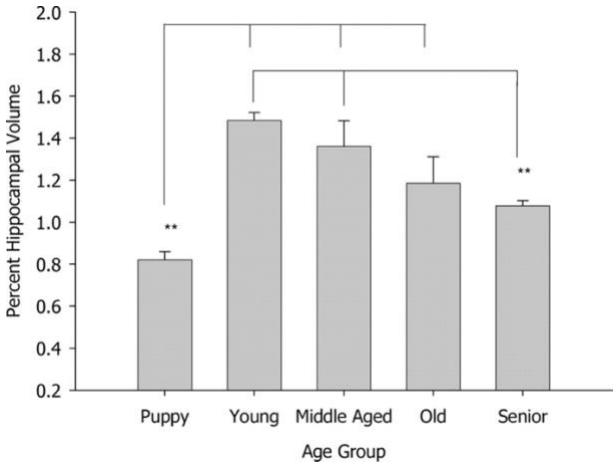


Figura 4.6 - Volume médio do hipocampo como proporção do volume total do cérebro em cachorros e cães jovens, de meia-idade, idosos e séniores (38).

A partir do gráfico de dispersão (Figura 4.7), podemos observar que os pontos apresentam uma discreta tendência de descida, não sendo esta, no entanto, significativa, o que também fornece evidências de que não existe uma associação linear entre o rácio hipocampo / encéfalo e a idade.

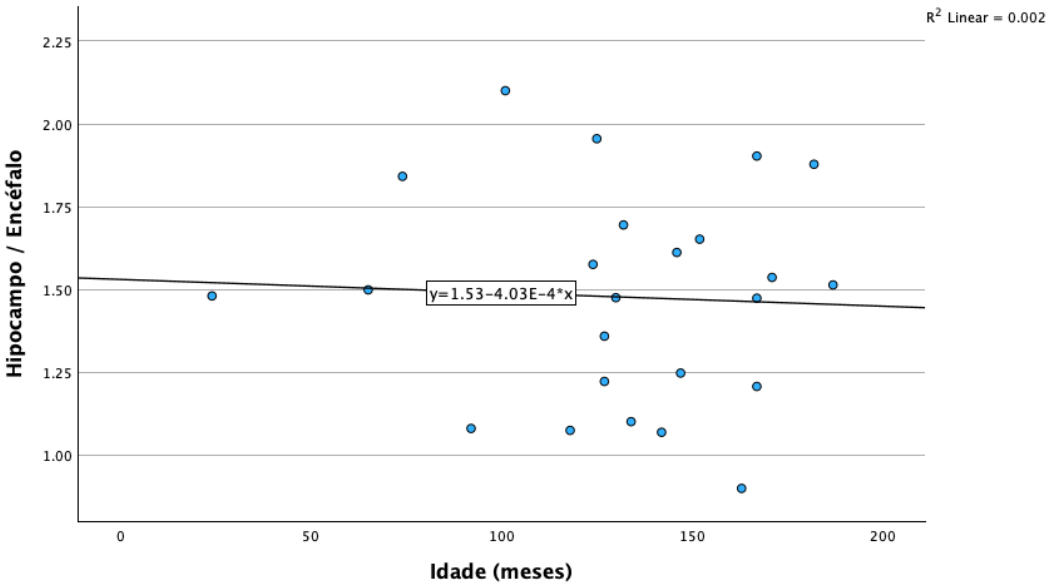


Figura 4.7 - Relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a idade. Dados originais deste estudo.

4.3.2. Relação entre síndrome de disfunção cognitiva e a idade

Hipótese Nula: Não há diferença na idade entre cães com SDC e cães sem SDC.

Hipótese Alternativa: Há uma diferença na idade entre cães com SDC e cães sem SDC.

Para testar a hipótese, é necessário realizar um teste t para amostras independentes (Tabela 4.11), pois a SDC é uma variável categórica com duas categorias (sim e não), e pretendemos verificar a diferença das médias na idade entre os cães com SDC ou não.

Tabela 4.11 - Relação entre a idade e síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

Teste t para amostras independentes

		Teste de Levene		Teste t para Igualdade de Médias				
						Significância		
		F	Sig.	t	df	p unilateral	p bilateral	Diferença de médias
Idade	Variâncias iguais assumidas	3,035	0,095	0,323	22	0,375	0,750	5,422
	Variâncias iguais não assumidas			0,379	21,484	0,354	0,709	5,422

Antes de realizar um teste t para amostras independentes, temos de realizar o teste para igualdade de variâncias como uma verificação de pressuposto. Aqui, o valor-p do teste de Levene para igualdade de variâncias é 0,095 ($p > 0,05$), indicando que não há uma diferença significativa entre a variância da idade para esses dois grupos. Assim, podemos assumir a igualdade de variâncias.

O valor-p do teste t para amostras independentes quando as variâncias iguais são assumidas é de 0,750 ($p > 0,05$). Como o valor-p é maior que 0,05, ao nível de significância de 5%, não temos evidências suficientes para rejeitar a hipótese nula, o que significa que não há uma diferença estatisticamente significativa entre as idades dos cães com e sem SDC.

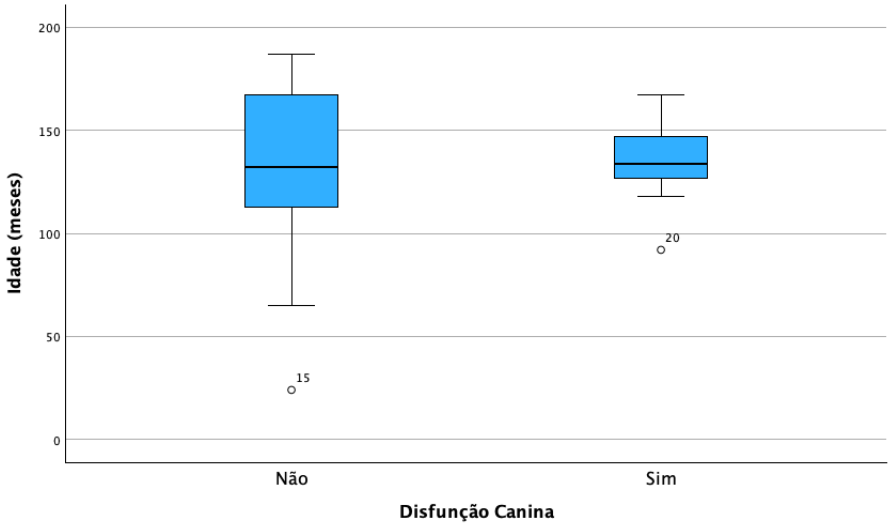


Figura 4.8 - Média de Idade por síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

Analisando o gráfico de barras (Figura 4.8), também podemos constatar que não há uma diferença clara observada entre a idade média dos cães com ou sem SDC.

4.3.3. Relação entre o volume do hipocampo e o sexo

Hipótese Nula: Não há diferença no rácio hipocampo / encéfalo entre cães machos ou fêmeas.

Hipótese Alternativa: Há uma diferença no rácio hipocampo / encéfalo entre cães machos ou fêmeas.

Para testar a hipótese, precisamos de realizar um teste t de amostras independentes, pois o sexo é uma variável categórica com duas categorias (macho, fêmea), e pretendemos verificar a diferença média no hipocampo / encéfalo entre cães machos ou fêmeas (Tabela 4.12).

Tabela 4.12 - Relação entre o volume do hipocampo e o sexo. Dados originais deste estudo.

Teste t para amostras independentes

		Teste de Levene		Teste t para Igualdade de Médias				
						Significância		
		F	Sig.	T	df	p unilateral	p bilateral	Diferença de médias
Hipocampo / Encéfalo	Variâncias iguais assumidas	6,301	0,020	0,355	22	0,363	0,726	0,0489
	Variâncias iguais não assumidas			0,414	21,626	0,342	0,683	0,0489

Antes de realizar um teste t de amostras independentes, é necessário realizar o teste de igualdade de variâncias como verificação de pressupostos. Neste caso, o valor de p do teste de Levene para igualdade de variâncias é 0,02 ($p < 0,05$), indicando que existe uma diferença significativa entre as variâncias dos dois grupos, não se podendo assim assumir igualdade de variâncias.

Podemos ver o valor de p do teste t de amostras independentes quando não é assumida igualdade de variâncias, que é 0,683 ($p > 0,05$). Como o valor de p é maior do que 0,05, ao nível de significância de 5%, não podemos rejeitar a hipótese nula e podemos concluir que não há diferença significativa no rácio hipocampo / encéfalo entre cães machos e fêmeas.

