



INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA



ISEL



ESCOLA SUPERIOR DE
TECNOLOGIA DA SAÚDE
DE LISBOA

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

Instituto Superior de Engenharia de Lisboa

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa



Avaliação do corpo estriado e da substância negra na Doença de Parkinson através de imagens de Ressonância Magnética [T2w] e DaTSCAN SPECT

Luís Pedro Miranda Mesquita

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

Orientadores

Doutora Maria Margarida do Carmo Pinto Ribeiro (ESTeSL/IPL)

Doutora Lina da Conceição Capela Vieira (ESTeSL/IPL)

Novembro de 2023



INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA



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

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

Instituto Superior de Engenharia de Lisboa

Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

**Avaliação do corpo estriado e da substância negra na Doença de
Parkinson através de imagens de Ressonância Magnética [T2w] e
DaTSCAN SPECT**

Luís Pedro Miranda Mesquita

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

Orientadores

Doutora Maria Margarida do Carmo Pinto Ribeiro (ESTeSL/IPL)

Doutora Lina da Conceição Capela Vieira (ESTeSL/IPL)

Júri

Presidente: Doutor Manuel José de Matos

Vogal (Arguente): Doutora Sandra Raquel Ramos Tecelão

Vogal (Orientadora): Doutora Lina Conceição Capela Vieira

Novembro de 2023

Agradecimentos

Este trabalho marca uma etapa muito importante na minha vida. A entrega da dissertação de Mestrado é o culminar de anos de estudo, determinação, esforço e de várias noitadas em frente ao computador.

Quando aceitei este desafio, não sabia o mundo complexo e fascinante que é a Doença de Parkinson. Sempre tive uma curiosidade enorme pelas funções cerebrais do ser humano e poder desvendar parte desse mistério foi muito gratificante.

Este trabalho não seria possível sem o apoio incansável da Professora Doutora Lina Vieira e da Professora Doutora Margarida Ribeiro (critério estritamente alfabético). Não tenho palavras para agradecer a orientação imprescindível durante este trabalho. Fico-me por um enorme Obrigado!

Agradeço, também, aos meus pais, por me terem proporcionado a oportunidade de estudar e por tudo o resto que é inumerável.

Agradeço à minha família, amigos e colegas de faculdade, pela partilha de conhecimento e pelos momentos de lazer e descontração.

Resumo

A Doença de Parkinson (DP) é um transtorno neurodegenerativo progressivo causado pela perda seletiva de neurónios dopaminérgicos localizados maioritariamente na região *pars compacta* da substância negra (SN), onde há uma perda de axónios que fazem a ligação desta região e se projetam para os núcleos da base, nomeadamente o corpo estriado. Atualmente, é uma doença diagnosticada clinicamente, no entanto, os estudos de imagem médica têm vindo a ganhar destaque e são fundamentais para a deteção da DP. A *Single-Photon Emission Computed Tomography* (SPECT) e a Ressonância Magnética (RM) são métodos de imagem médica mais utilizados devido à informação molecular e morfológica que apresentam, respetivamente.

Esta dissertação tem como objetivo geral avaliar a DP através da quantificação comparativa de estruturas cerebrais profundas, envolvidas nos sistemas dopaminérgicos, em imagens DaTSCAN SPECT e imagens RM T2 em pacientes com DP e em voluntários saudáveis (VS), recorrendo à base de dados *Parkinson's Progressive Markers Initiative* (PPMI).

Foram avaliados e comparados diferentes métodos de segmentação (manual, *ThreeBox*, *Threshold* e atlas anatómico) em imagens DaTSCAN SPECT, assim como a evolução da DP através do método *ThreeBox*. Em RM T2 foi avaliada a intensidade do sinal e volume da SN, e a integridade e presença do nigrossoma-1. O *Binding Potential Index* (BPI) foi calculado para todas as segmentações SPECT e calculou-se a correlação Spearman para aferir sobre a relação entre a perda dopaminérgica no estriado e na SN.

A amostra selecionada consiste em imagens de dois grupos: pacientes com DP e VS. Em SPECT selecionaram-se 49 imagens de VS e 42 imagens de pacientes com DP. Em RM escolheram-se 40 imagens de VS e 42 imagens de pacientes com DP.

Em imagens DaTSCAN SPECT, a variação da média do BPI, entre VS e pacientes com DP, foi de 37,608% (manual), 50,486% (*ThreeBox*), 16,868% (*Threshold*) e para a segmentação com atlas anatómico 60,331% (putámen), 46,490% (globo pálido) e 35,895% (núcleo caudado). Para a evolução da DP a 12 meses obteve-se uma variação de 9,969% e, aos 24 meses, a percentagem de variação foi de 17,389%. No estudo das imagens de RM verificou-se que não existe uma diferença expressiva de intensidade ou volume da SN entre VS e pacientes com DP. Sobre o nigrossoma-1, em VS contabilizaram-se oito imagens com presença unilateral, 31 imagens com presença bilateral e uma imagem onde não foi possível identificar os nigrossomas-1. No grupo de pacientes com DP foram assinaladas 12 imagens com presença unilateral, 11 imagens com presença bilateral e 19 imagens onde não se visualizou qualquer nigrossoma-1. Os valores do coeficiente das correlações Spearman entre o volume e a intensidade da SN, e o BPI foram pouco significativos: (volume SN esquerda - BPI: $\rho = -0,084$, $P > 0,05$), (volume SN direita - BPI: $\rho = -0,059$, $P > 0,05$), (intensidade SN esquerda - BPI: $\rho = -0,018$, $P > 0,05$) e (intensidade SN esquerda - BPI: $\rho = -0,134$, $P > 0,05$). Sobre a correlação entre o

volume da SN e a idade, a correlação Spearman foi negativa, moderada e significativa (SN esquerda: $\rho = -0,329$, $P < 0,05$; SN direita: $\rho = -0,365$, $P < 0,05$). Da mesma forma, a correlação entre a intensidade da SN e a idade foi também negativa, moderada e significativa, exceto à esquerda (SN esquerda: $\rho = -0,225$, $P > 0,05$; SN direita: $\rho = -0,380$, $P < 0,05$). Na correlação do BPI e a idade, a correlação foi negativa, fraca e não significativa (Corpo estriado esquerdo: $\rho = -0,036$, $P > 0,05$; Corpo estriado direito: $\rho = -0,178$, $P > 0,05$).

A metodologia de segmentação *ThreeBox* apresentou melhores resultados discriminatórios, enquanto que a metodologia por *Threshold* obteve os piores resultados discriminatórios. O estudo da evolução da DP permite concluir que há uma tendência progressiva e linear de degeneração dopaminérgica no estriado. Os resultados das segmentações de RM T2 apresentaram fraca discriminação entre VS e pacientes com DP, não havendo diferenças expressivas na intensidade e no volume da SN. As correlações entre a intensidade e o volume da SN com o BPI foram fracas, negativas e estatisticamente não significativas, significando que não existe uma associação entre as variáveis. Na análise sociodemográfica, o fator da idade não apresenta diferenças expressivas.

Palavras-chave: Doença de Parkinson, RM T2, DaTSCAN SPECT, Corpos estriados, Substância negra.

Abstract

Parkinson's Disease (PD) is a progressive neurological disorder characterized by the loss of dopaminergic neurons located on Substantia Nigra pars compacta, where axons connected themselves to the basal ganglia, namely the striatum. Currently, it is a clinically diagnostic disease, however, medical imaging has gained some ground and could be essential to detect PD. Single-Photon Emission Computed Tomography (SPECT) and Magnetic Resonance Imaging (MRI) are the most common techniques used, thanks to its molecular and morphological information, respectively.

This thesis has the primary goal as the evaluation of PD with comparative quantification methods of cerebral structures, involved in dopaminergic systems, in DaTSCAN SPECT and MRI T2 images. Healthy controls (HC) and PD patients will be compared, using the Parkinson's Progressive Markers Initiative (PPMI) database.

Different segmentation methods (manual, ThreeBox, Threshold and Atlas) will be compared in DaTSCAN SPECT images, as well as the evolution of PD with the ThreeBox method; In MRI T2 will be evaluated the intensity and volume of SN, and the integrity and presence of nigrossome-1; Binding Potential Index (BPI) will be calculated for all SPECT methods; It will be used Spearman's correlation to relate the dopaminergic loss in striatum and SN.

In SPECT, 49 HC and 42 DP patients' images were selected, and in MRI, 40 HC and 42 DP patients' images were selected.

In DaTSCAN SPECT images, the BPI average mean variation was 37,608% (manual), 50,486% (ThreeBox), 16,868% (Threshold) and for the Atlas method it was 60,331% (putamen), 46,490% (globus pallidus) and 35,895% (caudate nucleus). The evolution of DP at 12 months achieved a BPI reduction of 9,969% and, at 24 months, the BPI was 17,389% less. In MRI analysis, it was noted that there is no significant difference in volume or intensity of SN between HC and PD patients. The nigrossome-1 presence in HC was as follow: eight unilateral, 31 bilateral and one bilateral absence. In PD patients: 12 unilateral, 11 bilateral and 19 bilateral absences. The Spearman's correlation was calculated between the volume of SN and BPI, and intensity of SN and BPI: (left SN volume- BPI: $\rho = -0,084$, $P > 0,05$), (right SN volume - BPI: $\rho = -0,059$, $P > 0,05$), (left SN intensity - BPI: $\rho = -0,018$, $P > 0,05$) e (left SN intensity - BPI: $\rho = -0,134$, $P > 0,05$). Also, the Spearman's correlation was calculated between the volume of SN and age (left SN: $\rho = -0,329$, $P < 0,05$; right SN: $\rho = -0,365$, $P < 0,05$); between intensity of SN and age (left SN: $\rho = -0,225$, $P > 0,05$; right SN: $\rho = -0,380$, $P < 0,05$); and between BPI and age (left striatum: $\rho = -0,036$, $P > 0,05$; right striatum: $\rho = -0,178$, $P > 0,05$).

The ThreeBox method presented the best results for distinguish between HC and PD patients, while the Threshold method was the worst one. The evolution of PD method proved that there is a progressive and linear tendency of dopaminergic loss in the striatum. For MRI segmentations, there

was a weak separation in intensity and volume of SN between HC and PD patients. The correlations between intensity and volume of SN with BPI are weak, negative, meaning that there isn't an association between them. Also, age isn't a significant factor between HC and PD patients.

Keywords: *Parkinson's Disease, MRI T2, DaTSCAN SPECT, Striatum, Substantia Nigra*

Índice

1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento do Problema	1
1.2. Objetivos	2
1.3. Estrutura da dissertação.....	3
2. Enquadramento Teórico	5
2.1. A Doença de Parkinson	5
2.2. SPECT.....	13
2.3. Ressonância Magnética	21
3. Materiais e Métodos	31
3.1. Tipo de estudo	31
3.2. Caracterização da amostra.....	31
3.3. Segmentação de imagens.....	32
3.3.1. Software: 3D Slicer	32
3.3.2. Critérios de repetibilidade na segmentação	32
3.3.3. Metodologias de segmentação em imagens SPECT.....	33
3.3.4. Metodologia de segmentação de imagens de RM	36
3.4. Análise quantitativa estatística	38
4. Resultados e Discussão	39
4.1. SPECT.....	39
4.2. Avaliação das imagens de RM	49
4.3. Correlação entre DaTSCAN SPECT e RM T2	51
4.4. Variáveis sociodemográficas e DP.....	53
5. Conclusões	55
Bibliografia.....	58

Índice de Figuras

Figura 1 – Plano anatómico sagital de amostra macroscópica representando as regiões do encéfalo (36).	7
Figura 2 – Imagem ilustrativa do plano anatómico transversal representando as regiões do encéfalo (36).	7
Figura 3 - Imagem ilustrativa dos núcleos da base (a) vista lateral (b) vista anterior e (c) vista anterior (36).	8
Figura 4 - Modelo de conectividade dos núcleos da base num indivíduo saudável (esquerda) e num indivíduo com DP (direita) (47). Setas sem preenchimento representam neurónios GABA excitatórios e setas preenchidas representam neurónios glutamérgicos inibitórios.	10
Figura 5 – Ilustração da progressão da neurodegeneração da DP no tronco encefálico, mesencéfalo e no córtex cerebral (a) (42).	11
Figura 6 – Plano transversal de imagem molecular de um paciente com tremor essencial segmentada com o método TwoBox (esquerda) e ThreeBox (direita) (61).	15
Figura 7 – Plano transversal de imagem molecular com duas ROIs de referência separadas (63).	15
Figura 8 - ROIs aplicadas no corpo estriado de um indivíduo saudável (a) e num doente (b). A região de referência abrange todo o parênquima cerebral, excluindo o estriado (61).	16
Figura 9 – Imagem DaTSCAN SPECT com ROIs identificando o estriado (superiores) e a região de referência (ROI inferior) pelo método ThreeBox (12).	17
Figura 10 - Exemplo das ROIs do método crescente (60,65).	18
Figura 11 - Metodologia de segmentação manual realizada por um especialista (a) e metodologia de segmentação automática desenvolvida no estudo (b) (66).	18
Figura 12 – Plano transversal de imagem de RM com contraste à NM num voluntário saudável (a) e num paciente com DP (18).	22
Figura 13 - Imagem de RM do plano axial do mesencéfalo para medição da área dos segmentos da SN em grupos de VS (71).	23
Figura 14 - Plano transversal do mesencéfalo de um voluntário saudável (A) e de um paciente com DP (B). Nas colunas da esquerda encontram-se slices sequenciais de RM e nas colunas da direita estão identificadas as ROIs para a SN, tegmento pontino e pedúnculo cerebral.	23
Figura 15 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo obtida por segmentação semiautomática da área da SN em VS (A) e pacientes com DP há 2-5 anos (B), demonstrando a sua significativa depleção (75).	24
Figura 16 - Figuras de planos axiais do mesencéfalo, representando segmentações semiautomáticas, obtidas a partir de imagens filtradas com Edge Preserving Smoothing e três diferentes níveis de contrastes (76).	24
Figura 17 - Ilustração da segmentação das ROI manuais (vermelho) e automáticas (verde) do putâmen (A) e SN (B) em 6 diferentes planos axiais de RM em ponderação T1 (28).	25
Figura 18 - Imagens axiais de um sujeito saudável em 3T do mesencéfalo superior (a) e inferior (c), e em 7T do mesencéfalo superior (b) e inferior (d) (80).	26
Figura 19 - Representação esquemática axial do mesencéfalo, em imagens de RM T2, identificando a SN, distinguindo a SNc e a SNr pela linha a tracejado (à direita). A zona cinzenta, à esquerda, representa o pedúnculo cerebral sobrepondo-se à SNr (81).	27
Figura 20 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo. A linha verde representa o contorno da ROI que compreende a SN e as proximidades (39).	28
Figura 21 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo. Identificam-se as estruturas: pedúnculo cerebral (roxo), SNc (amarelo), SNr (azul), ATV (vermelho brilhante), núcleo rubro densamente vascularizado (laranja), núcleo rubro pouco vascularizado (verde) e corpo mamilar (vermelho sombrio) (38).	28

Figura 22 - Imagem de RM SWI no plano axial do mesencéfalo (a) com zoom (b). Anatomia da substância negra e estruturas adjacentes (c). 1-núcleo rubro, 2-tegumento do mesencéfalo, 3-aqueduto, 4-substância periaquedutal cinzenta, 5-leminisco medial, 6-nigrossoma-1, 7-SN, 8-pedúnculo cerebral, 9-corpo mamilar, 10-fossa interpeduncular, 11-radiação ótica, 12-terceiro ventrículo, 13-lobo temporal, 14-cerebelo, 15-lobo frontal.....	29
Figura 23 - Imagens de RM no plano axial do mesencéfalo. Identificação dos nigrossomas através de ROIs coloridas: N1 = roxo, N2 = amarelo, N3 = azul, N4 = vermelho, N5 = verde; em VS (a) e pacientes com DP (b) (84).....	30
Figura 24 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada manualmente de um voluntário saudável (a) e de um paciente com DP (b). As ROI segmentadas manualmente representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).....	33
Figura 25 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada com a metodologia ThreeBox de um voluntário saudável. As ROIs segmentadas representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).....	34
Figura 26 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada com a metodologia threshold de um voluntário saudável e de um paciente com DP. As ROIs segmentadas representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).....	35
Figura 27 - Definição das ROIs do putâmen, globo pálido e núcleo caudado em RM T1.....	35
Figura 28 - Atlas anatómico em SPECT.	36
Figura 29 - Exemplo de um sujeito saudável onde são identificáveis os nigrossomas-1 no plano axial do mesencéfalo numa imagem de RM T2 normalizada. À direita está demonstrada a segmentação efetuada da SN e dos nigrossomas-1. (verde: SN esquerda, amarelo: SN direita, nigrossoma esquerdo: vermelho, nigrossoma direito: azul).....	37
Figura 30 - Exemplo de um paciente com DP onde não são identificáveis os nigrossomas-1 no plano axial do mesencéfalo numa imagem de RM T2 normalizada. À direita está demonstrada a segmentação efetuada da SN. (verde: SN esquerda, amarelo: SN direita).....	37
Figura 31 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação manual para o grupo de VS e pacientes com DP.	40
Figura 32 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação ThreeBox para o grupo de VS e pacientes com DP.	42
Figura 33 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação Threshold para o grupo de VS e pacientes com DP.	44
Figura 34 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do putâmen para o grupo de VS e pacientes com DP.....	46
Figura 35 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do globo pálido para o grupo de VS e pacientes com DP.	47
Figura 36 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do núcleo caudado para o grupo de VS e pacientes com DP.	47
Figura 37 - Comparação dos boxplot entre as segmentações manual, ThreeBox e threshold.....	48
Figura 38 - Boxplot da intensidade média da SN em RM T2.	51

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Efeitos de TR e TE na ponderação da imagem de RM.	21
Tabela 2 - Caracterização da amostra em estudo.	31
Tabela 3 - Valores médios do BPI e do desvio padrão (σ) obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação manual em imagens SPECT.	39
Tabela 4 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação ThreeBox em imagens SPECT.	41
Tabela 5 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação Threshold em imagens SPECT.	43
Tabela 6 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do putâmen em imagens SPECT.	45
Tabela 7 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do globo pálido em imagens SPECT.	45
Tabela 8 - Valores médios do BPI e desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do núcleo caudado em imagens SPECT.	45
Tabela 9 - Valores médios do BPI e desvio padrão obtidos para os pacientes com DP nas aquisições Baseline, 12 meses e 24 meses, na metodologia de segmentação ThreeBox em imagens SPECT.	48
Tabela 10 - Valores da intensidade média da SN e desvios padrão obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.	49
Tabela 11 - Valores do volume médio da SN e desvios padrão obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.	49
Tabela 12 - Valores médios do volume e da intensidade média dos nigrossomas-1 obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.	50
Tabela 13 - Correlações Spearman entre o volume da SN e o BPI, e a intensidade da SN e o BPI.	52
Tabela 14 - Correlações Spearman calculados para o volume e intensidade da SN, e BPI com a idade.	53

Lista de Acrónimos

ATV	Área tegmental ventral
BPI	<i>Binding Potential Index</i>
CNN	<i>Conventional neural network</i>
DICOM	<i>Digital Imaging and Communication in Medicine</i>
DP	Doença de Parkinson
FSE	<i>Fast Spin Echo</i>
GABA	Neurónios gabaérgicos
GBA	Gene da glucocerebrosidase
glu	Neurónios glutaminérgicos
GPe	Globo pálido externo
GPi	Globo pálido interno
LRRK2	<i>Leucine-rich repeat kinase 2</i>
ML	<i>Machine Learning</i>
NM	Neuromelanina
NN	<i>Neural network</i>
PET	<i>Positron emission tomography</i>
PINK1	<i>Phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase-1</i>
PPMI	<i>Parkinson's Progressive Markers Initiative</i>
PRKN	<i>Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase</i>
PVE	<i>Partial Volume Effects</i>
RBG	<i>Red Green Blue</i>
RF	Radiofrequências
RM	Ressonância Magnética
ROI	<i>Region of interest</i>

SBI	<i>Specific Binding Index</i>
SBR	<i>Specific Binding Ratio</i>
SDR	<i>Standard Dynamic Range</i>
SN	Substância Negra
SNc	Substância Negra <i>pars compacta</i>
SNCA	<i>α-synuclein</i>
SNr	Substância Negra <i>pars reticulata</i>
SPECT	<i>Single-photon emission computed tomography</i>
SPM	<i>Statistical Parametric Mapping</i>
STIR	<i>Short Tau Inversion Recovery</i>
STN	Núcleo Subtalâmico
SUSI	<i>Specific Uptake Size Index</i>
SVM	<i>Support Vector Machine</i>
SWAN	<i>Susceptibility-weighted Angiography</i>
TDA	Transportador dopaminérgico de dopamina
TE	Tempo de eco
THA	Tálamo
TR	Tempo de repetição
UPDRS	<i>Unified PD rating scale</i>
VOI	Volume de interesse
VS	Voluntários Saudáveis
σ	Desvio padrão

1. Introdução

1.1. Enquadramento do Problema

A Doença de Parkinson (DP) é uma perturbação neurodegenerativa progressiva causada pela perda seletiva de neurónios dopaminérgicos localizados maioritariamente na região *pars compacta* da substância negra (SNc), condicionando uma perda de axónios que partem desta região e se projetam para os núcleos da base, nomeadamente os corpos estriados (1,2). Esta projeção designa-se por via dopaminérgica nigroestriatal e a sua lesão determina a diminuição da neurotransmissão da dopamina. Esta alteração fisiopatológica gera sintomas neurológicos, tais como tremores de repouso, rigidez muscular, bradicinesia e instabilidade postural (1–3).

A deteção precoce e o diagnóstico da DP são alguns dos grandes desafios das comunidades médica e científica. A variabilidade na apresentação clínica, a inexistência de sintomas em estadios pré-clínicos e a velocidade de evolução dificultam o diagnóstico precoce da DP (4). Estes desafios são evidenciados pelas percentagens elevadas de redução da atividade da dopamina, ou neurodegeneração, que certas estruturas apresentam quando se realizam os primeiros exames de diagnóstico. Geralmente, antes da manifestação dos primeiros sintomas, há uma perda neuronal dopaminérgica pré-sináptica de 60 a 80%, detetada em exames *Single-Photon Emission Computed Tomography* (SPECT) (5). Além disso, com a evolução da doença, os níveis de captação podem diminuir até aos 90% (6,7).

Na década de 90, com o desenvolvimento de radiofármacos (tais como o 123I-FP-CIT, ou DaTSCAN, e o Tecnécio-99m TRODAT-1) com afinidade para o transportador dopaminérgico (TDA), surgiram novos métodos de imagem molecular com particular relevância na DP (8,9). Os estudos com SPECT ganharam grande importância, pois permitem uma avaliação da concentração de TDA *in vivo* e conseguem discriminar pacientes com DP de pacientes saudáveis, com sensibilidade e especificidade superiores a 90% (10).

As imagens obtidas por SPECT são alvo de diferentes metodologias de quantificação, não existindo um consenso generalizado na comunidade científica sobre qual deve ser preferencial. Por um lado existem estudos que apresentam metodologias de segmentação manuais, mas que apresentam as limitações na reprodutibilidade, no tempo consumido e em variações intra e inter-observador (11). Por outro, as metodologias semiautomáticas e automáticas têm sido desenvolvidas, com especial destaque para os métodos *ThreeBox* e *TwoBox* (12,13), e para a aplicação de classificadores de Inteligência Artificial (IA) (14–16).

Para além da SPECT, a Ressonância Magnética (RM) é, também, tipicamente utilizada na DP para avaliar estruturas e estabelecer o diagnóstico diferencial com outras doenças neurodegenerativas. Esta avaliação é possível devido à existência de neuromelanina (NM) em várias regiões do cérebro, principalmente na substância negra (SN). A NM possui propriedades paramagnéticas e associa-se

facilmente a metais como o ferro que incrementam as taxas de relaxação transversal tecidual. Este fenómeno beneficia o estudo da DP através de RM, tornando a imagem, na zona da SN, com hipersinal (17–19). Assim, as medições morfológicas e de quantificação do sinal na zona da SN por RM poderão ser biomarcadores de diagnóstico essenciais na deteção de doenças neurodegenerativas como a DP.

A NM é um pigmento escuro produzido no citosol de neurónios catecolaminérgicos através da oxidação do excesso de dopamina nas quinonas e é armazenada em lisossomas autofágicos de NM, onde se liga a metais como o cobre, zinco e ferro (20). Em pessoas saudáveis e em concentrações normais, a NM tem funções neuroprotetoras removendo do citosol substâncias tóxicas e evitando neurotoxicidade. No entanto, a partir de determinadas concentrações e devido à neurodegeneração, a NM é libertada, contendo metais e químicos orgânicos que se acumularam ao longo dos anos. Esta libertação no espaço intracelular desencadeia a ação da microglia, produzindo moléculas pró-inflamatórias e reativas que respondem a corpos estranhos induzindo mais morte neuronal e libertação de NM. Estabelece-se um ciclo vicioso que compromete o normal funcionamento neuronal e que origina doenças neurodegenerativas, como a DP (20,21).

Vários estudos têm sido realizados sobre esta temática envolvendo diferentes estruturas cerebrais, diferentes técnicas de segmentação e diferentes ponderações, existindo divergências de resultados em relação às segmentações manuais e automáticas (19,22–28). Contudo, não há uma única ponderação em ressonância magnética que seja a melhor para o estudo da DP, mas sim uma combinação de diferentes ponderações que podem fornecer informações complementares sobre as alterações estruturais, funcionais e metabólicas que ocorrem no cérebro dos pacientes com esta condição. A escolha da ponderação mais adequada depende do objetivo do estudo, da disponibilidade dos recursos e da qualidade dos dados (19).

Ambas a SPECT e a RM são técnicas que podem auxiliar no diagnóstico da DP e, até à data, existem poucos estudos que abordem as duas técnicas (29,30). O estudo combinado destas duas técnicas é recente e necessita ser aprofundado (19,29).

1.2. Objetivos

Esta dissertação tem como objetivo geral avaliar a DP através da quantificação comparativa de estruturas cerebrais profundas, envolvidas nos sistemas dopaminérgicos, em imagens DaTSCAN SPECT e imagens RM T2 em doentes com DP e em voluntários saudáveis (VS), recorrendo à base de dados *Parkinson's Progressive Markers Initiative* (PPMI).

Os objetivos operacionais concretizam-se pela segmentação e quantificação de estruturas cerebrais que estão relacionadas com a DP, por duas técnicas de imagem diferentes (DaTSCAN SPECT e RM com ponderação T2), utilizando o *software* 3D Slicer. Adicionalmente, pretende-se comparar os *binding potential index* (BPI) calculados nas diferentes técnicas de segmentação em DaTSCAN SPECT e correlacionar com as segmentações em RM T2.

Como objetivos específicos foram definidos os seguintes:

- Avaliar e comparar diferentes métodos de segmentação de imagens DaTSCAN SPECT;
- Avaliar a evolução da DP através do método *ThreeBox* em imagens DaTSCAN SPECT;
- Avaliar a intensidade do sinal e volume da SN, e regiões da vizinhança entre pacientes com DP e o grupo de VS em RM T2;
- Avaliar a intensidade do sinal e volume do nigrossoma-1 em pacientes com DP e o grupo de VS em imagens de RM T2;
- Avaliar a presença/ausência do sinal da cauda de andorinha na região ventral da SN em imagens RM T2;
- Inferir sobre os efeitos da neurodegeneração em imagens de doentes com e sem DP diagnosticada, através do sinal, em imagens RM T2.
- Correlacionar os valores do BPI em SPECT com os valores da intensidade e do volume da SN em RM T2.
- Correlacionar os dados sociodemográficos em imagens de indivíduos doentes e saudáveis.

1.3. Estrutura da dissertação

A estrutura da presente dissertação está dividida em cinco capítulos.

No Capítulo 1 (Introdução) é apresentado o enquadramento do problema, onde se contextualiza a DP, expõem-se os problemas associados ao seu diagnóstico e aborda-se a pertinência deste estudo. Nesta secção, acrescentam-se os objetivos gerais, operacionais e específicos.

No Capítulo 2 (Enquadramento Teórico) são descritos os fundamentos teóricos essenciais relativos à DP, SPECT e RM. A secção da DP é composta pela descrição da própria epidemiologia, anatomia e fisiopatologia. Na SPECT é explicado o modo de funcionamento do exame, os diferentes radiofármacos utilizados, as diferentes metodologias de segmentação e os respetivos índices de quantificação em imagem molecular para avaliação da DP. Na secção da RM são detalhados os aspetos do funcionamento do equipamento, as diferentes técnicas de aquisição e segmentação no estudo da DP.

O Capítulo 3 (Materiais e Métodos) é composto pela caracterização da base de dados e da amostra em estudo, bem como, a identificação do *software* utilizado, os critérios mantidos durante as segmentações e as metodologias detalhadas das diferentes segmentações em SPECT e RM.

No Capítulo 4 (Resultados e Discussão) são apresentados os resultados obtidos para as segmentações realizadas. Os índices calculados foram correlacionados e comparados entre as diferentes segmentações. Cada metodologia foi alvo de uma análise detalhada, onde se descreveram os processos de segmentação das imagens.

Por fim, o Capítulo 5 (Conclusão) faz uma análise geral ao trabalho realizado. São mencionadas as relações a retirar, a concretização dos objetivos inicialmente propostos e a sugestão de trabalhos futuros.

2. Enquadramento Teórico

2.1. A Doença de Parkinson

Epidemiologia

A DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, superada pela Doença de Alzheimer. Estima-se que a DP tenha afetado 6,1 milhões de pessoas em 2016, ascendendo a 2,4 vezes mais do que em 1990. Este aumento da prevalência é atribuído ao desenvolvimento de métodos de diagnóstico, conhecimento clínico mais aprofundado da DP e aumento da esperança média de vida (31,32).

O principal fator de risco da DP é a idade, sendo que é incomum em indivíduos com menos de 50 anos e tem maior prevalência com a idade, principalmente a partir do 80 anos (31). Estima-se que afete 1% da população acima dos 60 anos, sendo que entre os 65 e 70 anos são as idades mais comuns do começo da DP. Em menos de 5% dos casos, a DP manifesta-se antes dos 40 anos (33).

Os homens têm uma taxa de incidência entre 1,5 e 2 vezes maior do que as mulheres. Por outro lado, o diagnóstico da DP nos homens é mais tardio, cerca de 2 anos de diferença em comparação com as mulheres. Comparativamente aos homens, as mulheres têm uma menor taxa de incidência, apresentam sintomas mais leves e menor progressão de disfunções motoras (1). No entanto, as mulheres têm um maior risco de desenvolver discinesia e flutuações de resposta motora, o que se deve a uma massa corporal inferior. Por outro lado, os homens apresentam maior risco de declínio cognitivo (32).

A etiologia da DP é complexa, envolvendo fatores genéticos e ambientais. A maior parte dos casos de DP são considerados esporádicos, no entanto, a componente genética tem um papel fundamental (1,33). Dos vários genes associados, destacam-se os SNCA (*α-synuclein*), LRRK2 (*leucine-rich repeat kinase 2*), PRKN (*Parkin RBR E3 Ubiquitin Protein Ligase*), PINK1 (*phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase-1*) e GBA (gene da glucocerebrosidase). As mutações nos genes PRKN e PINK1 são a principal causa para o aparecimento precoce da DP, ocorrendo até 77% nos casos de DP juvenil, ou seja, até os 20 anos. Devido à lenta progressão da DP, os casos juvenis são difíceis de detetar. As mutações no gene SNCA estão relacionadas com um aparecimento mais precoce da DP, maior progressão de sintomas motores e um rápido declínio cognitivo (1,32). As mutações do gene LRRK2 têm um risco menor de declínio cognitivo e disfunções olfativas (1). Por fim, o gene GBA é caracterizado pela DP precoce com evolução e declínio cognitivo rápido. A genética é um aspeto fundamental em relação à DP e estima-se que o risco hereditário é de 16-36% (32).

Vários estudos sugerem que a DP não seja uma identidade única (32). Existem entidades clínicas com características semelhantes e, que, por isso, são associadas à síndrome de Parkinsonismo. Estima-se que cerca de 35% dos pacientes diagnosticados com DP resultam em falsos diagnósticos positivos. Os diagnósticos da DP são frequentemente confundidos com síndromes parkinsonianas secundárias e com parkinsonismo atípico (6). O diagnóstico da DP é essencialmente clínico, baseado em avaliação neurológica e histórico familiar (6,32).

A manifestação da DP varia de pessoa para pessoa. A DP manifesta-se por diversos sintomas e diferentes padrões de progressão. A heterogeneidade da DP deve ser considerada em casos clínicos e torna-se uma doença adaptada à medicina de precisão, onde os diferentes tratamentos devem ser avaliados segundo as necessidades e prioridades de cada indivíduo, de forma personalizada. É, no entanto, conhecido que os casos de DP partilham a mesma fisiopatologia, portanto, alguns tratamentos, terão os mesmos benefícios entre diferentes indivíduos. Contudo, pela própria essência da DP não é permitido que esta seja tratada de forma personalizada para cada indivíduo. O grande desafio científico é conseguir agrupar conjuntos de pessoas, com critérios semelhantes, que respondam a determinados tipos de tratamentos (32).

A distribuição geográfica da DP é mundialmente heterogênea. Existe uma maior prevalência na Europa, América do Norte e América do Sul, quando comparado com a Ásia, África e países arábicos. A etnia é também um fator de risco. Nos Estados Unidos da América, existe uma maior prevalência na etnia hispânica, seguida de não hispânicos europeus, asiáticos e africanos (34).

Nos últimos anos têm existido evidências de sintomas precoces ou sinais pró-dromicos da DP. As afeções das vias respiratórias foram o primeiro fator de risco da DP e menos de 1 movimento peristáltico por dia representa um aumento de risco em 2,7 da DP (35). A hiposmia e distúrbios de sono são também considerados como risco associado da DP. Apesar de haverem indícios de sintomas pró-dromicos, há falta de estudos que precisem estas evidências quanto aos riscos da DP (33).

Mesencéfalo e Núcleos da base

De forma a compreender a DP, há que abordar alguns aspetos anatómicos. O encéfalo faz parte do sistema nervoso central e é constituído pelo cérebro, cerebelo, diencefalo e tronco encefálico. Este último é composto pelo bulbo, ponte e mesencéfalo. Cada uma destas estruturas possui funções específicas, sendo que para este estudo, o mesencéfalo é a região com maior relevância devido à sua relação com a DP. Esta estrutura possui tratos nervosos ascendentes e descendentes, atua como centro reflexo visual e faz parte da via auditiva. É a menor porção do tronco encefálico, contém os núcleos dos nervos cranianos III, IV e V, e situa-se na parte superior do tronco encefálico (36).