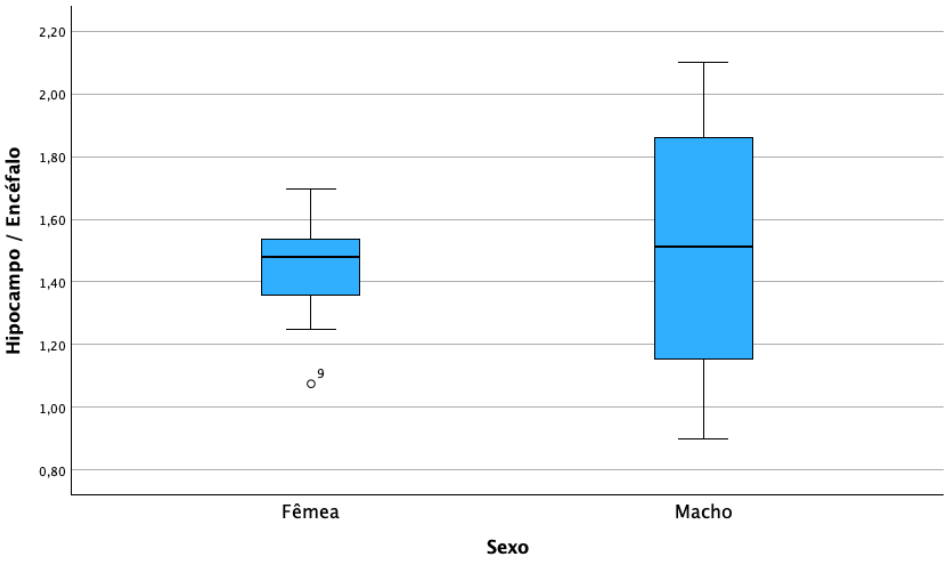


Figura 4.9 - Média de hipocampo / encéfalo por sexo. Dados originais deste estudo.

A partir do boxplot (Figura 4.9), também podemos observar que a diferença no rácio hipocampo / encéfalo entre cães machos e fêmeas não é estatisticamente significativa.

4.3.4. Relação entre síndrome de disfunção cognitiva e sexo

Hipótese Nula: Não existe relação entre o sexo dos cães e a SDC.

Hipótese Alternativa: Existe relação entre o sexo dos cães e a SDC.

Para testar a hipótese, é necessário realizar um teste Qui-Quadrado de Pearson, pois o sexo e a SDC são ambas variáveis categóricas (Tabela 4.13).

Tabela 4.13 - Relação entre sexo e síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

*Sexo * SDC Tabela de Referência Cruzada*

		SDC		
		Não	Sim	Total
Sexo	Fêmea	6	3	9
	Macho	9	6	15
Total		15	9	24

O valor-p do teste Qui-Quadrado (Tabela 4.14) é de 0,744 ($p > 0,05$), não existindo evidências suficientes para rejeitar a hipótese nula. Assim, podemos dizer que não há uma relação estatisticamente significativa entre o sexo (feminino, masculino) dos cães e a SDC (sim, não).

Tabela 4.14 - Relação entre sexo e síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

Teste Qui-Quadrado

	Valor	df	Significância Assintótica (bicaudal)
Pearson Qui-Quadrado	0,107	1	0,744
N	24		

4.3.5. Relação entre o volume do hipocampo e o peso

Hipótese Nula: Não há relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e o peso.

Hipótese Alternativa: Existe uma relação entre o hipocampo / encéfalo e o peso.

Para testar a hipótese, precisamos de realizar um teste de correlação de Pearson, considerando que o rácio hipocampo / encéfalo e o peso são ambas variáveis numéricas (Tabela 4.15), com distribuição normal.

Tabela 4.15 - Correlação entre o peso e o rácio hipocampo / encéfalo. Dados originais deste estudo.

Correlações

		Hipocampo / Encéfalo
Peso	Correlação de Pearson	-0,115
	Sig. (bicaudal)	0,592
	N	24

Como o valor de p (0,592) é maior do que 0,05, ao nível de significância de 5%, não temos evidências suficientes para rejeitar a hipótese nula. Pode-se afirmar que não há uma associação linear significativa entre o hipocampo/cérebro e o peso. Aqui, o valor do coeficiente de correlação de -0,115 indica que existe uma associação negativa fraca entre o hipocampo / encéfalo e o peso.

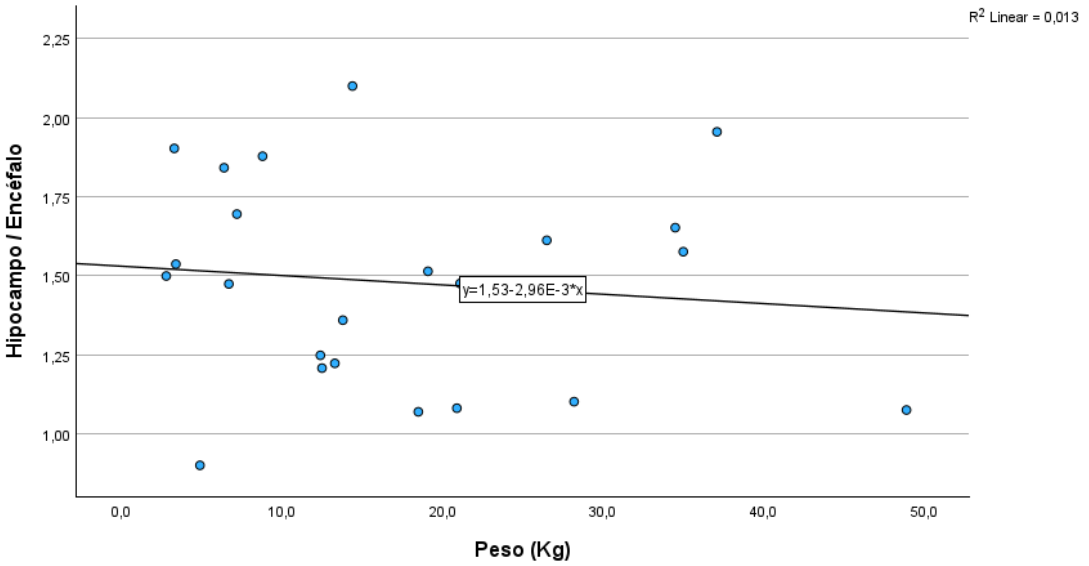


Figura 4.10 - Relação entre hipocampo / encéfalo e peso. Dados originais deste estudo.

A partir do gráfico de dispersão (Figura 4.10), podemos observar que os pontos não apresentam uma tendência significativa de subida ou de descida, o que também fornece evidências de que não há uma associação linear entre o hipocampo / encéfalo e o peso. O resultado era o esperado, considerando que o peso dos animais pode variar significativamente com a condição corporal destes, não tendo esta variação influência no rácio entre o volume do hipocampo e o volume do encéfalo.

4.3.6. Relação entre o volume do encéfalo e o peso

Para testar a hipótese, precisamos de realizar um teste de correlação de Pearson (Tabela 4.16), pois o volume do encéfalo e o peso são ambos variáveis numéricas, com distribuição normal.

Tabela 4.16 - Relação entre peso e volume do encéfalo. Dados originais deste estudo.

Correlações

		Volume do Encéfalo
Peso	Correlação de Pearson	0,834**
	Sig. (bicaudal)	< 0,001
	N	24

O valor-p do teste de correlação de Pearson é <0,001, sendo rejeitada a hipótese nula. Podemos assim afirmar que há uma associação linear significativa entre o volume do encéfalo e o peso.

Aqui, o valor do coeficiente de correlação de 0,834 indica que existe uma associação positiva forte entre o volume do cérebro e o peso, o que significa que, se o peso aumentar, o volume do cérebro aumentará significativamente.

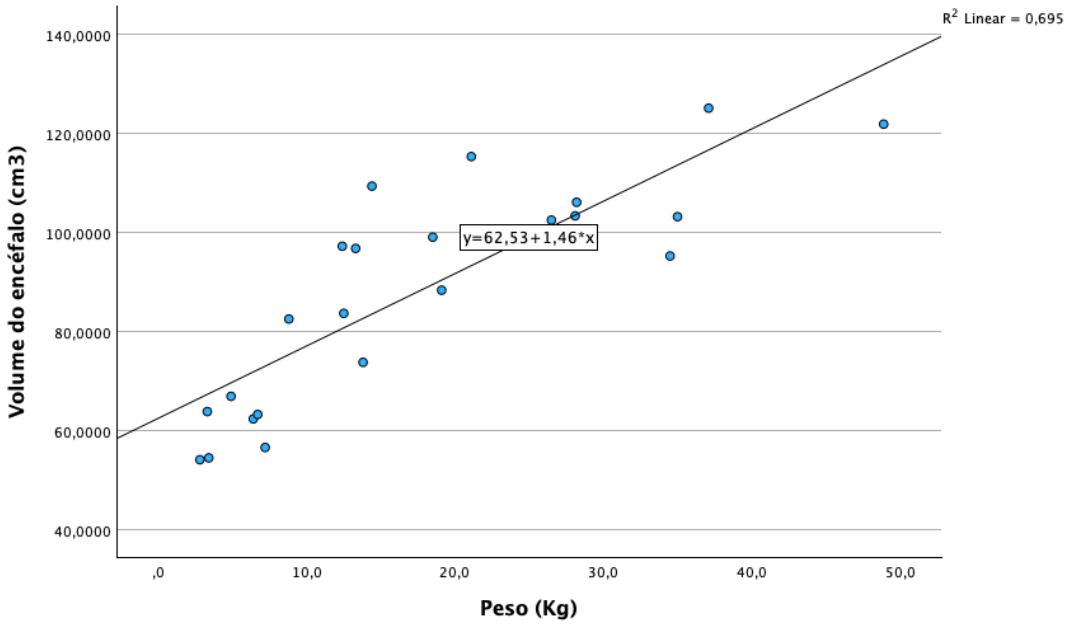


Figura 4.11 - Relação entre o volume do encéfalo e o peso. Dados originais deste estudo.