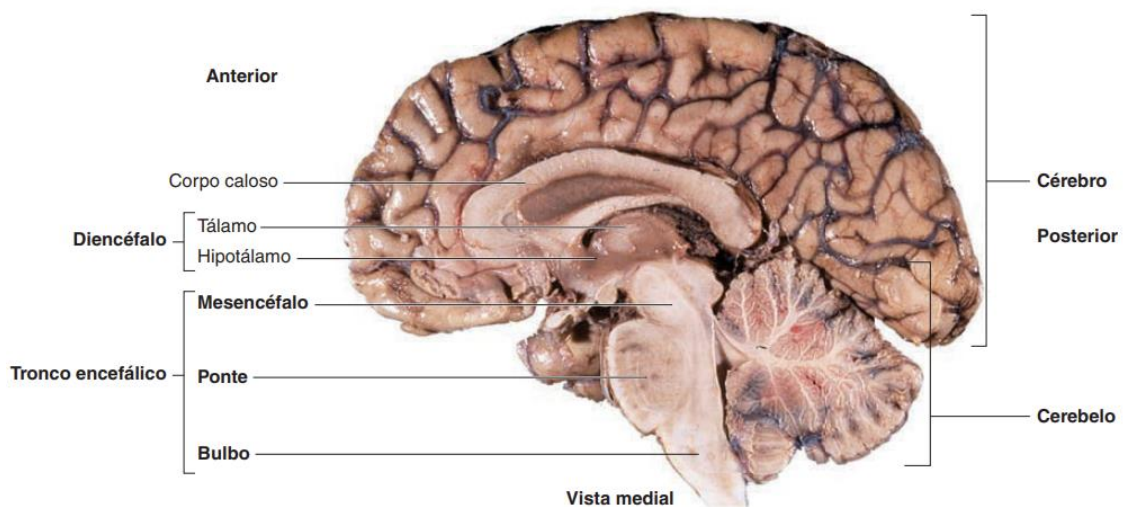


Figura 1 – Plano anatómico sagital de amostra macroscópica representando as regiões do encéfalo (36).

A secção transversal do mesencéfalo permite visualizar as regiões que serão segmentadas neste estudo. Uma das regiões a segmentar é a SN que é uma massa nuclear localizada entre o tegmento e o pedúnculo cerebral. As células da SN contêm no seu citoplasma melanina que lhes confere uma coloração escura. Esta estrutura interconectada com outros núcleos cerebrais está envolvida na manutenção do tónus muscular e coordenação dos movimentos (36). É, também, na SN que é produzida a dopamina que, como será explicado nos capítulos seguintes, relaciona-se com a DP.

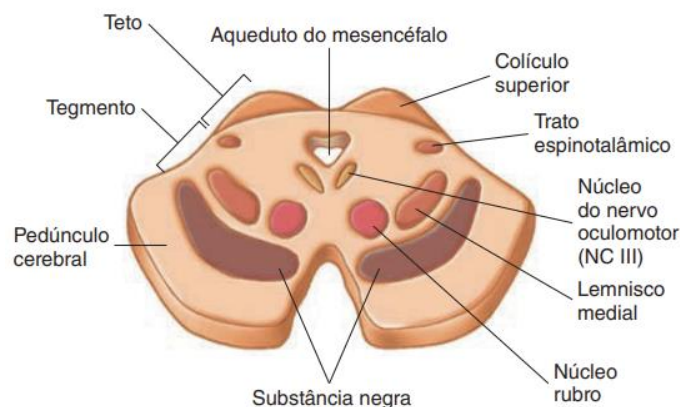


Figura 2 – Imagem ilustrativa do plano anatómico transversal representando as regiões do encéfalo (36).

A SN é uma estrutura que pode ser subdividida em substância negra *pars reticulata* (SNr) e SNC. A SNr tem um conteúdo de ferro mais elevado do que a SNC e está demonstrado que se correlaciona com a diminuição da intensidade do sinal na DP (37). A SNC contém mais NM do que a SNr, sendo que o ferro pode ser armazenado na NM sob a forma de ferritina. Em imagens de RM T2 a SNC é representada por uma banda relativamente hiperintensa e a SNr por uma banda relativamente hipointensa (38). No entanto, até à data deste estudo, a definição e delimitação exata das sub-regiões da SN é complexa, existindo divergências na literatura (38,39).

Localizados na SN existem também 5 conjuntos de aglomerados de neurónios denominados por nigrossomas 1-5 que são severamente afetados na DP, de tal modo que estudos pós-morte demonstram que a neurodegeneração é superior nos nigrossomas do que noutras sub-regiões da SN (40). O nigrossoma mais relevante na literatura é o nigrossoma-1, que se encontra na região dorsolateral no eixo rostral/caudal da SN (41).

Uma outra estrutura ou conjunto de estruturas importante mencionar são os núcleos da base. Os núcleos da base são estruturas relacionadas entre si pela sua funcionalidade e estão localizados bilateralmente na porção inferior do cérebro, no diencéfalo e mesencéfalo. Estes núcleos estão envolvidos em funções motoras. Os núcleos da base são constituídos pelo corpo estriado, que incluem o núcleo caudado e o núcleo lentiforme, pelo núcleo subtalâmico e pela SN. Por sua vez, o núcleo lentiforme é dividido em putame e globo pálido (36).

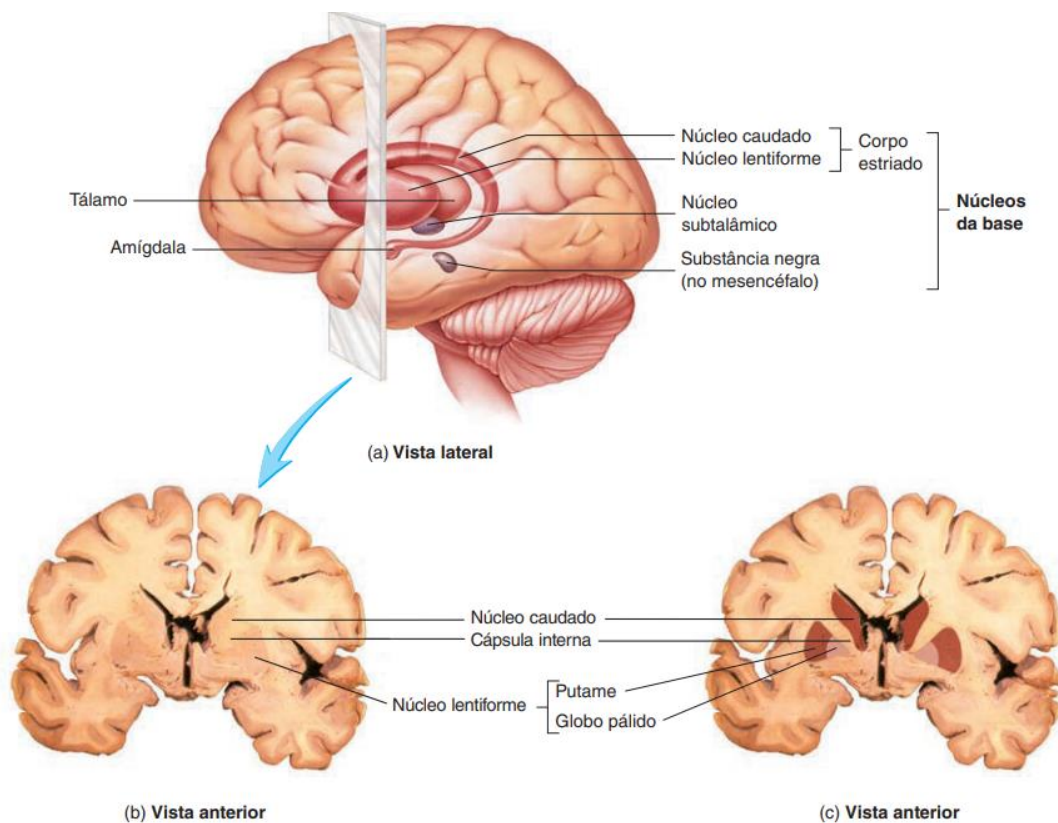


Figura 3 - Imagem ilustrativa dos núcleos da base (a) vista lateral (b) vista anterior e (c) vista anterior (36).

Fisiopatologia/Neuropatologia

O marcador patológico microscópico da DP são os corpos de Lewy que são inclusões neuronais intracitoplasmáticas, eosinofílicas e lameladas de agregados fibrilares e insolúveis que incluem α -sinucleína e ubiquitina (1). Os corpos de Lewy são os primeiros indícios da DP, começando a aparecer no bulbo raquidiano e no tegmento, ascendendo pelo tronco encefálico, até ao neocórtex, em casos mais severos. Nesta neuropatologia está evidenciado que danos específicos em subnúcleos na região da SN são uma das suas principais marcas. Devido ao seu perfil imunocitoquímico, os corpos de Lewy são agregados bastante específicos e são distinguíveis de outras neuropatologias que não pertençam ao grupo das sinucleinopatias (42). No entanto, segundo a literatura, estas evidências estão relacionadas com várias doenças neuropatológicas, tais como a DP, Doença de Alzheimer e Demências (34).

O diagnóstico diferencial da DP envolve um conjunto de doenças que são denominadas por síndromes parkinsonianas, podendo ser divididas em dois grupos. O primeiro grupo engloba a deficiência dopaminérgica do estriado, que inclui síndromes parkinsonianas atípicas neurodegenerativas, atrofia sistémica múltipla e demência de corpos de Lewy. O outro grupo está relacionado com alterações do movimento que não estão associadas a deficiência dopaminérgica no estriado, tal como o tremor essencial, parkinsonismo secundário e parkinsonismo vascular. Na maior parte dos casos, a diferenciação do parkinsonismo é relativamente simples. No entanto, podem haver pacientes com síndromes atípicas ou incompletas, ou pacientes que não respondam a terapia. Nestes casos, a eficácia de diagnóstico pode ser aumentada utilizando imagens SPECT (43,44).

As patologias de Lewy podem, também, ser caracterizadas pela acumulação anormal de membranas de vesículas ou organelos, mitocôndrias disformes e conteúdo lípido elevado. Recentes estudos sugerem que estas alterações podem ocorrer em vários tecidos e órgãos, o que torna a DP uma doença multisistémica (45). Este reconhecimento pode levar a novos métodos de diagnóstico da doença, isto porque, os tecidos de órgãos, como a pele, são mais acessíveis do que o tecido cerebral (32).

A DP possuiu uma etiologia multifatorial que resulta coletivamente na morte neuronal precoce, principalmente de neurónios dopaminérgicos. A perda de células dopaminérgicas nigroestriatais causa um desequilíbrio na via da dopamina (via nigroestriatal), entre as vias direta (facilitadora) e indireta (inibidora), resultando em bradicinesia e outras disfunções motoras (46).

De facto, existem 4 vias dopaminérgicas: a via mesolímbica que está relacionada com a modulação das respostas comportamentais aos estímulos, a via mesocortical onde a dopamina atua no controlo do apetite, a via tuberoinfundibular onde a dopamina regula a secreção da prolactina e, por fim, a via nigroestriatal que tem um papel fundamental nas atividades motoras e cognitivas. Nesta via há emissão e receção de sinais elétricos entre o córtex cerebral, tálamo (THA), tronco cerebral e corpo estriado (STR), gerando uma rede complexa de conexões neuronais. Estas conexões formam as vias

direta, indireta e hiperdireta. A via direta é excitatória e é composta por neurónios gabaérgicos (GABA) que interligam o estriado à SNr e ao globo pálido interno (GPi), e destes seguem para o THA. A dopamina é produzida na SNc e a via direta é iniciada no estriado por recetores D1 de dopamina. Por outro lado, a via indireta é constituída por neurónios que expressam predominantemente recetores D2. Estes neurónios projetam-se até ao globo pálido externo (GPe) e núcleo subtalâmico (STN). Nesta via existem neurónios glutaminérgicos (glu) que atuam de forma inibitória, resultando na diminuição da atividade da dopamina. Num indivíduo saudável, a dopamina é produzida em quantidades corretas e a regulação destas duas vias é eficaz. No entanto, num indivíduo com DP, esta regulação está descontrolada, havendo elevada inibição e afetando a atividade neuronal, nomeadamente por processos de neurodegeneração na SN e nos corpos estriados. Estas lesões são evidenciadas em estadios mais avançados da doença e é necessário a criação de metodologias e técnicas que identifiquem a DP precocemente (42,46).

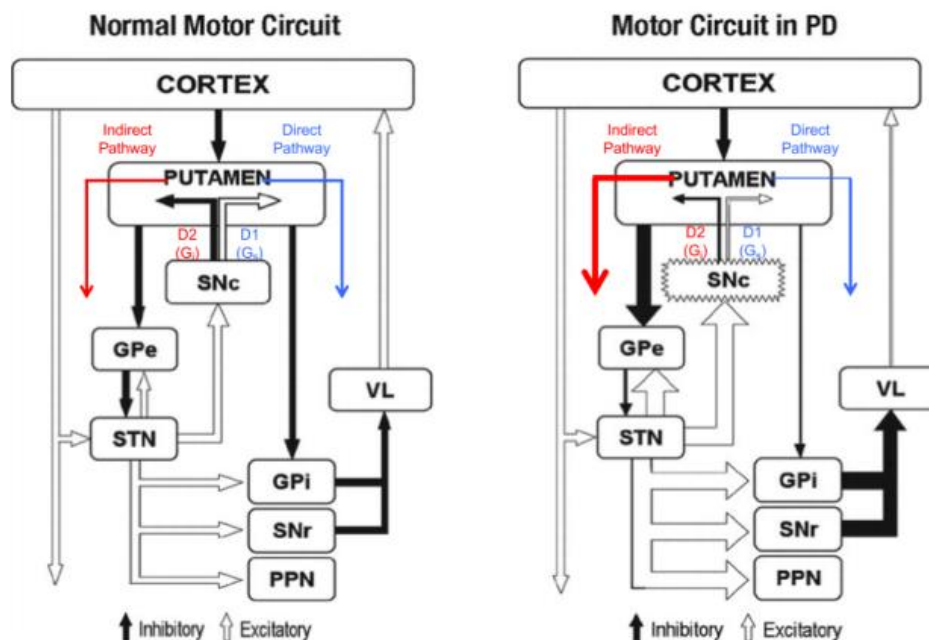


Figura 4 - Modelo de conectividade dos núcleos da base num indivíduo saudável (esquerda) e num indivíduo com DP (direita) (47). Setas sem preenchimento representam neurónios GABA excitatórios e setas preenchidas representam neurónios glutaminérgicos inibitórios.

A proteína responsável pelo transporte da dopamina é o TDA, que é uma proteína transmembranar expressa apenas em células dopaminérgicas. É responsável por regular a concentração sináptica da dopamina nos terminais pré-sinápticos dos neurónios fazendo a recaptação e libertação da dopamina na fenda sináptica (47).

O modelo neuropatológico da progressão da DP mais citado na literatura é modelo de Braak *et al.* (2003). Este modelo divide a DP em 6 estágios. Nos estágios 1 e 2 surgem as primeiras lesões nas regiões do bulbo raquidiano, tegmento pontino e bulbo olfatório. Nestas fases não existem sintomas motores, mas disfunções de sono com movimentos rápidos dos olhos e perda olfativa. Nos estágios 3 e

4, a patologia progride para a SN e para o mesencéfalo. A DP é normalmente diagnosticada nestas fases, onde surgem os sintomas motores. Nos estágios 5 e 6, a patologia avança para o córtex cerebral, com início de disfunções cognitivas e alucinações (42).

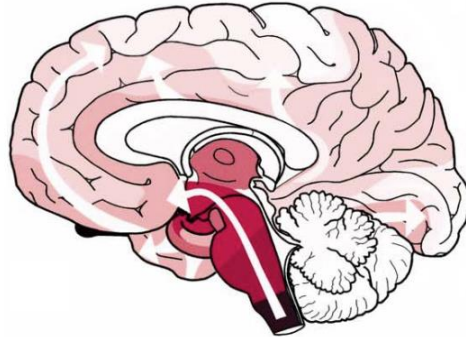


Figura 5 – Ilustração da progressão da neurodegeneração da DP no tronco encefálico, mesencéfalo e no córtex cerebral (a) (42).

2.2. SPECT

A SPECT é uma técnica de imagem nuclear que produz uma imagem tridimensional (tomografia) da distribuição de um radiofármaco que é administrado na corrente sanguínea. As imagens 3D são geradas computacionalmente por várias projeções de imagens adquiridas em diferentes ângulos. Os radiofármacos são compostos por moléculas não radioativas e um átomo radioativo (radioisótopo). A molécula não radioativa tem afinidade biológica com um determinado alvo, que pode ser uma molécula, tecido ou órgão. O radioisótopo é responsável pela emissão de radiação aquando da ligação química. Esta técnica permite uma avaliação da perfusão e da funcionalidade de tecidos específicos. Os radiofármacos variam dependendo do que se pretende avaliar (48,49).

Os primeiros radiofármacos a serem utilizados na avaliação da DP datam à década de 80 e tinham como alvo os recetores pós-sinápticos D2, entre eles o ^{123}I -IBZM (50,51). Atualmente, o radiofármaco mais utilizado na Europa no estudo do TDA é o ^{123}I -FP-CIT, comercialmente conhecido por DaTSCAN. Juntamente com o tecnécio-99m TRODAT-1, são os radiofármacos mais comuns na avaliação dopaminérgica pré-sináptica (43).

De facto, é na análise pré-sináptica que se avalia a integridade funcional dos neurónios dopaminérgicos do estriado, permitindo a identificação de processos de neurodegeneração no sistema dopaminérgico. Por outro lado, a avaliação pós-sináptica é utilizada no diagnóstico diferencial da DP em relação a outras síndromes atípicas de parkinsonismo. Por exemplo, a concentração de dopamina diminui na DP e na Demência de corpos de Lewy, mas é preservada no parkinsonismo vascular e tremor essencial. Denota-se que o DaTSCAN é indicado para a diferenciação da Demência com corpos de Lewy e outras manifestações de Demência. É também indicado para a avaliação da severidade da DP e consegue correlacionar o estado clínico com a severidade da DP. Logo, o uso da SPECT no estudo do TDA é essencial para a avaliação da DP (43,52).

Um dos primeiros estudos desenvolvidos foi realizado em Costa *et al.* (1990) (8). Neste estudo, pela primeira vez, foram desenhadas ROIs irregulares sobre o estriado em cada hemisfério e uma ROI de referência no córtex frontal (8). Utilizando ^{123}I -IBZM foi possível verificar diferenças significativas entre o grupo de controlo, pacientes em terapia antipsicótica e pacientes sem terapia (8).

O método de posicionamento manual de ROIs no estriado e numa região de referência apresenta variabilidade na literatura. Alguns artigos optam por usar as *slices* que contêm mais concentração da captação de radiofármaco (53) e outros somam todas as *slices* onde existe captação, comprimindo toda a estrutura do estriado (12).