A partir do gráfico de dispersão (Figura 4.12), podemos observar que os pontos mostram uma tendência ascendente, o que também fornece evidência de que existe uma associação linear positiva significativamente forte entre o volume do cérebro e o peso. Quando o peso aumenta, também aumenta o volume do encéfalo.

4.3.7. Relação entre o volume do hipocampo e a síndrome de disfunção cognitiva

A principal questão a ser respondida neste trabalho, foi de verificar se o volume do hipocampo era significativamente menor em pacientes com SDC. Devido à grande variedade nas dimensões dos pacientes, foi calculado o rácio entre o volume do hipocampo e o volume do encéfalo de forma a normalizar o volume do hipocampo.

Hipótese Nula: Não há diferença no rácio entre os volumes do hipocampo e do encéfalo entre cães com e sem SDC.

Hipótese Alternativa: Há uma diferença no rácio entre os volumes do hipocampo e do encéfalo entre cães com e sem SDC.

Realizou-se um teste t de amostras independentes (Tabela 4.17), pois a SDC é uma variável categórica com duas categorias (sim, não), e pretendemos verificar a diferença média no hipocampo / encéfalo entre cães com e sem SDC.

Tabela 4.17 - Relação entre o volume do hipocampo e síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

Teste t para amostras independentes

		Teste de Levene		Teste t para Igualdade de Médias				
						Significância		
		F	Sig.	t	df	p unilateral	p bilateral	Diferença de médias
Hipocampo / Encéfalo	Variâncias iguais assumidas	3,036	0,095	-7,011	22	< 0,001	< 0,001	-0,5391
	Variâncias iguais não assumidas			-7,790	21,755	< 0,001	< 0.001	-0,5391

Realizou-se previamente um teste à igualdade de variâncias. Neste caso, o valor-p do teste de Levene para igualdade de variâncias é 0,095 (p > 0,05), indicando que não há diferença significativa entre as variâncias dos dois grupos. Podemos assim assumir igualdade de variâncias neste caso.

Assim sendo, podemos observar que o valor de p do teste t de amostras independentes, assumindo variâncias iguais, é menor que 0,001. Podemos assim

rejeitar a hipótese nula e afirmar que existe uma diferença estatisticamente significativa no rácio entre o volume do hipocampo e volume do encéfalo entre cães com SDC e cães sem disfunção. Aqui, a diferença média de -0,5391 indica que o rácio médio é significativamente menor entre os cães com SDC.

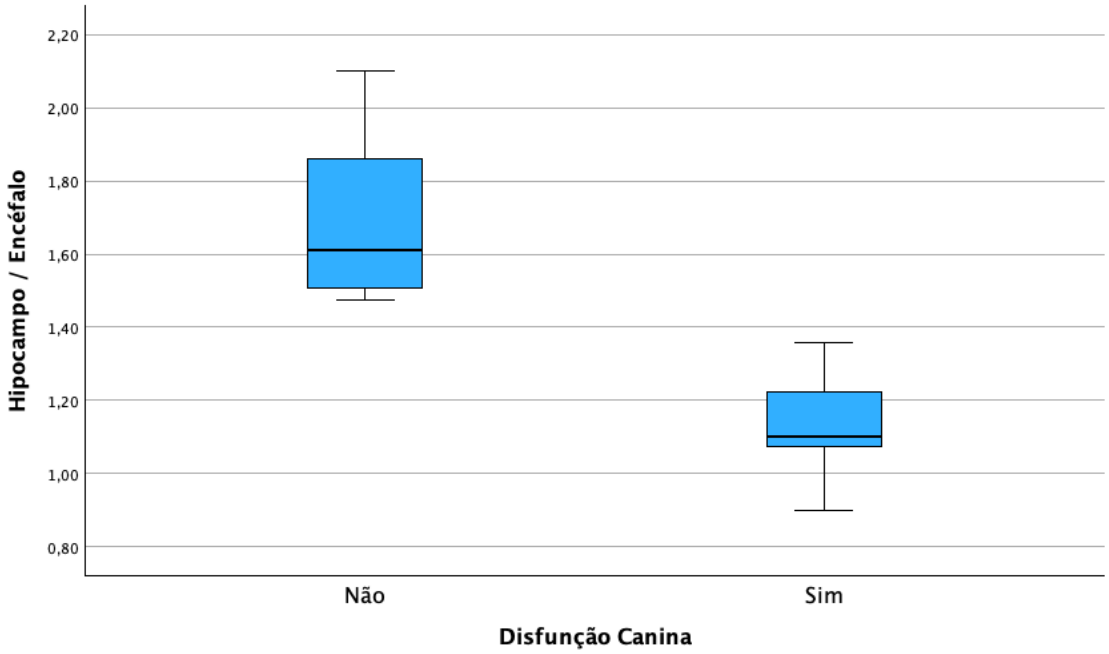


Figura 4.12 - Rácio hipocampo / encéfalo em cães com e sem SDC. Dados originais deste estudo.

A partir do gráfico de barras (Figura 4.12), também podemos observar a clara diferença no rácio entre cães com SDC e aqueles que não apresentam doença, sendo que a média é menor em cães com SDC.

Embora as variáveis tenham distribuição normal, foi também realizado o teste de Mann-Whitney (Tabela 4.18). O teste demonstra que existe uma diferença estatisticamente significativa no volume do hipocampo de cães com e sem diagnóstico de SDC.

Tabela 4.18 - Teste de Mann-Whitney. Relação entre rácio hipocampo / encéfalo e diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva. Dados originais deste estudo.

	Hipótese nula	Teste	Sig.[a,b]	Decisão
1	A distribuição de Hipocampo / Encéfalo é igual nas categorias de Disfunção cognitiva.	Amostras Independentes de Teste U de Mann-Whitney	<,001[c]	Rejeitar a hipótese nula.

a. O nível de significância é ,050.

b. A significância assintótica é exibida.

4.3.8. Relação entre o volume do hipocampo e pontuação do inquérito

Hipótese Nula: Não há relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação.

Hipótese Alternativa: Existe uma relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação.

Para testar a hipótese, precisamos de realizar um teste de correlação de Spearman (Tabela 4.19), pois o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação são ambas variáveis numéricas, não tendo a pontuação no inquérito distribuição normal. O valor de p deste teste é < 0,001 (p < 0,05). Podemos rejeitar a hipótese nula e afirmar que há uma associação linear significativa entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação.

Tabela 4.19 - Relação entre o volume do hipocampo e a pontuação no inquérito. Dados originais deste estudo.

			Hipocampo / Encéfalo	Pontuação
Correlação de Spearman	Hipocampo / Encéfalo	Coeficiente de Correlação	1,000	-,795**
		Sig. (2 extremidades)	.	<,001
	Pontuação	Coeficiente de Correlação	-,795**	1,000
		Sig. (2 extremidades)	<,001	.

**. A correlação é significativa no nível 0,01 (2 extremidades).

Aqui, o valor do coeficiente de correlação de -0,795 indica que existe uma associação negativa forte entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação do inquérito, o que significa que, se a pontuação aumentar, o rácio hipocampo / encéfalo diminuirá significativamente.