O posicionamento manual de ROIs é uma tarefa subjetiva, dependente da experiência do observador, que apresenta variabilidade intra e inter-observador, e demorada (11). Deste modo, têm sido desenvolvidos vários atlas anatómicos que generalizam a posição anatómica de determinadas

estruturas cerebrais. Vários artigos tentaram criar atlas probabilísticos e apresentaram bons resultados quando utilizados (44,54).

As limitações inerentes aos métodos manuais levaram à criação de metodologias semiautomáticas e automáticas, entre as quais, o *threshold*. Esta metodologia define um valor limiar inferior, a partir do qual, todos os pixels com intensidade igual ou superior são segmentados. Segundo a literatura o valor de *threshold* pode variar entre 60 a 85% da intensidade total (55). A definição de um valor de *threshold* em imagens de SPECT é complexa e não existe um valor de referência. As *guidelines* de imagem dopaminérgica em síndromes parkinsonianas abordam este tema e mencionam que o uso de *thresholding* deve ser cuidado, visto que, se usado incorretamente, pode resultar em artefactos (52,56).

Métodos mais avançados de *threshold* envolvem *Statistical Parametric Mapping* (SPM) que é um *software* que permite comparação estatística pixel por pixel de forma a encontrar a probabilidade de um pixel de interesse pertencer ao *threshold* definido (57).

As limitações significativas associadas à SPECT são os designados *partial volume effects* (PVE) e a fraca resolução espacial da câmara gama. Os PVE são fenómenos causados pela limitada resolução espacial em comparação com o tamanho dos órgãos. A resolução dos colimadores na SPECT está correlacionada com a eficiência da deteção de radiação, sendo que a resolução não pode ser aumentada sem reduzir a eficiência da deteção. Na avaliação do estriado, existem zonas de elevada captação de sinal muito próximas a zonas de fraca captação de sinal. Esta proximidade pode sobre ou subestimar a captação do radiofármaco e induzir em erro o observador, não apenas em análises visuais, mas também análises quantitativas para efeitos de dosagem ou terapia (58,59).

O trabalho desenvolvido primariamente por Costa *et al.* (1990) tenta ultrapassar os problemas supra mencionados, pois a posição das ROIs engloba toda a região do estriado eliminando os tais PVE (8). Na literatura, esta metodologia é designada por *ThreeBox*. No entanto, existem variações deste método, tal como a *TwoBox* e o método crescente (60).

A principal diferença entre as metodologias *TwoBox* e *ThreeBox* está na definição da ROI de referência (Figura 6). Na *ThreeBox*, a ROI de referência é colocada manualmente na região do parênquima parieto-occipital, sob as ROIs do estriado (8,12). No método *TwoBox* a ROI de referência pode ser definida por métodos de *threshold*, englobando uma área maior do parênquima cerebral e excluindo as ROIs do estriado (60,61). Esta definição mais ampla da ROI de referência tem como objetivo reunir o maior conjunto de pixels do ruído de fundo, uma vez que há heterogeneidade nas várias sub-regiões não específicas. Os PVEs podem estender-se para o espaço ventricular e induzir na identificação incorreta das regiões frontais ou occipitais. Deste modo, o método *TwoBox* pretende reduzir variabilidade e melhorar a contagem estatística.

Contrariando os pontos acima, em Jensen *et al.* (2011) utilizou-me uma ROI de referência que está dividida em duas circunferências na região parieto-occipital (Figura 7) (62). Esta região é mais

pequena comparativamente com outras ROIs e, em determinados casos, pode não ter uma quantificação exata do ruído de fundo. No entanto, concluíram que o algoritmo *DATquan* e a metodologia utilizadas são técnicas que apresentam bons resultados e que consomem menos tempo na quantificação do TDA em SPECT (62).

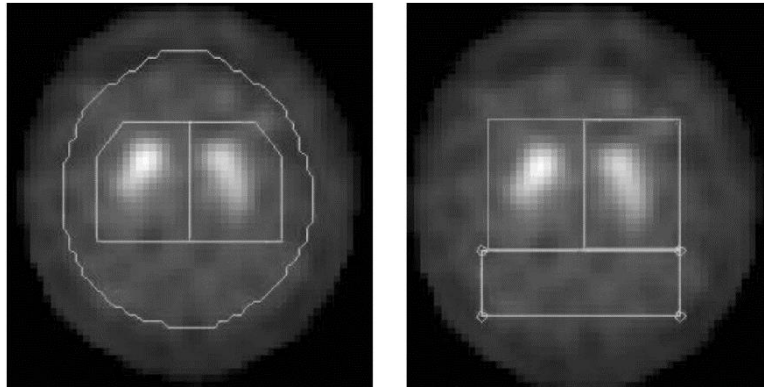


Figura 6 – Plano transversal de imagem molecular de um paciente com tremor essencial segmentada com o método *TwoBox* (esquerda) e *ThreeBox* (direita) (61).

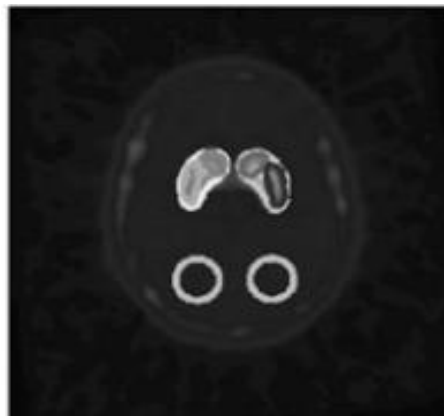


Figura 7 – Plano transversal de imagem molecular com duas ROIs de referência separadas (63).

Em Tossici-Bolt *et al.* (2006) implementou-se o método *TwoBox* que recorre a uma ROI de referência do parênquima cerebral, excluindo a região do estriado (61). Destacam-se as ROIs do estriado pelo facto de não serem totalmente retangulares e apresentarem um recorte nos cantos laterais superiores, excluindo uma pequena parte de ruído de fundo, assemelhando-se à forma geométrica dos corpos estriados (61).

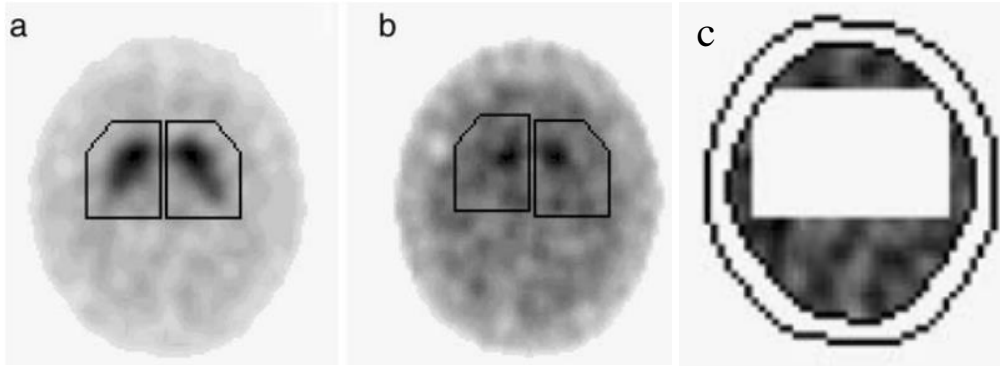


Figura 8 - ROIs aplicadas no corpo estriado de um indivíduo saudável (a) e num doente (b). A região de referência abrange todo o parênquima cerebral, excluindo o estriado (61).

Os métodos *TwoBox* e *ThreeBox* diferem também no cálculo dos índices de quantificação. O método *TwoBox* recorre ao *Specific Binding Index* (SBI) ou *Specific Binding Ratio* (SBR), que correlaciona a concentração específica do radiofármaco, c_s , com a concentração de uma região de referência, c_r (61,63):

$$SBI = \frac{c_s}{c_r} \quad (1)$$

A c_s representa apenas a concentração do corpo estriado. Como a ROI sobre o corpo estriado abrange o corpo estriado e regiões não específicas, é necessário subtrair à contagem média total a contagem média do ruído de fundo. Assim, substituindo na Eq. 1, temos a Equação 2 em que, c_t , representa a contagem média total do estriado:

$$SBI = \frac{c_t - c_r}{c_r} \quad (2)$$

Outro índice citado na literatura é o *Specific Uptake Size Index* (SUSI) (61,63). Este índice, segundo Fleming *et al.* (2004), é uma medida da captação total do radiofármaco e pode quantificar em termos absolutos a atividade total injetada ou a atividade específica da região. O SUSI é independente da resolução da imagem e calcula a concentração de atividade com mais sucesso que o SBI (59). O SUSI é definido como a captação específica, T_s , sobre a região de referência, c_r :

$$SUSI = \frac{T_s}{c_r} \quad (3)$$

Caso o volume do estriado seja conhecido, V_s , é possível associar os dois índices mencionados (59,61,63):

$$SBI = \frac{SUSI}{V_s} \quad (4)$$

No método *ThreeBox* o índice utilizado é designado por *Binding Potential Index* (BPI) e é obtido da seguinte forma (8,12,64):

$$BPI = \frac{\bar{I}_s - \bar{I}_r}{\bar{I}_r} \quad (5)$$

Em que \bar{I}_s é a intensidade média do estriado e \bar{I}_r é a intensidade média da região de referência. Este método assume que a captação não específica no estriado é semelhante à captação na região de referência.

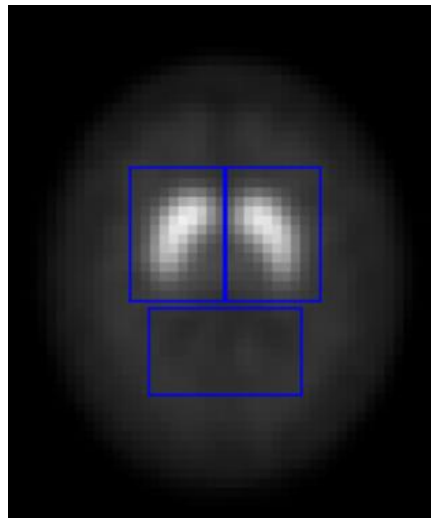


Figura 9 – Imagem DaTSCAN SPECT com ROIs identificando o estriado (superiores) e a região de referência (ROI inferior) pelo método *ThreeBox* (12).

Por fim, existem os métodos crescentes que fornecem rácios para as estruturas específicas, tal como o rácio entre o caudado e a região parieto-occipital, e o putâmen e a região parieto-occipital, entre outros (65).

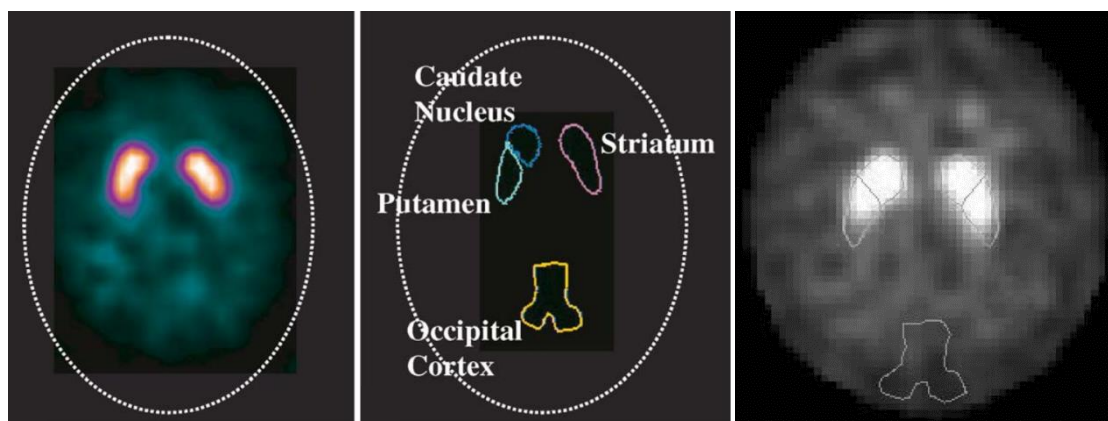


Figura 10 - Exemplo das ROIs do método crescente (60,65).

A segmentação em SPECT é complexa devido à presença dos PVEs e da fraca resolução. Juntando a estes problemas, o putâmen e, principalmente, o caudado e o globo pálido são estruturas anatomicamente pequenas e difíceis de identificar em SPECT. Num trabalho proposto por Moon (2020) desenvolveu-se uma nova metodologia baseada em estimativa e aprendizagem em que, através de imagens de RM, criaram-se atlas anatómicos que foram aplicados em imagens de SPECT. O estudo conclui que esta nova metodologia consegue segmentar com eficácia estruturas específicas em imagens SPECT (66).

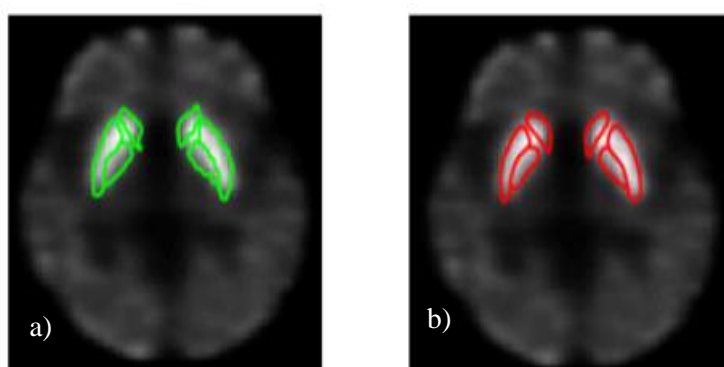


Figura 11 - Metodologia de segmentação manual realizada por um especialista (a) e metodologia de segmentação automática desenvolvida no estudo (b) (66).

Com o desenvolvimento da tecnologia, especialmente da IA, têm surgido novas metodologias de segmentação automáticas e de deteção da DP. Os diagnósticos auxiliados por computador baseados em métodos de *Machine Learning* (ML) têm sido desenvolvidos para ajudar na deteção na degeneração dopaminérgica em SPECT. Em Zhang (2022) é realizada uma *review* sobre as várias abordagens sobre uso da ML e *mining imaging* na deteção precoce da DP (67). Em Mei *et al.* (2021) é providenciada uma análise estatística sobre os estudos com ML para diagnóstico da DP. Reportaram que, em média, a eficácia de classificação para aplicações de ML em SPECT foi de ~94%, em *Positron Emission Tomography* (PET) ~86% e ~87% em RM. Adicionalmente, identificaram que o

classificador *Support Vector Machine* (SVM) e o *neural network* (NN) conseguem melhores resultados de eficácia do que outros classificadores (68).

Curiosamente, em Augimeri *et al.* (2016) recorreu-se ao classificador SVM para a distinção do grupo de VS e pacientes com DP, onde se conseguiu alcançar 100% de eficácia (14). Em Valador 2022 avaliou-se o desempenho de vários classificadores, também na distinção entre os VS e pacientes com DP, obtendo-se valores muito interessantes (15). O classificador *Conventional Neural Network* (CNN) teve 96%, 98%, e 91% de precisão, sensibilidade, e especificidade, respetivamente. Outros classificadores foram analisados atingindo-se valores muito semelhantes (15).

Todos os pontos mencionados previamente comprovam que o DaTSCAN SPECT é essencial para a deteção, diferenciação e avaliação da DP. Por outro lado, determinados métodos de processamento de imagem em RM, nomeadamente técnicas de contraste sensível à NM, podem auxiliar na quantificação da SN. Surge com estes factos, a necessidade de juntar estas duas modalidades e analisar de que modo se correlacionam na DP.

Em Kuya *et al.* (2017) foi realizada a correlação entre imagens de RM sensíveis à NM e DaTSCAN SPECT numa amostra de 17 pacientes com DP (29). Os volumes da SNc demonstraram correlação significativa com o SBR. A média do SBR bilateral e a média do volume da SNc bilateral correlacionam-se de forma significativa e negativa com a escala *Unified PD rating scale part III* (UPDRS III). Outro dado importante é o facto de o SBR e o UPDRS III terem uma correlação mais forte do que o volume da SNc e o UPDRS III. Isto significa que o DaTSCAN é um método mais adequado para a avaliação da DP do que a RM com contraste a NM (29).

Em Isaias *et al.* (2016) foi realizado um estudo semelhante (30). Neste caso foram comparados 18 VS e 18 pacientes com DP. Foi medido o volume da SN em RM sensível à NM e quantificada a densidade de DaTSCAN no estriado. Os pacientes demonstraram um volume reduzido da SN que correlaciona positivamente com a densidade do radiofármaco (30).

Por último, menciona-se um estudo que contempla 3 aspetos abordados nos últimos capítulos. Em Depierreux *et al.* (2021) analisou-se a relação entre a degeneração dopaminérgica com F-DOPA-PET, RM sensível à NM e RM T2* (17). O radiofármaco F-DOPA-PET, tal como o DaTSCAN, avalia a integridade dopaminérgica pré-sináptica e consegue discriminar os VS de pacientes com DP com elevada sensibilidade e especificidade (69). No estudo demonstrou-se que em pacientes com DP, a quantificação de ferro foi seletivamente maior na SN lateral esquerda, quando comparada com os VS, indicando acumulação localizada de ferro em doentes. O sinal da NM foi diferente entre os dois grupos, mas sem uma localização específica. As funções dopaminérgicas no putámen posterior diminuíram com o aumento de sinal T2* na SN lateral, indicando que a degeneração progride juntamente com a acumulação de ferro na SN. As funções dopaminérgicas também se correlacionam positivamente com o sinal de NM, indicando que a neurodegeneração avança juntamente com a

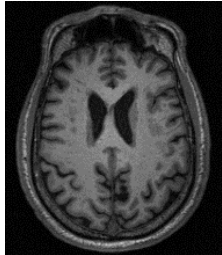
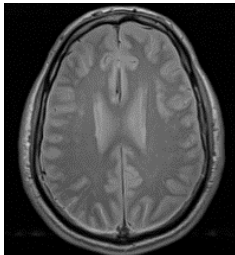
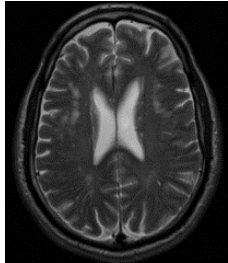
despigmentação da SN. Estes dados aferem que existe uma relação complexa e correlacionar entre a degeneração estriatal, despigmentação da NM e acumulação de ferro na SN (17).