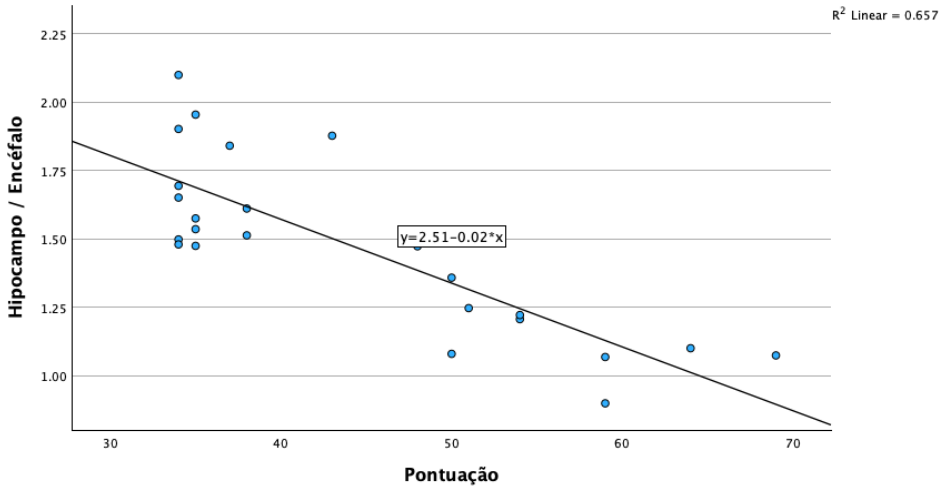


Figura 4.13 - Relação entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação.

Do gráfico de dispersão (Figura 4.13), podemos observar que os pontos mostram uma tendência descendente, o que também fornece evidências de que há uma associação linear negativa significativamente forte entre o rácio hipocampo / encéfalo e a pontuação. Quando existe aumento do rácio hipocampo / encéfalo, verifica-se uma diminuição na pontuação obtida no inquérito.

4.4. Volume do encéfalo de acordo com três sequências de ressonância

A segunda parte do estudo tentou verificar se era possível otimizar a sequência *standard* ponderada em T2 para medição do volume do encéfalo. Duas sequências (rápida e ultra-rápida) foram comparadas com a sequência *standard*.

4.4.1. Análise descritiva

Foram obtidos os volumes do encéfalo de 20 cães após três sequências de aquisição distintas (*standard*, rápida e ultra-rápida) ponderadas em T2 (Figura 4.14 e Tabela 4.20). A sequência *standard* demorou 3m 16s a realizar, enquanto a sequência rápida demorou 56 s e a sequência ultra-rápida 26 s.

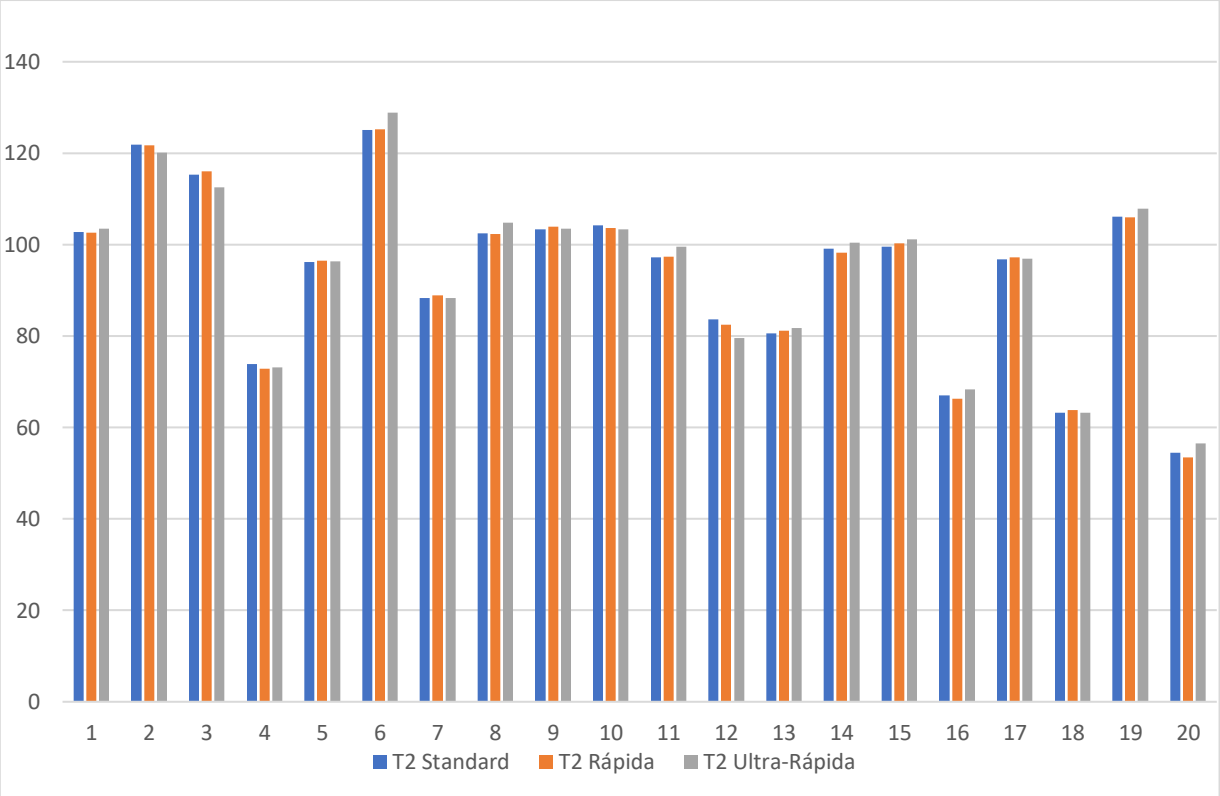


Figura 4.14 - Volume do encéfalo em cm^3 de acordo com as três sequências. Dados originais deste estudo.

Tabela 4.20 - Medição dos volumes dos encéfalos de acordo com as três sequências. Dados originais deste estudo.

	N	Intervalo	Mínimo	Máximo	Média	Desvio-padrão	Variância
T2 Standard (cm^3)	20	70,6	54,5	125,1	94,1	18,8	354,2
T2 Rápida (cm^3)	20	71,9	53,4	125,3	94,0	19,0	362,5
T2 Ultra-Rápida (cm^3)	20	72,3	56,6	128,9	94,5	18,9	357,2

Foram realizados *plots* de Bland-Altman comparando a sequência *standard* e a sequência rápida (Figura 4.15) e comparando a sequência *standard* com a sequência ultra-rápida (Figura 4.16). O gráfico é utilizado para ver se as diferenças entre as duas técnicas são consistentes em toda a gama de medições. Na comparação entre a técnica *standard* e a técnica rápida todos os valores ficam entre os limites inferior e superior de concordância, existindo apenas um valor fora deste intervalo na comparação entre a sequência *standard* e a sequência ultra-rápida.

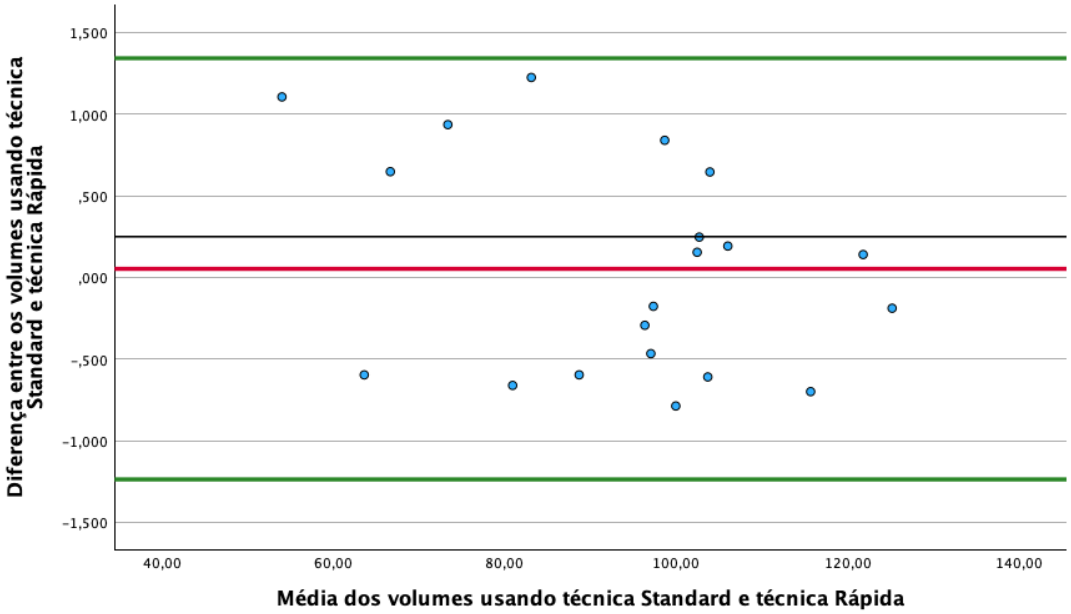


Figura 4.15 - Plot de Bland-Altman comparando sequência standard e sequência rápida. Dados originais deste estudo.