2.3. Ressonância Magnética

A ressonância magnética é uma das técnicas de imagem mais usadas na medicina. Apresenta excelente informação morfológica e fisiológica, e utiliza radiação não ionizante (radiofrequências - RF). De forma sucinta, esta técnica produz um campo magnético uniforme que orienta os átomos de hidrogênio na direção dos polos do magneto. Utilizando gradientes de campo magnético e radiofrequências, os átomos de hidrogênio alteram a sua orientação, a velocidade e precessão, e as suas propriedades eletromagnéticas, atingindo a fase de ressonância. Posteriormente, cessa a energia de RF e os átomos voltam ao estado inicial, libertando a energia absorvida. Um recetor de RF recebe o sinal e, através de algoritmos de processamento, este é convertido em imagens. No corpo humano existem diferentes tecidos e átomos, que quando sujeitos a esta técnica induzem-se diferentes taxas de relaxamento, alterações no *spin* magnético e variações de densidades atômicas. Estas alterações permitem a distinção dos diferentes tipos de tecidos do corpo humano na RM (70).

A RM dispõe de diversas ponderações que contribuem para o conhecimento da DP, tais como, T1, T2 e densidade protónica. A principal diferença entre estas ponderações está nas variáveis de aquisição tempo de repetição (TR) e tempo de eco (TE), tal como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Efeitos de TR e TE na ponderação da imagem de RM.

	TR Curto	TR Longo
TE Curto	 T1	 Densidade protónica
TE Longo	Fraco contraste, não é utilizado	 T2

A ponderação T1 permite observar com bastante definição as estruturas cerebrais, sendo ideal para a avaliação de volumes e morfologia das estruturas. Em T1 é demonstrada a forma e anatomia de tecidos moles e gordura. A ponderação T2 gera imagens onde a água e os líquidos aparecem brilhantes, ou seja, com hipersinal. É ideal para estudar patologias (traumas, tumores ou inflamações). A densidade protônica produz uma imagem representativa da concentração ou densidade de prótons. As regiões com maior quantidade de prótons aparecem mais brilhantes e fornecem um bom contraste em imagens cerebrais.

Um dos primeiros estudos de imagens de RM para avaliação da DP foi realizado por Sasaki *et al.* (2006). Neste estudo avaliou-se a presença de NM na SN e no núcleo cerúleo através de imagens de RM 3 Tesla (3T) com sensibilidade à NM e amostras macroscópicas, em VS e pacientes com DP. As imagens foram ponderadas em T1 com *Fast Spin Echo* (FSE). Em pacientes saudáveis, em análise ao mesencéfalo, verificou-se uma elevada intensidade de sinal no tegmento pontino. Analisando a SN identificou-se uma elevada intensidade de sinal que corrobora com a distribuição de NM em amostras macroscópicas. Nos pacientes com DP detetou-se uma diminuição significativa de sinal, em comparação com os VS. Este estudo conclui que a RM pode demonstrar diretamente o conteúdo de NM na SN e no núcleo cerúleo através do contraste atribuído à NM (18).

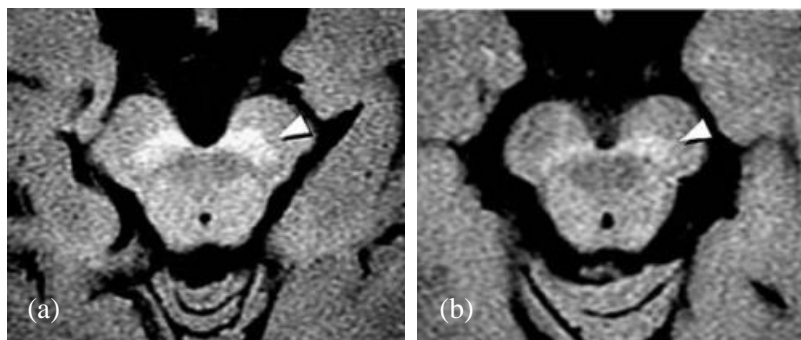


Figura 12 – Plano transversal de imagem de RM com contraste à NM num voluntário saudável (a) e num paciente com DP (18).

Ainda em Sasaki *et al.* (2006) foi identificado que as alterações de intensidade de sinal foram inferiores ao esperado. Os autores sugerem que uma elevada concentração de ferro pode saturar o sinal da NM, uma vez que, com a idade e a evolução da DP, o conteúdo de ferro aumenta, enquanto o conteúdo de NM diminui. Estes dados sugerem a hipótese de o ferro contribuir para uma menor intensidade de sinal e saturar o sinal da NM. Os autores ponderam a hipótese de normalizar ou compensar as imagens com técnicas que estimem a quantidade do ferro na SN (18). Esta afinidade coloca dúvidas sobre a influência dos efeitos paramagnéticos do ferro para estudo da NM. No entanto, em Reimão *et al.* (2016) foi realizado um estudo que demonstrou que o sinal da NM da SN não tem uma correlação significativa com o conteúdo de ferro pelo que, conclui que na DP a redução da NM em RM não é influenciada pelos efeitos paramagnéticos do ferro (71).

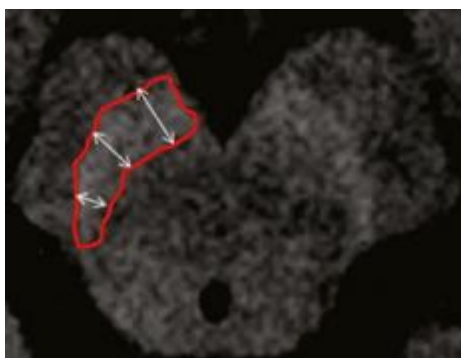


Figura 13 - Imagem de RM do plano axial do mesencéfalo para medição da área dos segmentos da SN em grupos de VS (71).

No estudo de Kashikara *et al.* (2011) avaliaram-se, também, pacientes com DP e VS com ponderação T1 FSE em 3T. Os pacientes com DP foram classificados pela escala de Hoehn e Yahr que define a DP em categorias segundo as funções motoras (72,73). A média dos volumes da SN foi significativamente reduzida em pacientes com DP, quando comparada com os grupos de controlo. Os volumes apresentam redução significativa com a evolução da DP e correlacionam-se com a duração da doença (73).

Em Schwarz *et al.* (2011) foram analisados 10 pacientes com DP. De forma a melhorar a resolução e o contraste entre as áreas ricas em NM e as áreas adjacentes, aplicou-se, pela primeira vez, o pulso *Spectral Saturation Inversion Recovery* à ponderação T1 FSE 3T. A SN apresentou uma área significativamente inferior (-60%) quando comparada com os grupos de controlo. As alterações de tamanho foram mais evidentes em estágios mais avançados da doença (-78%) do que em estágios mais recentes (-47%). Este estudo conclui que esta técnica otimizada de RM pode ser uma ferramenta essencial do diagnóstico da DP (74).

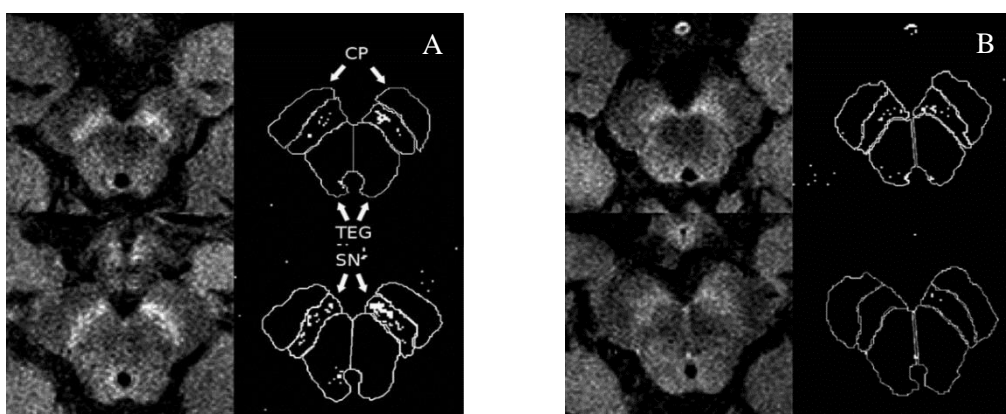


Figura 14 - Plano transversal do mesencéfalo de um voluntário saudável (A) e de um paciente com DP (B). Nas colunas da esquerda encontram-se slices sequenciais de RM e nas colunas da direita estão identificadas as ROIs para a SN, tegmento pontino e pedúnculo cerebral.

Em Reimão *et al.* (2015), estudou-se o sinal da NM da SN em pacientes recentemente diagnosticados com DP, pacientes com 2-5 anos de doença e pacientes com DP *de novo* (primeira pessoa de uma família diagnosticada com a doença). De acordo com os autores, esta foi a primeira metodologia baseada em métodos de segmentação semiautomática para avaliação dos sinais de RM 3T com ponderação T1 em pacientes *de novo*. Avaliaram-se 12 pacientes *de novo*, 10 VS e 10 pacientes com DP. A área e o comprimento da SN e o rácio entre o mesencéfalo e a NM da SN foram significativamente menores em pacientes com DP do que nos grupos de controlo. Nota-se que não houve diferenças significativas entre pacientes do mesmo sexo ou idades. Entre os pacientes com DP *de novo* e DP prolongada não houve diferenças significativas. Conclui-se que a técnica de RM com segmentação semiautomática discrimina indivíduos saudáveis de pacientes com DP, com elevada sensibilidade e especificidade. Indica-se, também, que a NM permanece estável ao longo da doença (75).

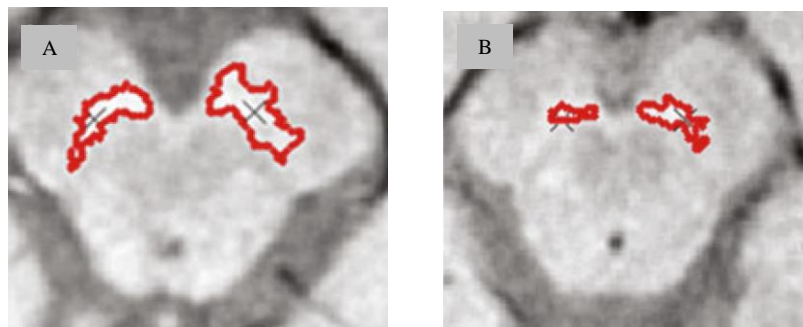


Figura 15 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo obtida por segmentação semiautomática da área da SN em VS (A) e pacientes com DP há 2-5 anos (B), demonstrando a sua significativa depleção (75).

Em Ferreira 2013 foi desenvolvido um programa de análise de imagem para a quantificação semiautomática da NM, avaliando detalhadamente a SN a partir de imagens de RM (ponderadas em T1) de pacientes com DP e VS (76). Neste estudo procedeu-se à variação da relação sinal ruído, contraste e aplicação do filtro *Edge Preserving Smoothing*, analisando os seus efeitos na quantificação da NM. Verificou-se uma diminuição da área e comprimentos da SN consoante a gravidade da doença e um aumento na assimetria das dimensões da SN.

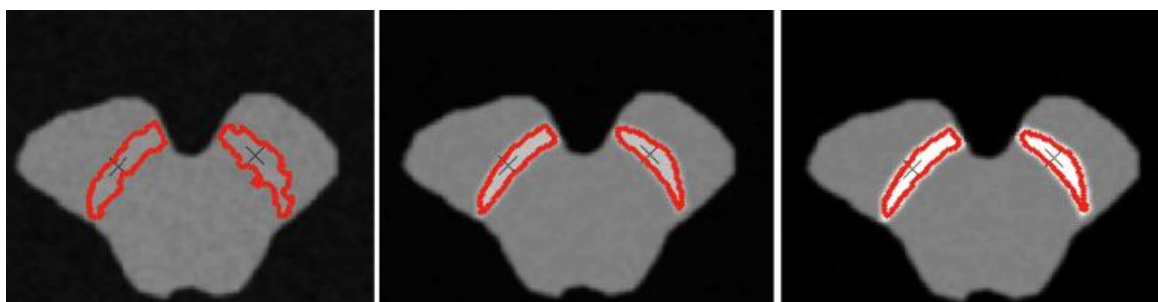


Figura 16 - Figuras de planos axiais do mesencéfalo, representando segmentações semiautomáticas, obtidas a partir de imagens filtradas com *Edge Preserving Smoothing* e três diferentes níveis de contrastes (76).

Os vários artigos que utilizam métodos de segmentação manual e semiautomática da SN têm procedimentos bem definidos e demonstram resultados evidentes que suportam a neurodegeneração nesta região (18,19,23,71,75). No entanto, a definição e a extração manual de regiões anatómicas específicas podem ser demoradas. Assim, em Egger *et al.* (2016) aplicou-se um método de definição de ROIs automáticas recorrendo a imagens de RM 3T T2*. Neste estudo demonstrou-se que a ROI automática do putámen apresentou um bom alinhamento espacial em comparação com a ROI manual. Na SN, a ROI automática foi aceitável em comparação com a ROI manual. Em relação às taxas de relaxamento, nas regiões do putámen e dos globos pálidos (interno e externo) evidenciou-se uma diminuição significativa dos pacientes com DP em comparação com o grupo de controlo. A SN, por sua vez, não apresentou diferenças significativas. Isto, segundo os autores, deve-se ao facto da SN ser uma estrutura relativamente pequena e heterogénea, apresentando-se desafiadora quanto ao procedimento de medida (28).

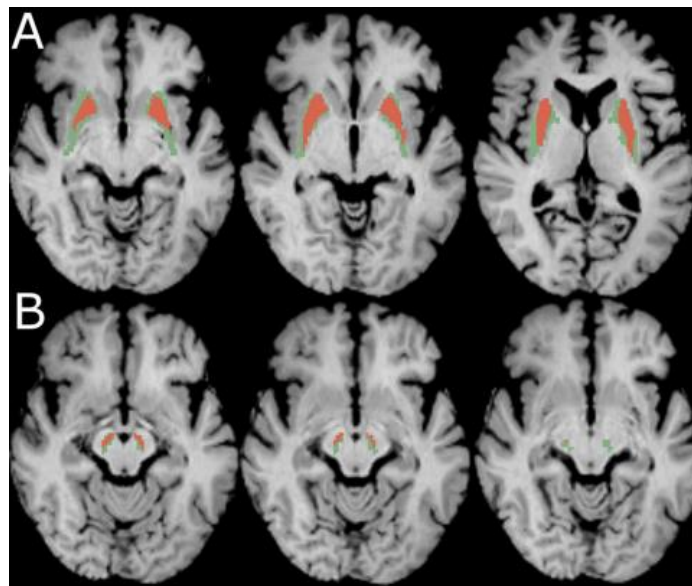


Figura 17 - Ilustração da segmentação das ROI manuais (vermelho) e automáticas (verde) do putámen (A) e SN (B) em 6 diferentes planos axiais de RM em ponderação T1 (28).

Em Castellanos *et al.* (2015) estudou-se a eficácia da segmentação automática e de métodos de quantificação da SN e do cerúleo em imagens de RM 3T. Encontrou-se uma redução significativa da SN e do cerúleo em pacientes com DP, quando comparados com o grupo de controlo. A eficácia do diagnóstico através da SN foi mais elevada. A análise da curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) permitiu concluir que esta técnica é um bom marcador da DP (23).

A DP não se manifesta apenas ao nível da SN. Segundo a literatura, a DP reflete alterações noutras regiões como o putámen e os núcleos caudados (77,78). Em Sigirli *et al.* (2021) foram investigadas as diferenças morfológicas do putámen em pacientes com DP e comparados com grupos de controlo

saudáveis. Analisando imagens de RM 3T, identificou-se que o putâmen direito sofre mudanças significativas, enquanto o putâmen esquerdo não se altera significativamente (78).

Em Pitcher *et al.* (2012) detetou-se uma diminuição dos volumes dos núcleos caudados e do putâmen em pacientes com DP em comparação com o grupo de controlo. Neste estudo foi evidenciado, pela primeira vez, atrofia dos núcleos caudados através de RM 3T em pacientes com DP (77). Curiosamente, os resultados deste estudo contrastam com um estudo anterior onde foi utilizado um campo magnético inferior (1T) e não foi possível identificar diferenças significativas dos volumes dos núcleos caudados e do putâmen entre pacientes com DP e VS (79).

De facto, o campo magnético de um equipamento de RM influencia a qualidade de imagem (80). Em Cosottini *et al.* (2015) foi realizado um estudo comparativo entre imagens de RM 3T e 7T de Angiografia ponderada por suscetibilidade (*Susceptibility-weighted Angiography, SWAN*) de forma a avaliar o diagnóstico da DP (80). Neste estudo foi evidenciado que a RM 7T possui elevada capacidade de diagnóstico, destacando-se pela sensibilidade de 93% e especificidade de 100%, enquanto a RM 3T apresenta sensibilidade de 79% e especificidade de 94%. A RM 7T permite adquirir imagens mais informativas, sendo possível, por exemplo, distinguir as 3 sub-regiões da SN, algo que não é possível através da RM 3T. Apesar de ter capacidade inferior à RM 7T, a RM 3T continua a ser uma abordagem segura no diagnóstico da DP e é equiparável à medicina nuclear na identificação de doentes. Pacientes com elevadas suspeitas clínicas da DP e sem evidências imagiológicas em RM 3T podem beneficiar da RM 7T. Os autores concluem sobre a necessidade de se realizarem estudos sobre os custos-benefícios do uso exclusivo da RM 7T nestas avaliações (80).