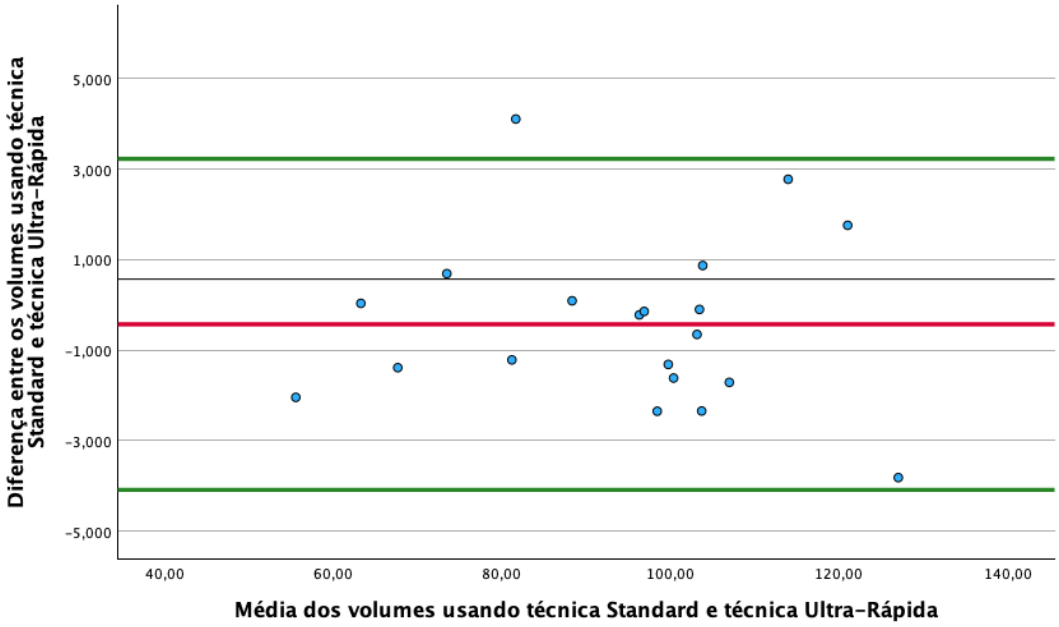


Figura 4.16 - Plot de Bland-Altman comparando sequência standard e sequência ultra-rápida. Dados originais deste estudo.

4.4.2. Diferença entre a sequência *standard* e a sequência rápida

Hipótese Nula: Não há diferença no volume do encéfalo medido pela sequência *standard* e pela sequência rápida.

Hipótese Alternativa: Existe uma diferença significativa no volume do encéfalo medido pela sequência *standard* e pela sequência rápida.

Para testar esta hipótese, foi realizado um teste não paramétrico de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Como ilustrado na Tabela 4.21, o teste não encontrou uma diferença estatisticamente significativa entre os volumes do encéfalo medidos através das duas técnicas. Logo, a hipótese nula de que não existe diferença no volume do cérebro entre a sequência *standard* e a sequência rápida não pode ser rejeitada. Pode-se concluir que a medição do volume do encéfalo após usar ambas as sequências é semelhante.

Tabela 4.21 - Teste de Wilcoxon comparando a sequência standard e a sequência rápida. Dados originais deste estudo.

	Hipótese nula	Teste	Sig.[a,b]	Decisão
1	A mediana de diferenças entre a técnica standard e a técnica rápida é igual a 0.	Amostras Relacionadas de Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon	,765	Reter a hipótese nula.

a. O nível de significância é ,050.

b. A significância assintótica é exibida.

4.4.3. Diferença entre sequência *standard* e a sequência ultra-rápida

Hipótese Nula: Não há diferença no volume do encéfalo medido pela sequência *standard* e pela sequência ultra-rápida.

Hipótese Alternativa: Existe uma diferença significativa no volume do encéfalo medido pela sequência *standard* e pela sequência ultra-rápida.

Para testar esta hipótese, foi novamente usado um teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas. Como ilustrado na Tabela 4.22, o teste não encontrou uma diferença estatisticamente significativa entre os volumes do encéfalo medidos através das duas técnicas. Logo, a hipótese nula de que não existe diferença no volume do cérebro entre a sequência *standard* e a sequência ultra-rápida também não pode ser rejeitada.

Tabela 4.22 - Teste de Wilcoxon comparando a sequência standard e a sequência ultra-rápida. Dados originais deste estudo.

	Hipótese nula	Teste	Sig.[a,b]	Decisão
1	A mediana de diferenças entre T2 Standard e T2 Ultra-Rápida é igual a 0.	Amostras Relacionadas de Teste dos Postos Sinalizados de Wilcoxon	,191	Reter a hipótese nula.

a. O nível de significância é ,050.

b. A significância assintótica é exibida.

4.4.4. Discussão

O objetivo deste segundo estudo foi de tentar determinar se era possível fazer a medição do volume do encéfalo usando sequências mais rápidas. Para tal, foram comparados os volumes obtidos nas três sequências e usado um teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas, comparado as duas sequências rápida e ultra-rápida com a técnica standard.

Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os volumes medidos, permitindo-nos concluir que é possível de obter estes dados paramétricos usando sequências pouco onerosas em tempo. Ambas as sequências (rápida e ultra-rápida) são bastante semelhantes à sequência *standard* e é assim possível diminuir significativamente o tempo do exame, quando o objetivo é apenas de fazer uma mediação do volume do encéfalo.

5 Conclusão

5.1. Volume do hipocampo e síndrome de disfunção cognitiva em cães

Como conclusão principal deste estudo, pode afirmar-se que existe uma associação estatisticamente significativa entre o volume do hipocampo e o diagnóstico de SDC.

Efetivamente, em cães com diagnóstico de SDC foi observada uma diminuição do volume do hipocampo. As conclusões retiradas deste estudo podem ajudar no diagnóstico de SDC em cães, recorrendo a dados paramétricos objetivos, em substituição de um inquérito feito aos tutores, auxiliando assim os veterinários a proporcionar um nível superior de cuidados aos seus pacientes.

Estes resultados vão de encontro às medições de Dewey et al. (2021), no seu estudo “Canine cognitive dysfunction patients have reduced total hippocampal volume compared with aging control dogs” (8).

Podem-se apontar como limites deste trabalho o facto de terem sido utilizados pacientes de várias raças, com grande variabilidade de conformações cranianas, de ter sido usado equipamento de baixo campo e de haver um número pequeno de animais no estudo. Adicionalmente, o mesmo observador foi responsável pela medição do volume do hipocampo e pelo questionário realizado aos tutores.

Como continuação do presente trabalho, considera-se de interesse a realização de estudo com um maior número de animais, uma maior uniformidade de raças, e com obtenção de mais dados radiomicos, como a simetria hipocampal. O maior número de animais poderá também procurar correlação entre diferentes raças e o volume do hipocampo. É sempre motivo de orgulho contribuir, nem que seja em pequena escala, para o avanço do conhecimento científico

5.1.1. Outras associações

Além da conclusão principal, foram também observadas relações estatisticamente significativas entre o volume do hipocampo e a pontuação no inquérito e entre o peso do animal e o volume do seu encéfalo. Não foi encontrada relação estatisticamente significativa entre o volume do hipocampo e a idade, entre a idade e o diagnóstico de SDC, entre a SDC e o sexo e entre o volume do hipocampo e o sexo.

A ausência de relação entre a idade e o volume do hipocampo coincide com os resultados de Kimotsuki T et al. (2005) na publicação “Changes of Magnetic Resonance Imaging on the Brain in Beagle Dogs with Aging” (9).

5.2. Avaliação do volume do encéfalo de acordo com três sequências

Em relação ao segundo estudo, foi possível concluir que as duas sequências rápida e ultra-rápida, com tempo de exame bastante inferior ao *standard*, permitem avaliar o volume do encéfalo de forma fidedigna, resultando num ganho de 190 segundos, entre a sequência mais rápida e a sequência *standard*. Embora estas sequências não tenham qualidade para diagnóstico de lesões intracranianas, podem ser úteis em estudos em que haja necessidade de medir o volume do encéfalo. Devido à grande variação no tamanho do encéfalo dos cães, o volume do encéfalo torna-se um dado importante para normalizar dimensões das estruturas intracranianas.

6 Referências bibliográficas

1. Baethge C, Goldbeck-Wood S, Mertens S. SANRA—a scale for the quality assessment of narrative review articles. Res Integr Peer Rev [Internet]. 2019 Dec 26;4(1):5. Available from: https://researchintegrityjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41073-019-0064-8 https://doi.org/10.1186/s41073-019-0064-8
2. Mak HKF, Qian W, Ng KS, Chan Q, Song YQ, Chu LW, et al. Combination of MRI Hippocampal Volumetry and Arterial Spin Labeling MR Perfusion at 3-Tesla Improves the Efficacy in Discriminating Alzheimer's Disease from Cognitively Normal Elderly Adults. Journal of Alzheimer's Disease. 2014 Jul 16;41(3):749–58. https://doi.org/10.3233/JAD-131868
3. Chincarini A, Sensi F, Rei L, Gemme G, Squarcia S, Longo R, et al. Integrating longitudinal information in hippocampal volume measurements for the early detection of Alzheimer's disease. Neuroimage. 2016 Jan;125:834–47. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.10.065
4. Uysal G, Ozturk M. Hippocampal atrophy based Alzheimer's disease diagnosis via machine learning methods. J Neurosci Methods [Internet]. 2020 May;337:108669. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165027020300911 https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2020.108669
5. Lőrincz BA, Anson A, Handschuh S, Tichy A, Rowan C, Lőrincz BB, et al. Hippocampal size did not differ between epileptic and non-epileptic dogs using volumetric and subjective methods. Acta Vet Hung. 2021 Jun 5;69(1):1–8. https://doi.org/10.1556/004.2021.00006
6. Noh D, Choi S, Choi H, Lee Y, Lee K. Evaluation of interthalamic adhesion size as an indicator of brain atrophy in dogs with and without cognitive dysfunction. Veterinary Radiology & Ultrasound. 2017 Sep;58(5):581–7. https://doi.org/10.1111/vru.12528
7. Dewey CW, Rishniw M, Johnson PJ, Davies ES, Sackman JJ, O'Donnell M, et al. Interthalamic adhesion size in aging dogs with presumptive spontaneous brain microhemorrhages: a comparative retrospective MRI study of dogs with and without evidence of canine cognitive dysfunction. PeerJ. 2020 Apr 13;8:e9012. https://doi.org/10.7717/peerj.9012

8. Dewey CW, Rishniw M, Johnson PJ, Platt S, Robinson K, Sackman J, et al. Canine cognitive dysfunction patients have reduced total hippocampal volume compared with aging control dogs: A comparative magnetic resonance imaging study. Open Vet J [Internet]. 2021 Feb 5;10(4):438–42. Available from: https://www.ajol.info/index.php/ovj/article/view/203647 https://doi.org/10.4314/ovj.v10i4.11
9. Kimotsuki T, Nagaoka T, Yasuda M, Tamahara S, Matsuki N, Ono K. Changes of Magnetic Resonance Imaging on the Brain in Beagle Dogs with Aging. Journal of Veterinary Medical Science [Internet]. 2005;67(10):961–7. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jvms/67/10/67_10_961/_article https://doi.org/10.1292/jvms.67.961
10. Prpar Mihevc S, Majdič G. Canine Cognitive Dysfunction and Alzheimer's Disease – Two Facets of the Same Disease? Front Neurosci [Internet]. 2019 Jun 12;13. Available from: https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00604/full https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00604
11. Lesné S, Koh MT, Kotilinek L, Kayed R, Glabe CG, Yang A, et al. A specific amyloid-β protein assembly in the brain impairs memory. Nature [Internet]. 2006 Mar 16;440(7082):352–7. Available from: https://www.nature.com/articles/nature04533 https://doi.org/10.1038/nature04533
12. Hornak JP. The Basics of MRI [Internet]. [cited 2022 Jul 12]. Available from: https://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/chap-1/chap-1.htm
13. Meaney TF. Magnetic resonance without nuclear. Radiology. 1984 Jan;150(1):277–277. https://doi.org/10.1148/radiology.150.1.6689780
14. Ogbole GI, Adeyomoye AO, Badu-Peprah A, Mensah Y, Nzeh DA. Survey of magnetic resonance imaging availability in West Africa. Pan African Medical Journal. 2018;30. https://doi.org/10.11604/pamj.2018.30.240.14000
15. Quick history of the MRI | Two Views [Internet]. [cited 2022 Jul 24]. Available from: https://two-views.com/mri-imaging/history.html
16. Magnetic Resonance Imaging (MRI) [Internet]. [cited 2022 Jul 21]. Available from: https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri
17. Westbrook C, Talbot J. MRI in Practice. 5th Editio. Wiley-Blackwell; 2018.

18. Cross-sectional anatomy of the brain - e-Anatomy [Internet]. [cited 2022 Jul 23]. Available from: https://www.imaios.com/en/e-Anatomy/Brain/Brain-MRI-in-axial-slices
19. Bell D, Gaillard F. Hippocampus. In: Radiopaedia.org [Internet]. Radiopaedia.org; 2008 [cited 2022 Jul 22]. Available from: http://radiopaedia.org/articles/1454 https://doi.org/10.53347/rID-1454
20. Gerardin, Emilie. (2012). Morphometry of the human hippocampus from MRI and conventional MRI [Internet]. [cited 2023 Mar 23] https://www.researchgate.net/publication/278643309_Morphometry_of_the_human_hippocampus_from_MRI_and_conventional_MRI_high_field.
21. EPOS™ [Internet]. [cited 2022 Jul 23]. Available from: https://epos.myesr.org/posterimage/esr/ecr2017/136745/mediagallery/708023
22. Van Petten C. Relationship between hippocampal volume and memory ability in healthy individuals across the lifespan: review and meta-analysis. Neuropsychologia. 2004 Jan;42(10):1394–413. https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2004.04.006
23. Gosche KM, Mortimer JA, Smith CD, Markesbery WR, Snowdon DA. Hippocampal volume as an index of Alzheimer neuropathology. Neurology. 2002 May 28;58(10):1476–82. https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2004.04.006
24. Head E. Neurobiology of the aging dog. Age (Omaha). 2011 Sep 16;33(3):485–96. https://doi.org/10.1007/s11357-010-9183-3
25. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Alzheimer's disease. The Lancet. 2011 Mar;377(9770):1019–31. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61349-9
26. Stelzmann RA, Norman Schnitzlein H, Reed Murtagh F. An english translation of alzheimer's 1907 paper, ?�ber eine eigenartige erkankung der hirnrinde? Clinical Anatomy. 1995;8(6):429–31. https://doi.org/10.1002/ca.980080612
27. Santana I, Farinha F, Freitas S, Rodrigues V, Carvalho Å. [The Epidemiology of Dementia and Alzheimer Disease in Portugal: Estimations of Prevalence and Treatment-Costs]. Acta Med Port. 28(2):182–8.
28. Salvin HE, McGreevy PD, Sachdev PS, Valenzuela MJ. Under diagnosis of canine cognitive dysfunction: A cross-sectional survey of older companion dogs. The Veterinary Journal. 2010 Jun;184(3):277–81. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.11.007

29. Landsberg GM, Nichol J, Araujo JA. Cognitive Dysfunction Syndrome. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 2012 Jul;42(4):749–68. https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.04.003
30. Prpar Mihevc S, Majdič G. Canine Cognitive Dysfunction and Alzheimer's Disease – Two Facets of the Same Disease? Front Neurosci. 2019 Jun 12;13. https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00604
31. Neilson JC, Hart BL, Cliff KD, Ruehl WW. Prevalence of behavioral changes associated with age-related cognitive impairment in dogs. J Am Vet Med Assoc. 2001 Jun 1;218(11):1787–91. https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1787
32. Fast R, Schütt T, Toft N, Møller A, Berendt M. An Observational Study with Long-Term Follow-Up of Canine Cognitive Dysfunction: Clinical Characteristics, Survival, and Risk Factors. J Vet Intern Med. 2013 Jul 22;27(4):822–9. https://doi.org/10.1111/jvim.12109
33. Ozawa M, Inoue M, Uchida K, Chambers JK, Takeuch Y, Nakayama H. Physical signs of canine cognitive dysfunction. Journal of Veterinary Medical Science. 2019;81(12):1829–34. https://doi.org/10.1292/jvms.19-0458
34. Salvin HE, McGreevy PD, Sachdev PS, Valenzuela MJ. The canine cognitive dysfunction rating scale (CCDR): A data-driven and ecologically relevant assessment tool. The Veterinary Journal. 2011 Jun;188(3):331–6. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2010.05.014
35. Portier K, Ida KK. The ASA Physical Status Classification: What Is the Evidence for Recommending Its Use in Veterinary Anesthesia?—A Systematic Review. Front Vet Sci. 2018 Aug 31;5. https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00204
36. FSE parameters - Questions and Answers in MRI [Internet]. [cited 2023 Aug 7]. Available from: https://mriquestions.com/fse-parameters.html#
37. Katina S, Farbakova J, Madari A, Novak M, Zilka N. Risk factors for canine cognitive dysfunction syndrome in Slovakia. Acta Vet Scand. 2015 Dec 29;58(1):17. https://doi.org/10.1186/s13028-016-0196-5
38. Tapp PD, Siwak CT, Gao FQ, Chiou JY, Black SE, Head E, et al. Frontal Lobe Volume, Function, and β-Amyloid Pathology in a Canine Model of Aging. The Journal of Neuroscience. 2004 Sep 22;24(38):8205–13. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1339-04.2004

Anexo 1 - Escala de avaliação SANRA (1).

Scale for the Assessment of Narrative Review Articles – SANRA

Please rate the quality of the narrative review article in question, using categories 0–2 on the following scale. For each aspect of quality, please choose the option which best fits your evaluation, using categories 0 and 2 freely to imply general low and high quality. These are not intended to imply the worst or best imaginable quality.