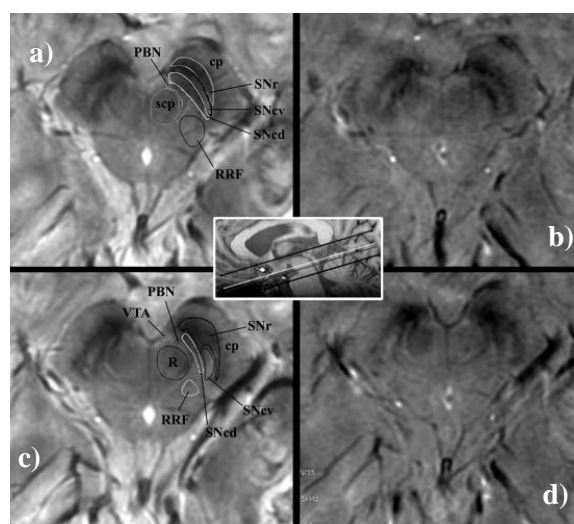


Figura 18 - Imagens axiais de um sujeito saudável em 3T do mesencéfalo superior (a) e inferior (c), e em 7T do mesencéfalo superior (b) e inferior (d) (80).

Para além das imagens de RM T1, também a ponderação T2 pode auxiliar no diagnóstico e estudo da DP. Um estudo relevante foi desenvolvido por Oikawa *et al.* (2002), onde avaliaram imagens de RM T2, T1, densidade protónica e com técnica *Short Tau Inversion Recovery* (STIR). Neste estudo foi demonstrado que as imagens de RM T1 e T2 não conseguem identificar a totalidade da SN (SNc e SNr). No entanto, nas imagens de RM T2 é possível discriminar a SNc como uma região de hipersinal, enquanto que não é possível identificar a região da SNr, pois confunde-se com a região dos pedúnculos cerebrais como uma zona de hiposinal. A densidade protónica e a STIR conseguem identificar a SN como uma zona de hipersinal, mas não conseguem distinguir entre a SNr e a SNc. As imagens de RM T1 não conseguem identificar a SN nem discriminar a mesma em sub-regiões, sendo toda a região do mesencéfalo uma região homogénea. Este estudo permite concluir que as imagens em T1 necessitam de técnicas aprimoradas de aquisição, tal como a sensibilidade à NM. Por outro lado, as imagens em T2 identificam a SNc e a densidade protónica identifica a SN completa (81).

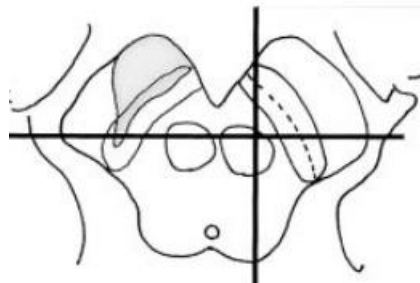


Figura 19 - Representação esquemática axial do mesencéfalo, em imagens de RM T2, identificando a SN, distinguindo a SNc e a SNr pela linha a tracejado (à direita). A zona cinzenta, à esquerda, representa o pedúnculo cerebral sobrepondo-se à SNr (81).

De facto, os primeiros estudos desenvolvidos com imagens de RM T2 interpretam que a região de hiposinal na secção axial do mesencéfalo pertence à SNr, resultando do conteúdo de ferro (37). No entanto, outros estudos, observaram que a correlação entre a região de hiposinal e a SNr foi fraca, uma vez que a ponderação T2 não retrata com exatidão a SNr (82).

Em Dzieciol *et al.* (2021) foi proposto um método alternativo de quantificação do conteúdo de água livre na região próxima à SN, sem definição da sua região *a priori* em imagens de RM T1 e T2* (39). Este método assume que a região de hiposinal verificada em imagens de RM T2 não permite distinguir o pedúnculo cerebral e a SNr. Assim, neste estudo procedeu-se à segmentação de toda a região de hiposinal na região próxima da SN. Os autores concluíram que uma diminuição do conteúdo de água livre nesta região é indicativo da DP e revelaram diferenças patológicas na localização e topologia nas proximidades da SN (39).

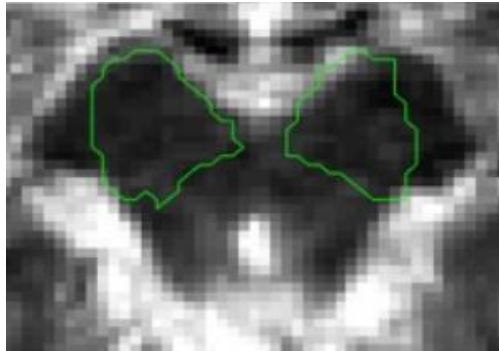


Figura 20 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo. A linha verde representa o contorno da ROI que compreende a SN e as proximidades (39).

De facto, a localização da SN e a sua subdivisão em SNr e SNc em imagens de RM T2 é complexa. A SN, geralmente, possui pequenas dimensões e a sua região é caracterizada por fraco contraste e presença de PVEs (39).

Dados estes problemas, em Eapen *et al.* (2011) foi realizado um estudo para avaliar a anatomia do sistema dopaminérgico do mesencéfalo em imagens de RM T2 e T2* a 7T (38). Neste estudo identificaram as regiões anatómicas da SN (SNr e SNc) e da ATV (área tegmental ventral), entre outras estruturas (38).

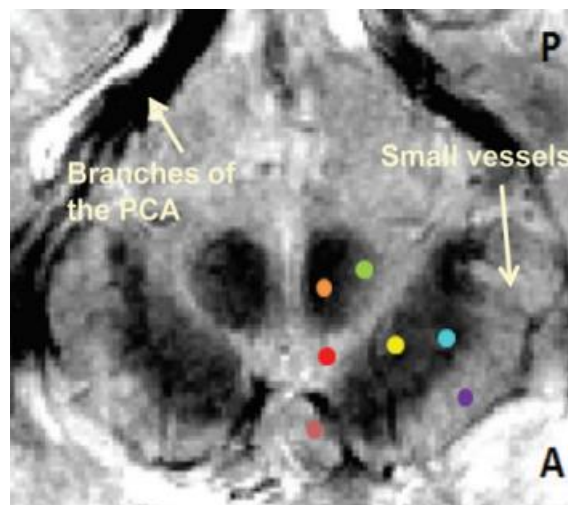


Figura 21 - Imagem de RM no plano axial do mesencéfalo. Identificam-se as estruturas: pedúnculo cerebral (roxo), SNc (amarelo), SNr (azul), ATV (vermelho brilhante), núcleo rubro densamente vascularizado (laranja), núcleo rubro pouco vascularizado (verde) e corpo mamilar (vermelho sombrio) (38).

Uma das grandes vantagens do estudo de Eapen *et al.* (2011) está relacionada com o campo magnético de 7T (38). Como também visto em Cosottini *et al.* (2015), recorrendo-se a um campo magnético superior é possível extrair mais informação das imagens (80).

Em Blazejewska *et al.* (2013) foi também utilizado um campo magnético de 7T para a avaliação da presença do nigrossoma-1 em imagens de RM T2* (22). Neste estudo identificou-se o nigrossoma-

1 como uma região de hipersinal, localizado na região dorsolateral e caudal da SN, tendo um formato de lente. Recorrendo a 2 neurorradiologistas, sem conhecimento prévio da classificação da imagem, demonstraram que em todos os 10 pacientes com DP, o nigrossoma-1 está bilateralmente ausente, e que em 7 dos 8 VS, o nigrossoma-1 está bilateralmente presente (22).

Num estudo semelhante, realizado por Schwarz *et al.* (2014), foi também avaliada a presença do nigrossoma-1 em imagens de RM T2*/SWI 3T, onde abordaram, pela primeira vez, o formato aparente da cauda de andorinha na região dorsolateral da SN (83). No estudo alcançou-se 100% de sensibilidade e 95% de especificidade, tendo sido todos os casos estudados classificados corretamente. Os autores defendem que o nigrossoma-1 é facilmente visualizado em imagens de RM T2*/SWI e que a sua ausência é um biomarcador da DP, assim como a ausência da cauda de andorinha (83).

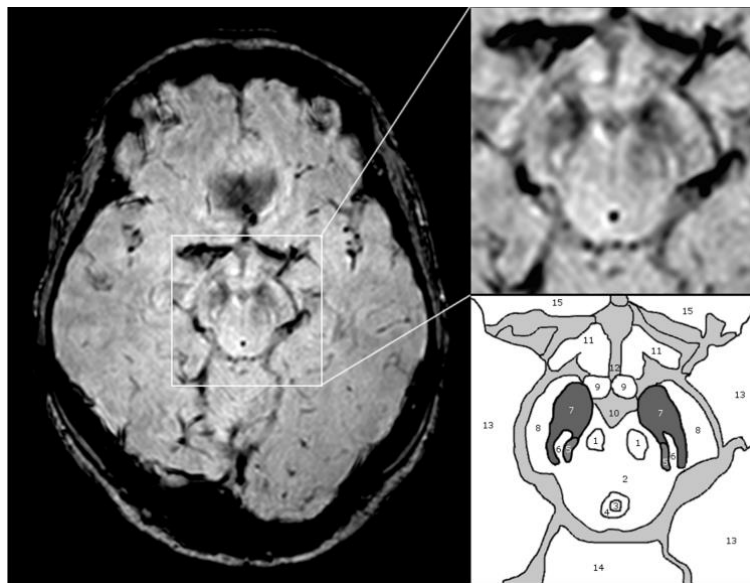


Figura 22 - Imagem de RM SWI no plano axial do mesencéfalo (a) com zoom (b). Anatomia da substância negra e estruturas adjacentes (c). 1-núcleo rubro, 2-tegmento do mesencéfalo, 3-aqueduto, 4-substância periaquedutal cinzenta, 5-lemnisco medial, 6-nigrossoma-1, 7-SN, 8-pedúnculo cerebral, 9-corpo mamilar, 10-fossa interpeduncular, 11-radiação ótica, 12-terceiro ventrículo, 13-lobo temporal, 14-cerebelo, 15-lobo frontal.

O nigrossoma-1, tal como visto no estudo anterior, é um biomarcador importante no diagnóstico da DP, sendo uma estrutura primariamente afetada. Além disso, estudos recentes têm avaliado outros nigrossomas (2-5) que são afetados mais tardiamente (84). Em Schwarz *et al.* (2018) foi realizado um estudo que avaliou as alterações de sinal nos nigrossomas 1-5 em imagens de RM T2* 7T (84). Através de avaliação visual, todos os nigrossomas foram identificados e apresentaram redução de sinal, sendo esta redução superior no nigrossoma-1. Os outros nigrossomas 2-5 foram menos visíveis e identificados com menor confiança. Por outro lado, o nigrossoma-1 foi identificado com a maior confiança. Os autores concluem que o nigrossoma-1 é, de facto, o biomarcador mais promissor da DP (84).

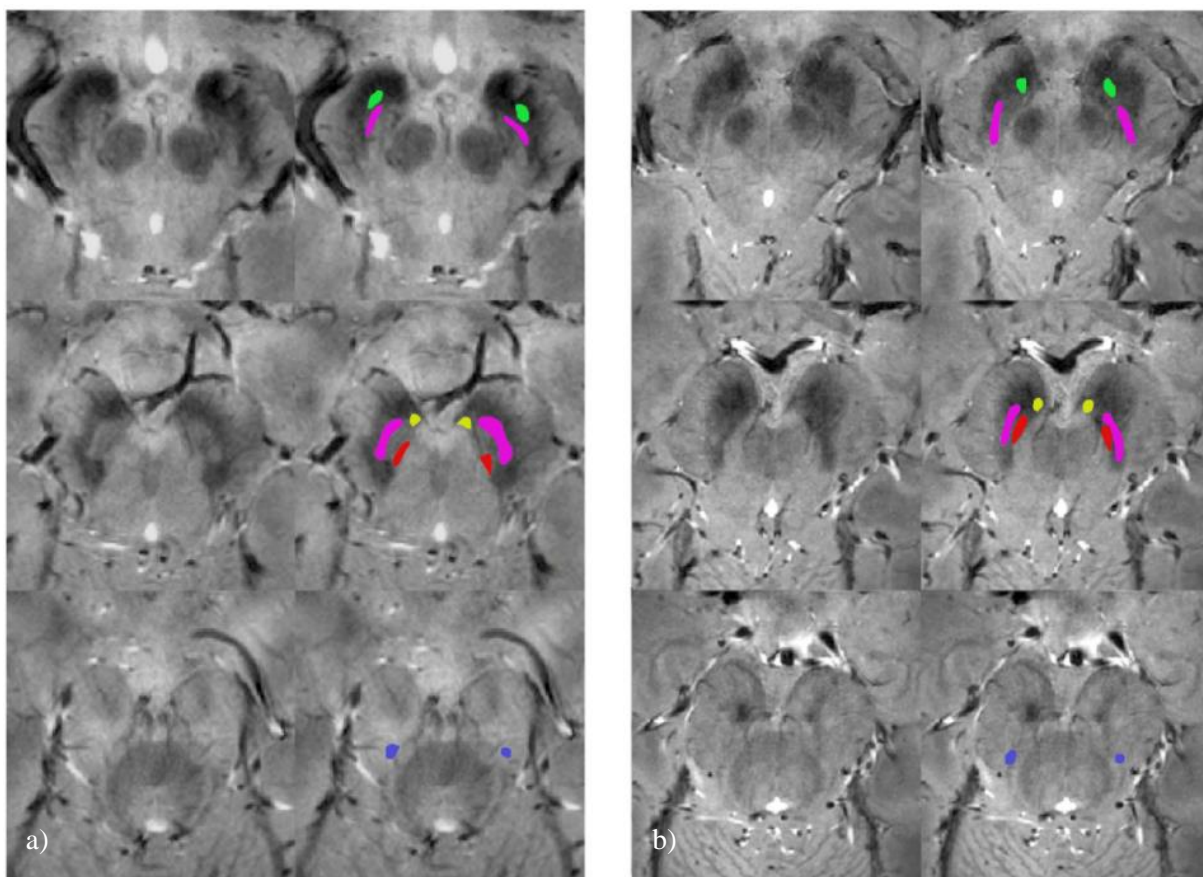


Figura 23 - Imagens de RM no plano axial do mesencéfalo. Identificação dos nigrossomas através de ROIs coloridas: N1 = roxo, N2 = amarelo, N3 = azul, N4 = vermelho, N5 = verde; em VS (a) e pacientes com DP (b) (84).

3. Materiais e Métodos

3.1. Tipo de estudo

Realizou-se um estudo de desenho observacional, quantitativo, retrospectivo e correlacional para o qual, e dada a sua natureza, foi dispensada a apreciação por uma comissão de Ética.

3.2. Caracterização da amostra

Para este estudo foram utilizadas imagens da base de dados PPMI que é um centro internacional de análise e observação destinado à investigação da progressão da DP. A metodologia e os detalhes dos estudos desta base de dados estão disponíveis no website oficial PPMI (<http://ppmi-info.org/study-design>).

A amostra selecionada consiste em imagens de dois grupos: pacientes com DP e VS. Em SPECT selecionaram-se 49 imagens de VS e 42 imagens de pacientes com DP. Em RM escolheram-se 40 imagens de VS e 42 imagens de pacientes com DP, sendo estes os mesmos pacientes que têm imagens SPECT. Os VS em SPECT e RM diferem, ou seja, os 49 voluntários com imagens SPECT são diferentes dos 40 voluntários com imagens de RM, uma vez que não foi possível encontrar na base de dados os mesmos VS com as duas técnicas.

Na Tabela 2 está apresentada a caracterização da população em estudo.

Tabela 2 - Caracterização da amostra em estudo.

Grupo	Sujeitos	Média de idades ($\pm\sigma$)	Género (M/F)
<i>Pacientes DP RM</i>	42	61,4 \pm 8,7	26/16
<i>Pacientes DP SPECT</i>	42	60,2 \pm 8,7	26/16
<i>VS RM</i>	40	61,7 \pm 9,5	23/17
<i>VS SPECT</i>	49	66,9 \pm 8,3	25/24

σ = Desvio padrão

A seleção das imagens dos pacientes com DP teve em conta a existência de exames SPECT e de RM condicionadas aos critérios de inclusão de terem sido adquiridas em datas semelhantes, sendo que se consideraram as imagens que correspondem ao primeiro exame, com descrição *baseline* ou *screening*, de cada sujeito. O segundo critério foi a existência de exames *follow-up* em SPECT em períodos espaçados, no mínimo de 1 ano, por cada paciente, admitindo a possibilidade da análise da evolução da DP em SPECT. Respeitando estes critérios, procedeu-se à seleção de cada aquisição, verificando-se a qualidade da imagem pela sua análise individual, como terceiro critério.

Adicionalmente, o equipamento utilizado na aquisição das imagens de RM para ambos os grupos foi o mesmo. Segundo a informação presente na base de dados PPMI, sobre o protocolo de imagem, o fabricante do equipamento foi a SIEMENS, não havendo informação em relação ao modelo do equipamento. Sobre o equipamento utilizado na aquisição das imagens SPECT, não foi possível, respeitando os critérios do último parágrafo, encontrar imagens adquiridas através do mesmo equipamento. Assim, para as imagens SPECT, o protocolo das imagens disponibiliza informação em relação ao fabricante dos equipamentos, sendo eles SIEMENS NM e GE MEDICAL SYSTEMS.

3.3. Segmentação de imagens

3.3.1. Software: 3D Slicer

O 3D Slicer é um recurso informático gratuito que permite visualizar, explorar, processar, segmentar, quantificar e analisar imagens médicas. Possui diversos métodos de segmentação, permite leitura de dados DICOM e renderização de segmentações. Para este estudo utilizou-se a versão 5.2.2 (85).