1) Justification of the article's importance for the readership

The importance is not justified. — 0
The importance is alluded to, but not explicitly justified. — 1
The importance is explicitly justified. — 2

2) Statement of concrete aims or formulation of questions

No aims or questions are formulated. — 0
Aims are formulated generally but not concretely or in terms of clear questions. — 1
One or more concrete aims or questions are formulated. — 2

3) Description of the literature search

The search strategy is not presented. — 0
The literature search is described briefly. — 1
The literature search is described in detail, including search terms and inclusion criteria. — 2

4) Referencing

Key statements are not supported by references. — 0
The referencing of key statements is inconsistent. — 1
Key statements are supported by references. — 2

5) Scientific reasoning

(e.g., incorporation of appropriate evidence, such as RCTs in clinical medicine)

The article's point is not based on appropriate arguments. — 0
Appropriate evidence is introduced selectively. — 1
Appropriate evidence is generally present. — 2

6) Appropriate presentation of data

(e.g., absolute vs relative risk; effect sizes without confidence intervals)

Data are presented inadequately. — 0
Data are often not presented in the most appropriate way. — 1
Relevant outcome data are generally presented appropriately. — 2

Sumscore

Anexo 2 – Parecer da Comissão de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa.

REFERÊNCIA INTERNA DO PROETO: CE-ESTeSL-Nº.92-2022 – António Almeida
TÍTULO DO PROJETO: Avaliação do volume do hipocampo por ressonância magnética em cães com síndrome de disfunção cognitiva.
Tipo de Projeto/Estudo: Investigação 2º ciclo
INVESTIGADOR/A RESPONSÁVEL: António Almeida
Equipa: Profª Maria João Carapinha
INSTITUIÇÃO PROMOTORA: Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Instituto Politécnico de Lisboa;
Instituição(ões) envolvidas: ESTeSL-IPL; Faculdade de Medicina Veterinária; Universidade de Lisboa.
SUBMETIDO: 03-08-2022
RESPOSTA CE-ESTeSL: 26-10-2022
RESPOSTA: 22-01-2024

Exma. Senhora Professora Doutora Maria João Carapinha
Exmo. Senhor Dr. António Almeida, estudante de mestrado

Após os esclarecimentos, Comissão de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa (CE-ESTeSL) aprovou por unanimidade a emissão de parecer favorável.

O presente parecer tem em consideração a versão submetida do projeto e demais documentação enviada. Eventuais alterações nestes documentos determinam a necessidade de revisão do presente parecer.

Lembramos que todos os estudos que envolvem a autorização dos participantes e a recolha de amostras e dados anonimizados e/ou codificados têm de cumprir com o estabelecido no Regulamento Geral sobre a Proteção de Dados de 27 de abril de 2016.

Por último, solicita-se que, ao abrigo do artº 19 da Lei 21/2014 de 16 de abril e do disposto no nº 23 da atual versão da Declaração de Helsínquia, seja dado conhecimento à CE-ESTeSL do relatório final, com as conclusões do estudo, bem como de eventuais alterações ao protocolo de investigação e demais informações tidas por relevantes.

Aproveitamos ainda para desejar o maior sucesso no desenvolvimento deste trabalho.

Com os melhores cumprimentos,

Rute Borrego

Anexo 3 – Parecer da Comissão de Ética para a Investigação e Ensino – Faculdade de Medicina Veterinária

U LISBOA | UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

Comissão de Ética para a Investigação e Ensino (CEIE)

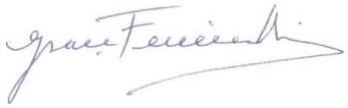
Exmo. Senhor
Dr. António Luís Videira Pinheiro de Almeida
Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa, 9 de janeiro de 2023

Assunto: Avaliação projeto de investigação – N/Refª 003/2023

Vimos pela presente informar V.Exa. que a CEIE, após ter avaliado as atividades que envolvem manipulação de animais, no âmbito do projeto de investigação "Avaliação do volume do hipocampo por ressonância magnética em cães com síndrome de disfunção cognitiva" considerou que estão salvaguardados os princípios éticos e de bem-estar animal exigidos pela legislação vigente e pelo código de boas práticas, pelo que aprovou a execução do protocolo experimental nas instalações e serviços da FMV, conforme requerido por V.Exa.

Com os melhores cumprimentos,



Graça Ferreira Dias
Coordenadora da Comissão de Ética para a Investigação e Ensino

Avenida da Universidade Técnica – Pólo Universitário do Alto da Ajuda – 1300-477 – PORTUGAL
☎ (351) 213 652 882

Apêndice 1 - Consentimento informado para participação em investigação.

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
Conselho de Ética

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO

Por favor, leia com atenção a seguinte informação. Se achar que algo está incorreto ou não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

O título do projeto de investigação é "Avaliação do volume do hipocampo por ressonância magnética em cães com síndrome de disfunção cognitiva."

Investigador principal:
António Pinheiro de Almeida
Telefone: (+351) 916926767

Introdução e propósito do estudo

A ressonância magnética (RM) é uma técnica de imagem usada principalmente em ambientes médicos para produzir imagens de alta qualidade do interior do corpo. A tecnologia permite-nos avaliar estruturas previamente inacessíveis *in vivo*, sendo possível a obtenção de dados biológicos, tais como a dimensão de estruturas anatómicas ou o volume de órgãos. A técnica é uma janela para o encéfalo, sendo de particular interesse na área da neurologia e no estudo de doenças neurológicas.

A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa progressiva que se manifesta por alterações cognitivas e comportamentais. Existem diversos marcadores biológicos que podem ser usados para obter um diagnóstico médico, entre os quais o volume hipocampal, que pode ser medido com recurso à ressonância magnética e software de análise de imagem.

Em cães, a síndrome de disfunção cognitiva é uma doença neurodegenerativa com paralelismos em relação à doença de Alzheimer. O diagnóstico é feito através de inquérito realizado aos tutores, não existindo parâmetros biológicos objetivos que possam ser medidos e que sejam uteis em ambiente clínico. Nestes animais, o elo entre o volume do hipocampo e a síndrome de disfunção cognitivo não está tão bem estabelecido.

O estudo pretender avaliar a possível correlação entre o volume do hipocampo e a síndrome de disfunção cognitiva canina, com recurso à ressonância magnética. A hipótese é de que, tal como em pacientes humanos, também nos cães existe redução da volumetria hipocampal em pacientes com síndrome de disfunção cognitiva.

Tipo de intervenção

O estudo não altera o plano clínico e terapêutico previamente estabelecido. A sua participação consistirá na realização de uma aquisição de imagens de encéfalo em ressonância magnética, e num breve questionário de 13 perguntas acerca da saúde do seu cão.

Seleção de participantes

Serão escolhidos para participar neste estudo cães com e sem sinais de disfunção cognitiva que se apresentem para exames no Hospital Escolar e que necessitem de anestesia geral.

Participação voluntária

A participação neste estudo é totalmente voluntária. A escolha de participar ou não neste estudo é totalmente sua. O facto de escolher ou não participar neste estudo não vai alterar a qualidade dos serviços e tratamentos que recebe. Caso escolha participar, poderá desistir a qualquer momento, bastando para isso informar o investigador.

Procedimentos

Não serão realizados exames adicionais como resultado da participação no estudo. O seu seguimento enquadrar-se-á no seguimento habitual do seu cão no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária.
Neste estudo, é proposta a aquisição de sequências de RM para avaliar o volume do hipocampo e relacionar essa informação com o grau de disfunção cognitiva (caso presente) do se cão. A avaliação do grau de disfunção cognitiva será feita através de um questionário de 13 perguntas.

A ressonância magnética é uma técnica de imagem usada principalmente em ambientes médicos para produzir imagens de alta qualidade do interior do corpo. A tecnologia permite-nos avaliar estruturas previamente inacessíveis in vivo, sendo possível a obtenção de dados biológicos, tais como a dimensão de estruturas anatómicas ou o volume de órgãos. A técnica é uma janela para o encéfalo, sendo de particular interesse na área da neurologia e no estudo de doenças neurológicas.

Os equipamentos de ressonância magnética empregam um magneto potente capaz de produzir um campo magnético principal que força os protões em estudo a se alinharem com o campo. Quando é aplicado um impulso de radiofrequência específico para os protões a estimular, existe modificação do estado energético destes. Quando o impulso de radiofrequência é desligado, e à medida que os átomos relaxam e se realinham com o campo magnético principal, existe libertação da energia ganha pelo pulso de radiofrequência. A máquina de ressonância magnética capta essa energia e pode identificar a localização dos átomos e reconstruir uma imagem dos tecidos em estudo.

Utilização de dados

Os dados relativamente às diferenças obtidas do volume do hipocampo serão analisados para avaliar se existe relação entre o volume deste órgão e a existência de síndrome de disfunção cognitiva.