3.3.2. Critérios de repetibilidade na segmentação

Para todas as metodologias, foram definidos alguns critérios de segmentação:

- As segmentações foram realizadas no mesmo computador e monitor. A resolução do monitor foi de 1920 x 1200, com uma taxa de frequência de 60 Hz, 8 bits, formato de cor RGB (*Red Green Blue*) e espaço de cores SDR (*Standard dynamic range*).
- As segmentações foram realizadas por um operador, mantendo as condições de visualização e procedimento. A intensidade de luz ambiente foi controlada, a distância ao monitor foi a mesma e selecionou-se, geralmente, o mesmo horário de trabalho e o mesmo período de tempo. A sequência de etapas para a segmentação foi mantida e padronizada para todas as imagens.

3.3.3. Metodologias de segmentação em imagens SPECT

Neste trabalho estudaram-se quatro metodologias diferentes de segmentação em imagens SPECT: manual, *ThreeBox*, *threshold* e atlas anatómico.

Segmentação Manual

A segmentação manual pretende replicar as práticas realizadas em ambiente clínico. Desta forma foi realizada uma segmentação totalmente manual, onde se segmentaram as zonas de elevada intensidade no corpo estriado. Para normalização avaliou-se uma região de referência, através da segmentação de uma ROI na região do parênquima parieto-occipital. Na Figura 24 pode verificar-se que o voluntário saudável possui corpos estriados com maior área e uma ligeira menor intensidade de ruído de fundo.

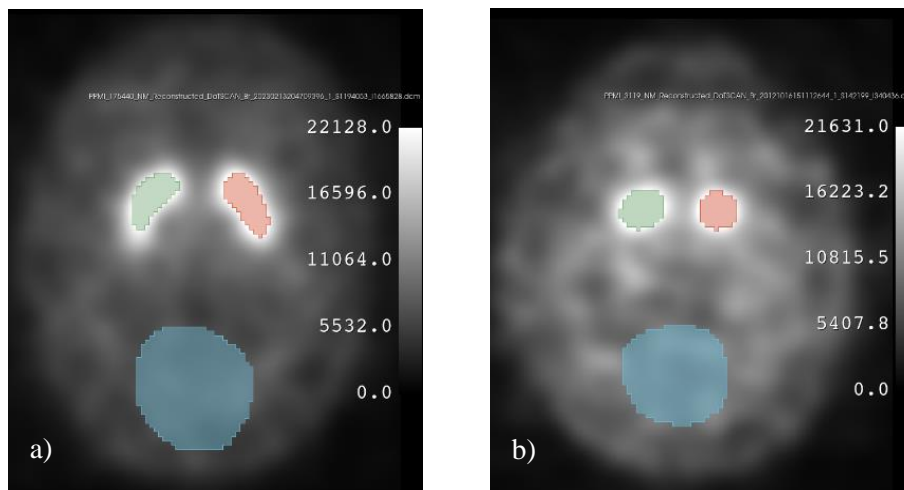


Figura 24 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada manualmente de um voluntário saudável (a) e de um paciente com DP (b). As ROI segmentadas manualmente representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).

Nesta metodologia, no estriado optou-se por segmentar apenas as regiões mais intensas, de forma a tentar excluir os PVEs. A região parieto-occipital apresenta naturalmente alguma variabilidade entre segmentações devido a ser uma metodologia manual, no entanto, a sua segmentação cingiu-se à mesma região cerebral. Denota-se que se segmentaram apenas as duas *slices* que evidenciam maior captação de DaTSCAN.

Segmentação *ThreeBox*

Este procedimento de segmentação é muito semelhante a outras segmentações descritas na literatura (8,12,60). Foram definidas três ROIs fixas que identificaram o corpo estriado esquerdo e

direito, e a região do parênquima parieto-occipital. Através de uma imagem de um voluntário saudável foram aplicadas ROIs semelhantes às descritas em Oliveira *et al.* (2014). A ROI de referência foi modificada, sendo estendida alguns milímetros de forma a extrair maior informação do ruído de fundo. As ROIs do corpo estriado também foram ligeiramente diferentes. A dimensão das ROIs no corpo estriado são 40x60 mm² e a ROI de referência tem 82x36 mm².

De forma a realizar uma comparação mais concreta com a metodologia manual, na metodologia *ThreeBox* foram segmentadas apenas as duas *slices* com maior quantidade de DaTSCAN captado.

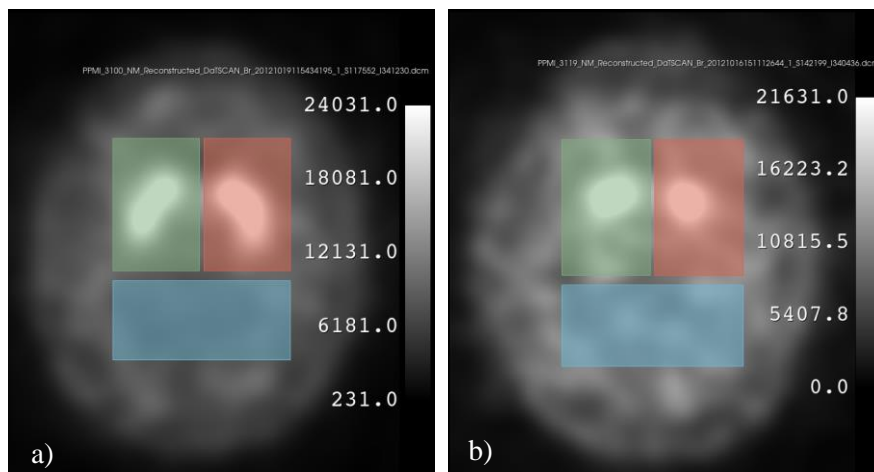


Figura 25 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada com a metodologia *ThreeBox* de um voluntário saudável. As ROIs segmentadas representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).

Segmentação *Threshold*

A metodologia por *threshold* define um valor, a partir do qual, os pixels com intensidade igual ou superior são segmentados. Uma vez que as imagens estão normalizadas, o valor de *threshold* foi fixo, o que corresponde a 50% da intensidade máxima. A percentagem escolhida foi semelhante aos valores mencionados na literatura, mencionados no capítulo 2. Através de uma análise visual, a percentagem de 50% segmenta corretamente as regiões do estriado. A região de referência também foi segmentada recorrendo a *threshold*. Neste caso foram definidos dois valores, 10 e 30%, em que todos os pixels entre os dois valores foram segmentados.

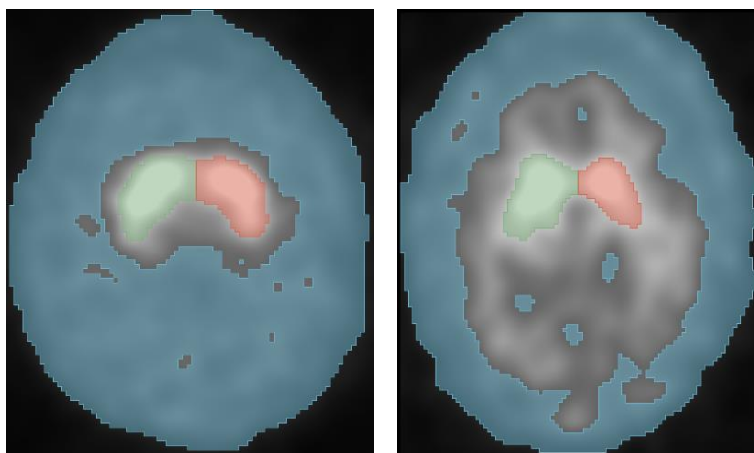


Figura 26 - Imagem DaTSCAN SPECT segmentada com a metodologia *threshold* de um voluntário saudável e de um paciente com DP. As ROIs segmentadas representam o corpo estriado esquerdo (ROI verde), corpo estriado direito (ROI vermelha) e a região de referência (ROI azul).

Segmentação com atlas anatómico

A última metodologia de segmentação das imagens em SPECT é a que recorre ao atlas anatómico do putâmen, globo pálido e núcleo caudado, através de um *template* fornecido pelo Montreal Neurological Institute (MNI) ICBM 2009a Nonlinear Symmetric (86). Este atlas exhibe excelente resolução e detalhe para imagens T1, T2, densidade protónica e T2*.

Nesta metodologia utilizou-se o atlas em T1 para a colocação das ROIs devido a ter a melhor definição das estruturas. No entanto, as ROIs desenhadas foram colocadas nos diferentes atlas e corresponderam com precisão à anatomia em cada ponderação.

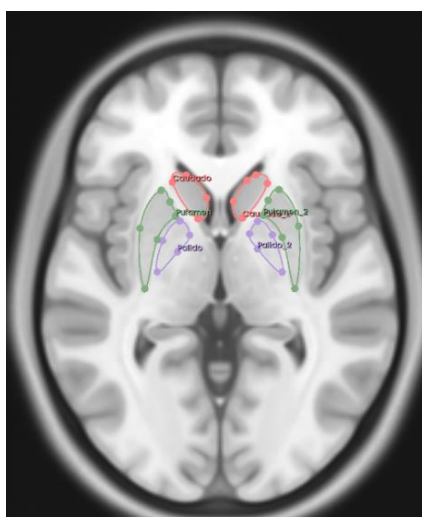


Figura 27 - Definição das ROIs do putâmen, globo pálido e núcleo caudado em RM T1.

As ROIs obtidas foram colocadas num voluntário saudável e verificou-se que parte da captação do radiofármaco seria excluído na região entre o núcleo caudado, e o putámen e o globo pálido, tal como se pode ver na Figura 28 (a).

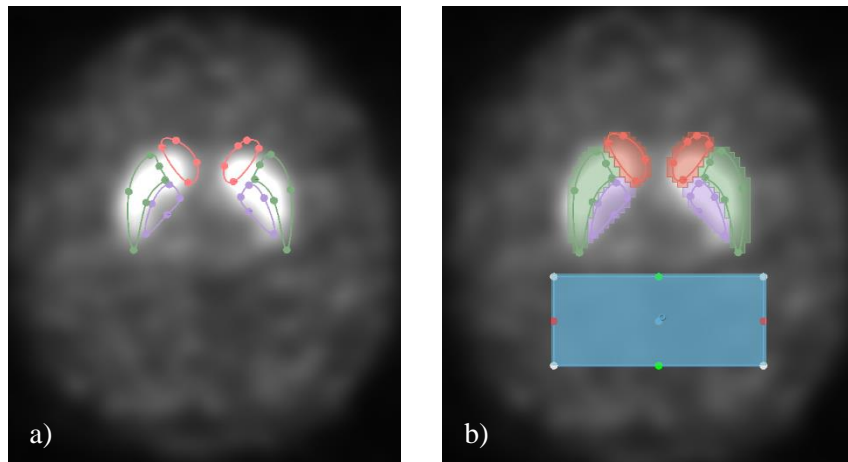


Figura 28 - Atlas anatómico em SPECT.

Desta forma, procedeu-se à extrapolação das ROIs originalmente definidas, incorporando na totalidade o radiofármaco captado (Figura 28 (b)). A região de referência foi definida de forma semelhante à metodologia *ThreeBox*. Também para esta metodologia foram consideradas apenas as duas *slices* com maior informação de radiofármaco captado.

3.3.4. Metodologia de segmentação de imagens de RM

Neste estudo, a metodologia de segmentação aplicada às imagens de RM foi realizada através de segmentação manual, onde se avaliou a SN, os nigrossomas-1 e a presença da cauda de andorinha.

A SN é uma estrutura que em imagens de RM T2 não consegue ser identificada com exatidão. As suas sub-regiões, a SNr e a SNc, são estruturas que não possuem contraste ou intensidade suficiente para se realizarem as suas segmentações com confiança. A SNr é uma região que se confunde com o pedúnculo cerebral, tal como mencionado na literatura (82), e, por sua vez, a estrutura da SNc é identificada como uma região de hipersinal em imagens de RM T2, no entanto, tal como a SNr, a sua delimitação é complexa. Assim, neste estudo foi segmentada a zona da SN, correspondente à localização anatómica que contém a SNr e a SNc.

O nigrossoma-1 é caracterizado por ser uma região de hipersinal, sendo que a sua posição anatómica pode apresentar alguma variabilidade. A sua localização expectável está situada na região dorsolateral e caudal da SN, sendo esta a região explorada. A cauda da andorinha está intrinsecamente

relacionada com a presença do nigrossoma-1. Caso o nigrossoma não seja visível, a cauda de andorinha não será identificável.

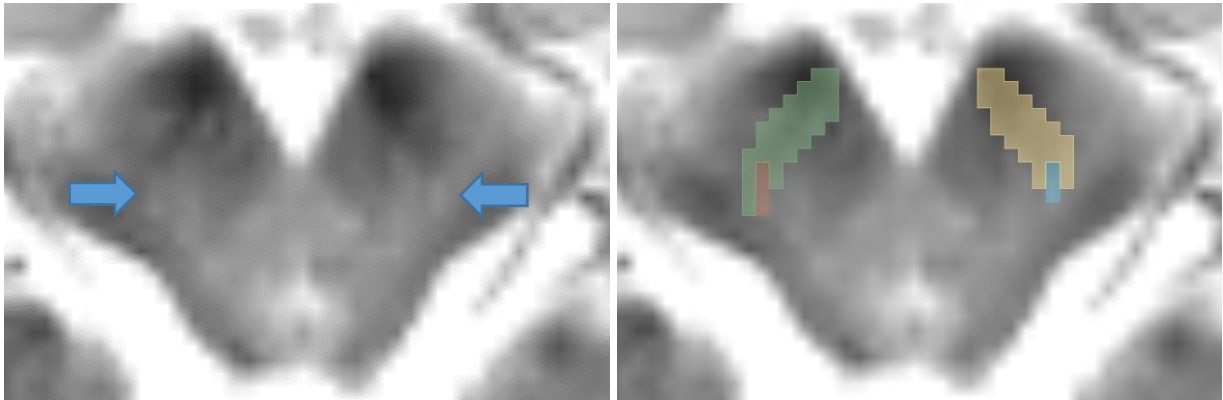


Figura 29 - Exemplo de um sujeito saudável onde são identificáveis os nigrossomas-1 no plano axial do mesencéfalo numa imagem de RM T2 normalizada. À direita está demonstrada a segmentação efetuada da SN e dos nigrossomas-1. (verde: SN esquerda, amarelo: SN direita, nigrossoma esquerdo: vermelho, nigrossoma direito: azul).

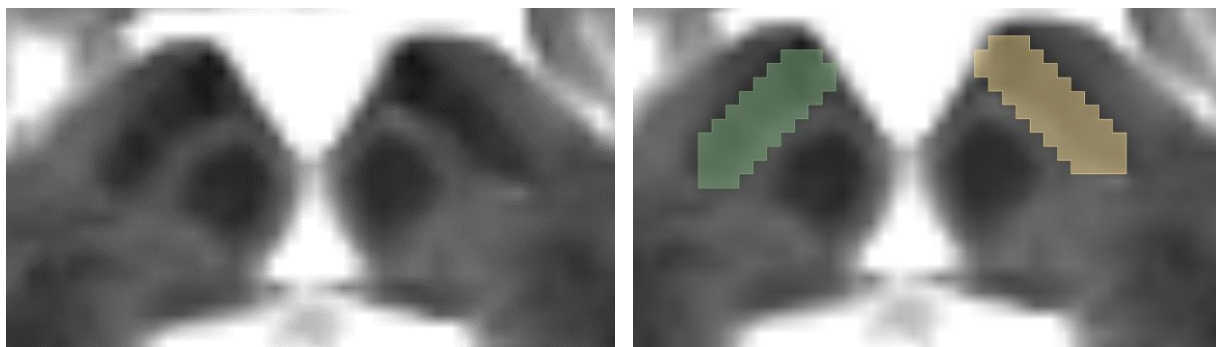


Figura 30 - Exemplo de um paciente com DP onde não são identificáveis os nigrossomas-1 no plano axial do mesencéfalo numa imagem de RM T2 normalizada. À direita está demonstrada a segmentação efetuada da SN. (verde: SN esquerda, amarelo: SN direita).

As segmentações das imagens de RM envolveram a colocação das imagens originais no software 3D Slicer, normalização da intensidade dos pixéis, identificação da secção axial do mesencéfalo com melhor definição das estruturas em estudo e, por fim, a segmentação das mesmas.

A normalização da intensidade dos pixéis é uma etapa fundamental do processamento das imagens médicas, uma vez que estas são sujeitas a comparações entre si, sendo a intensidade das imagens uma variável significativa. Desta forma, procedeu-se a normalização da imagem entre os valores de 0 e 255, sendo 0 o limite inferior e 255 o limite superior, com percentil superior de 98%. A definição deste valor apresentou melhor contraste entre as estruturas do mesencéfalo.

Neste estudo segmentou-se apenas uma secção axial do mesencéfalo. A exata identificação da SN é complexa e a segmentação de uma secção permite reduzir a variabilidade entre segmentações. Os nigrossomas-1 são estruturas com pouco contraste e a segmentação da sua volumetria é, também,

complexa. Assim, a identificação da melhor secção axial a segmentar teve em conta os seguintes critérios: identificação dos nigrossomas-1 e da secção axial com maior área dos mesmos. Caso os nigrossomas-1 não fossem visíveis, os critérios focaram-se na identificação da secção em que a zona de hiposinal, característica da SNr e do pedúnculo cerebral, fosse mais evidente. A identificação da secção intermédia dos núcleos rubros também auxiliou nessa segmentação, uma vez que essa secção está nivelada à SN.

3.4. Análise quantitativa estatística

A análise estatística foi realizada no Microsoft Excel 2016. A caracterização dos resultados envolveu o cálculo das seguintes variáveis:

- As médias contralaterais do BPI das imagens SPECT, intensidade de sinal e volume da SN das imagens de RM para os grupos de VS e pacientes com DP (incluindo o desvio-padrão);
- A percentagem de variação das variáveis do ponto anterior entre o grupo de VS e pacientes com DP, através da Equação 6;

$$\% \text{Variação BPI} = \frac{\overline{BPI}_{\text{controlo}} - \overline{BPI}_{\text{DP}}}{\overline{BPI}_{\text{controlo}}} * 100 \quad (6)$$

- Visualização de gráficos *boxplot* com o cálculo da amplitude interquartil para todas as segmentações, fazendo distinção entre o grupo de VS e pacientes com DP;
- Cálculo do coeficiente de correlação Spearman e do respetivo valor p para a relação do volume da SN e do BPI, e para a relação da intensidade da SN e do BPI.