Riscos associados

Os cães serão sujeitos a um tempo de anestesia adicional inferior a 10 minutos. A anestesia será monitorizada por médico veterinário anestesiologista, sendo interrompida imediatamente perante qualquer intercorrência detetada pelo médico anestesiologista. Os parâmetros vitais, tais como a pressão arterial, temperatura, capnografia e saturação de oxigénio serão controlados. O exame de ressonância só será realizado se durante a tomografia se verificar uma anestesia estável. O exame de ressonância magnética não implica radiação ionizante e não tem risco para o seu cão.

Benefícios

Este estudo não trará benefícios imediatos para o seu cão, mas poderá beneficiar no diagnóstico de síndrome de disfunção cognitiva canina noutros pacientes.

Custos e compensações

A sua participação neste estudo não terá quaisquer custos adicionais para si. Não lhe será dada nenhuma compensação, monetária ou outra, pela sua participação neste estudo.

Confidencialidade

Todos os dados recolhidos durante este estudo são mantidos estritamente confidenciais.

Partilha de resultados

Os dados recolhidos durante o estudo poderão ser partilhados com os restantes membros da equipa de investigação, sempre que necessário. Autoriza que os membros da equipa tenham acesso a esses dados. Compreende que, caso esta investigação venha a ser publicada, todos os dados serão mantidos anónimos e nenhuma informação será identificável como sendo sua.

Contactos

Caso tenha alguma dúvida sobre este estudo, seja antes ou durante a sua participação, ou mesmo após este ter terminado, pode contactar o Investigador Principal.

Quaisquer questões sobre os seus direitos e deveres como participante, no contexto deste estudo clínico, podem ser endereçados às seguintes entidades independentes, que apreciaram e emitiram parecer favorável para este estudo clínico:

- Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa
- Comissão de Ética para a Investigação e Ensino (CEIE) da Faculdade de Medicina Veterinária

Confirmo que expliquei à pessoa abaixo indicada, de forma adequada e inteligível, os procedimentos necessários ao ato referido neste documento. Respondi a todas as questões que me foram colocadas e assegurei-me de que houve um período de reflexão suficiente para a tomada da decisão. Também garanti que, em caso de recusa, não haverá quaisquer consequências.

Nome legível do investigador/profissional de saúde .....

Telefone/telemóvel ..... Email (caso possua) .....

Assinatura: ..... Data: ..... /..... /.....

Nome legível da pessoa que consente: .....

Telefone/telemóvel ..... Email (caso possua) .....

Assinatura: ..... Data: ..... /..... /.....

Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela pessoa que acima assina. Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, declaro que aceito participar neste estudo, e que tomo a minha decisão de forma inteiramente livre, e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pelo investigador.

ESTE DOCUMENTO É COMPOSTO DE 4 PÁGINAS E É FEITO EM DUPLICADO: UMA VIA PARA O INVESTIGADOR, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE.

Apêndice 2 – Escala da disfunção cognitiva do cão idoso.

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

Escala da disfunção cognitiva do cão idoso

	Nunca	1x /mês	1x /sem	1x/dia	+1x /dia	Resultado
Com que frequência o seu cão deambula ou anda em círculos, sem direção aparente?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Com que frequência o seu cão fixa o olhar nas paredes ou no chão?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Com que frequência o seu cão fica preso atrás de objetos, sem capacidade para os contornar?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Com que frequência o seu cão é incapaz de reconhecer pessoas familiares?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Com que frequência o seu cão vai contra paredes ou portas?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Com que frequência o seu cão se ausenta ou evita receber festas?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=

	Nunca	1-30% das vezes	31-60% das vezes	61-99% das vezes	Sempre	Resultado
Com que frequência o seu cão tem dificuldade em encontrar comida largada no chão?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=

	Muito menos	Menos	Igual	Mais	Muito mais	Resultado
Comparando com há 6 meses, houve agravar do deambulamento sem direção aparente?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Comparando com há 6 meses, fixa mais o olhar nas paredes ou no chão?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Comparando com há 6 meses, o seu cão defeca / urina em locais onde não o fazia?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=
Comparando com há 6 meses, tem mais dificuldade em encontrar comida largada no chão?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	Multiplicar por 2 =
Comparando com há 6 meses, é mais incapaz de reconhecer pessoas familiares?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	Multiplicar por 3 =

	Muito mais	Mais	Igual	Menos	Muito menos	Resultado
Comparando com há 6 meses, existe alguma alteração no grau de atividade do seu cão?	□ = 1	□ = 2	□ = 3	□ = 4	□ = 5	=

0-39 Normal	40-49 Em Risco	+50 Disfunção cognitiva	Total	=

Adaptado de http://rng.org.au/wp-content/uploads/2014/09/CCDR-scale-revised.pdf

António Pinheiro de Almeida

916926767

bazooll@gmail.com

Nome do tutor:

Nome do paciente:

Idade:

NHC:

Mais informações : www.tomografia.vet

Apêndice 3 – Resultados da medição do volume do hipocampo. Dados originais deste estudo.

Número de Identificação	Peso (Kg)	Volume do Hipocampo (cm3)	Sexo	Volume Encéfalo (cm3)	Pontuação inquérito	Raça	Encefalo / Peso	Hipocampo / Cérebro	Idade (Meses)	Síndrome de Disfunção Cognitiva
27899	13,8	1,00	Fêmea	73,8	50	Indeterminada	5,35	1,36	127	Sim
11249	12,4	1,21	Fêmea	97,2	51	B.Francês	7,84	1,25	147	Sim
28617	48,9	1,31	Fêmea	121,9	69	Dogue de Bordéus	2,49	1,08	118	Sim
88446	12,5	1,01	Macho	83,7	54	Indeterminada	6,70	1,21	167	Sim
71139	20,9	1,08	Macho	99,6	50	B.Francês	4,76	1,08	92	Sim
61048	4,9	0,60	Macho	67,0	59	Yorkshire Terrier	13,66	0,90	163	Sim
22680	13,3	1,18	Macho	96,8	54	B.Francês	7,28	1,22	127	Sim
86706	28,2	1,17	Macho	106,1	64	Indeterminada	3,76	1,10	134	Sim
20943	18,5	1,06	Macho	99,1	59	Indeterminada	5,36	1,07	142	Sim
88094	8,8	1,55	Macho	82,6	43	WHWT	9,38	1,88	182	Não
86073	14,4	2,30	Macho	109,4	34	B.Francês	7,60	2,10	101	Não
88066	34,5	1,57	Fêmea	95,3	34	P.Belga	2,76	1,65	152	Não
87766	2,8	0,81	Fêmea	54,2	34	Chihuahua	19,34	1,50	65	Não
88150	7,2	0,96	Fêmea	56,6	34	Yorkshire Terrier	7,87	1,69	132	Não
88186	6,4	1,15	Macho	62,4	37	Indeterminada	9,75	1,84	74	Não
88206	35	1,63	Macho	103,2	35	Labrador	2,95	1,58	124	Não
88250	3,3	1,22	Macho	63,9	34	Caniche	19,36	1,90	167	Não
88258	37,1	2,45	Macho	125,1	35	Golden Retriever	3,37	1,96	125	Não
65991	19,1	1,34	Macho	88,4	38	Indeterminada	4,63	1,51	187	Não
87558	21,1	1,70	Fêmea	115,3	35	Bulldog	5,47	1,48	130	Não
88403	28,1	1,53	Fêmea	103,4	34	Pastor Australiano	3,68	1,48	24	Não
877	6,7	0,93	Macho	63,3	48	Shih-Tzu	9,45	1,47	167	Não
88388	26,5	1,65	Macho	102,5	38	Indeterminada	3,87	1,61	146	Não
16401	3,4	0,84	Fêmea	54,5	35	Indeterminada	16,04	1,54	171	Não

Apêndice 4 - Resultados da medição do volume do encéfalo. Dados originais deste estudo.

Número de Identificação	Volume T2 Standard (cm3)	Volume T2 Rápida (cm3)	Volume T2 Ultra Rápida (cm3)
32942	102,8	102,6	103,5
28617	121,9	121,8	120,1
87558	115,3	116,0	112,6
27889	73,8	72,9	73,1
88402	96,2	96,5	96,4
88528	125,1	125,3	128,9
65991	88,4	89,0	88,3
88388	102,5	102,4	104,9
88403	103,4	104,0	103,5
88445	104,3	103,6	103,4
11249	97,2	97,4	99,6
88446	83,7	82,5	79,6
88466	80,6	81,2	81,8
20943	99,1	98,2	100,4
71139	99,6	100,3	101,2
61048	67,0	66,3	68,3
22680	96,8	97,3	96,9
877	63,3	63,9	63,3
86706	106,1	105,9	107,8
16401	54,5	53,4	56,6