4. Resultados e Discussão

4.1. SPECT

Segmentação Manual

Após as segmentações manuais efetuadas em imagens SPECT foram calculados os BPI para cada uma das imagens estudadas. Na Tabela 3 estão representadas as médias do BPI calculadas para os grupos avaliados, tendo em conta a posição anatómica do corpo estriado e o sexo do paciente.

Tabela 3 - Valores médios do BPI e do desvio padrão (σ) obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação manual em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI $\pm \sigma$				Total
	Corpo Estriado Esquerdo		Corpo Estriado Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	2,716 \pm 0,436	2,834 \pm 0,563	2,687 \pm 0,271	2,839 \pm 0,576	2,768 \pm 0,480
PACIENTES COM DP	1,683 \pm 0,387	1,751 \pm 0,376	1,678 \pm 0,402	1,855 \pm 0,456	1,727 \pm 0,409

A avaliação da diferenciação entre o grupo de VS e os pacientes com DP foi realizada através do cálculo da variação da média do BPI, que é dada pela Fórmula 6:

$$\% \text{Variação BPI} = \frac{\overline{BPI}_{\text{controle}} - \overline{BPI}_{\text{DP}}}{\overline{BPI}_{\text{controle}}} * 100 \quad (6)$$

Os valores calculados do BPI em relação à segmentação manual permitem fazer uma distinção entre os VS e os pacientes com DP. Considerando a média dos valores totais (coluna “Total” da Tabela 3), onde se juntaram os valores dos corpos estriados esquerdo e direito de ambos os sexos, existe uma variação de 37,608% do valor da média do BPI dos pacientes com DP em relação ao grupo de VS.

$$\frac{2,768 - 1,727}{2,768} * 100 = 37,608\%$$

A variação expressiva do valor médio do BPI é promissora e indica que esta metodologia pode ser útil na identificação de casos de DP. Contudo, o desvio padrão calculado pode dificultar a separação

entre pacientes saudáveis e pacientes com DP. Isto porque, o desvio padrão de ambos os grupos é expressivo, criando uma zona cinzenta de valores que pode gerar índices inconclusivos. Esta análise é facilitada através da análise de um gráfico *boxplot* (Figura 31).

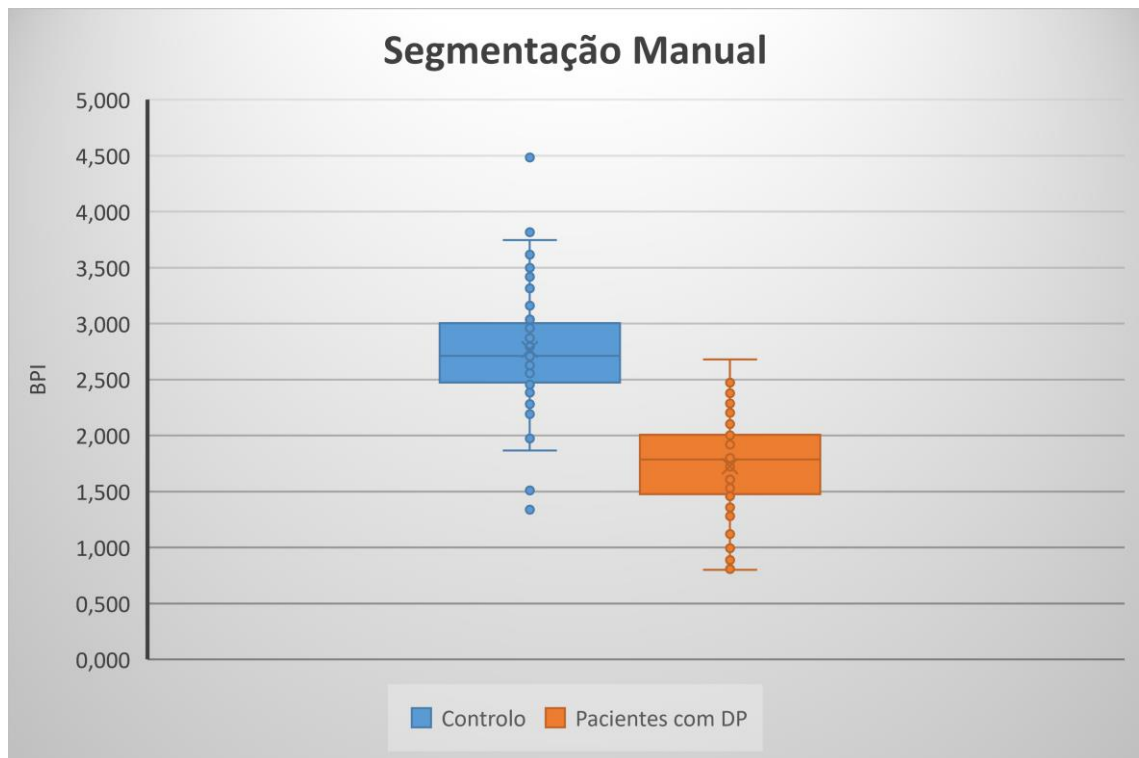


Figura 31 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação manual para o grupo de VS e pacientes com DP.

Em relação à comparação entre os sexos, o grupo feminino e o grupo masculino obtiveram uma variação do BPI de, respetivamente, 36,444% e 37,812%. Isto significa que houve uma diferença de aproximadamente 1,4 pontos percentuais, um valor pouco expressivo. Analisando a diminuição do índice em relação ao corpo estriado esquerdo e direito, calculou-se uma variação do BPI de, respetivamente, 38,400% e 36,812%. Neste caso há uma diferença de aproximadamente 1,8 pontos percentuais, sendo, também, pouco expressivo.

Os resultados obtidos para esta metodologia corroboram com os valores da literatura (9,64). Considerando dois estudos (9,64), a média do BPI no estriado para VS e pacientes com DP foi de, respetivamente, 2,73 e 0,98 (64) e 2,24 e 0,90 (9). Os valores do grupo de VS demonstrados na Tabela 3 estão muito próximos dos valores calculados nestes estudos. Por outro lado, os resultados do grupo dos pacientes com DP são inferiores aos apresentados na Tabela 3. A possível explicação para este dado pode justificar-se com o estadio dos pacientes com DP avaliados no estudo referenciado ser mais avançado, enquanto que, neste estudo, o estadio da DP é desconhecido.

A comparação direta entre as médias do BPI da segmentação manual deve ser cautelosa. Esta metodologia apresenta variabilidade no posicionamento e definição de ROIs, implicando variações no

cálculo de índices, tal como verificado em vários artigos (59,60,62). Assim, no parágrafo anterior, realizaram-se apenas comparações com estudos de metodologia semelhante (9,64), onde o radiofármaco utilizado foi o DaTSCAN SPECT e as ROI delineadas aproximam-se das ROI definidas nesta metodologia.

Segmentação *ThreeBox*

Na Tabela 4 estão apresentados os valores médios do BPI e os desvios padrão dos VS e dos pacientes com DP através da metodologia *ThreeBox* em imagens SPECT, tendo em conta a posição anatómica do corpo estriado e o sexo do paciente.

Tabela 4 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação *ThreeBox* em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI ± σ				Total
	Corpo Estriado Esquerdo		Corpo Estriado Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	0,985 ± 0,131	1,075 ± 0,263	0,993 ± 0,142	1,064 ± 0,294	1,028 ± 0,222
PACIENTES COM DP	0,506 ± 0,131	0,532 ± 0,106	0,479 ± 0,133	0,539 ± 0,148	0,509 ± 0,133

Nesta metodologia os valores médios do BPI são inferiores aos valores obtidos na metodologia de segmentação manual. Tal era expectável, uma vez que, na segmentação *ThreeBox*, as ROIs que definem o estriado contêm ruído de fundo, o que faz com que o valor da intensidade média diminua e, conseqüentemente, o BPI seja menor.

Considerando os valores médios totais do BPI (coluna “Total” da Tabela 4) é possível determinar a variação do BPI:

$$\frac{1,028 - 0,509}{1,028} * 100 = 50,486\%$$

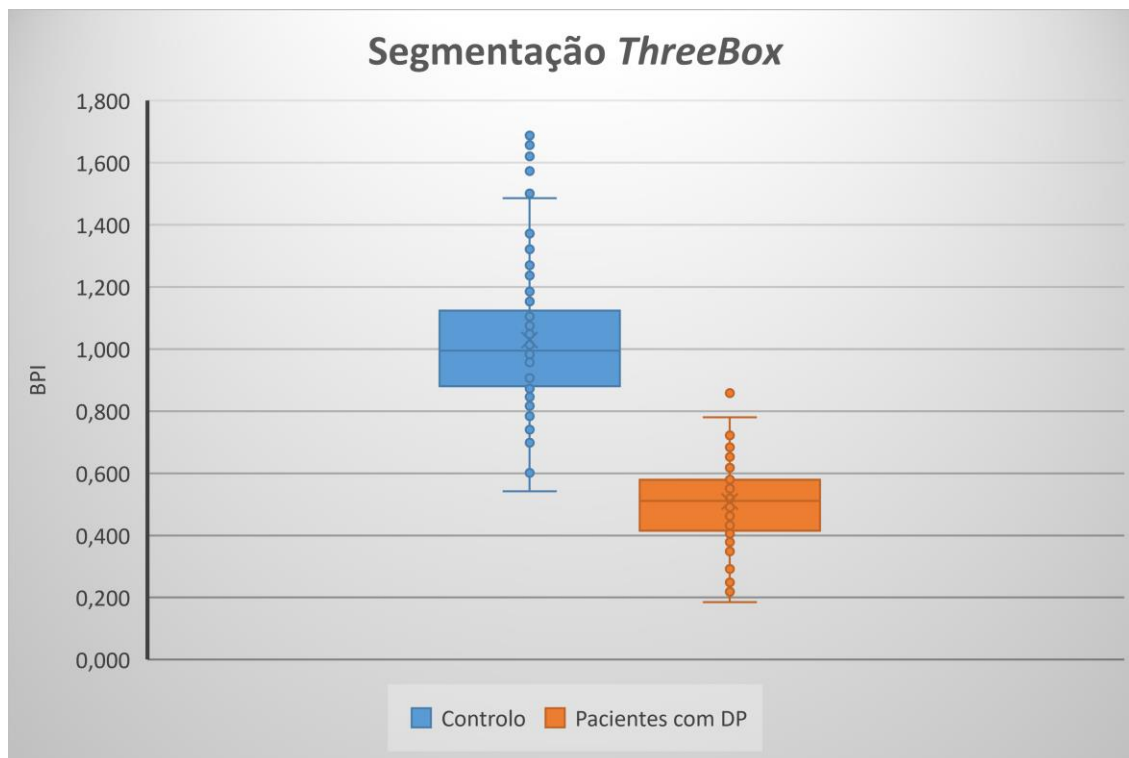


Figura 32 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação ThreeBox para o grupo de VS e pacientes com DP.

Verifica-se que a metodologia *ThreeBox* obtém uma variação de 50,486%, sendo superior à metodologia manual (37,608%). O desvio padrão é também significativamente inferior na metodologia *ThreeBox* quando comparado com a metodologia manual.

Uma das elações a retirar nesta metodologia é que o grupo de VS apresenta maior oscilação de valores do que o grupo de pacientes com DP. Tal pode ser confirmado pelo desvio padrão do grupo de VS ($\pm 0,222$), que é aproximadamente o dobro do desvio padrão do grupo de pacientes com DP ($\pm 0,133$).

A variação dos valores médios do BPI do grupo feminino e masculino foram, respetivamente, 49,934% e 50,222%. O corpo estriado esquerdo apresentou uma variação de 49,881% e o corpo estriado direito obteve 51,180%. A influência do sexo ou da posição anatómica na variação do índice foi reduzida.

Nesta metodologia, os resultados obtidos para a média do BPI são muito semelhantes a outros estudos (12,60). Nota-se que a comparação com o SBR não deve ser efetuada, uma vez que este índice tem em conta toda a volumetria do corpo estriado captado e nesta metodologia apenas se segmentaram duas *slices*.

Segmentação *Threshold*

Na Tabela 5 estão apresentados os valores médios do BPI e os desvios padrão dos VS e dos pacientes com DP através da metodologia *Threshold* em imagens SPECT, tendo em conta a posição anatómica do corpo estriado o sexo do paciente.

Tabela 5 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação *Threshold* em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI $\pm \sigma$				Total
	Corpo Estriado Esquerdo		Corpo Estriado Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	2,511 \pm 0,149	2,597 \pm 0,321	2,553 \pm 0,152	2,597 \pm 0,335	2,561 \pm 0,256
PACIENTES COM DP	2,162 \pm 0,239	2,042 \pm 0,242	2,140 \pm 0,278	2,141 \pm 0,305	2,129 \pm 0,269

A metodologia por segmentação *Threshold* apresentou os piores resultados em termos de distinção entre o grupo de VS e os pacientes com DP. A variação do BPI foi calculada da seguinte forma:

$$\frac{2,561 - 2,129}{2,561} * 100 = 16,868\%$$

Verifica-se que a variação calculada foi de 16,868%, sendo muito inferior às metodologias previamente analisadas. Uma possível explicação para este valor prende-se no facto de os valores de *threshold* definidos serem fixos e, desta forma, haver uma maior aproximação entre os valores de média calculados.

A comparação entre os sexos foi também realizada. A variação do BPI para o grupo feminino foi de 19,339% e para o grupo masculino foi 15,034%. Em relação ao corpo estriado esquerdo a variação foi de 16,926% e o corpo estriado direito obteve 16,846%.

A análise do gráfico *boxplot* da segmentação *Threshold* permite visualizar uma aproximação evidente entre os dois grupos. O limite superior do grupo dos pacientes com DP está acima do terceiro quartil (Q3) do grupo de VS. Há também uma aproximação entre o primeiro quartil (Q1) do grupo de VS e do Q3 do grupo de pacientes com DP. Esta metodologia apresentou os piores resultados discriminatórios entre os dois grupos.

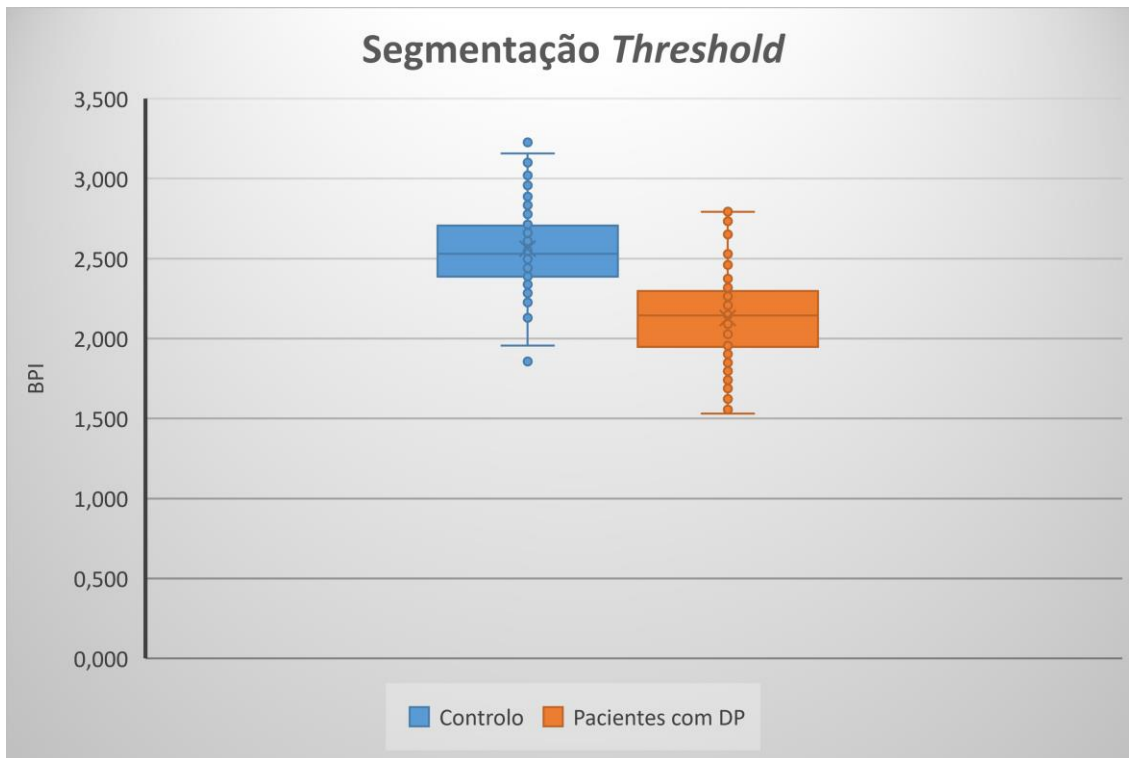


Figura 33 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação Threshold para o grupo de VS e pacientes com DP.

Os resultados obtidos equiparam-se a outros estudos (55). Em Prashanth *et al.* (2016) foi aplicada uma segmentação recorrendo a um *threshold* variável (entre 60 a 85%) definido por um especialista e, através de radiómica, estudo de características extraídas e do classificador SVM, alcançou-se uma eficácia de 97,29% (55). Neste estudo foi calculado o SBR para o putámen e o núcleo caudado, obtendo-se, respetivamente, $2,97 \pm 0,62$ e $2,13 \pm 0,56$, em VS e $2,02 \pm 0,54$ e $0,84 \pm 0,31$ em pacientes com DP. Os resultados aproximam-se dos valores obtidos neste estudo, embora seja importante mencionar que o SBR, geralmente, tem em conta o volume de interesse (VOI), ao contrário do BPI, que utiliza apenas os valores de intensidade média. Num outro estudo, em Oliveira *et al.* (2014) foi desenvolvido um *threshold* inovador que permitiu alcançar excelentes correlações Pearson, com coeficientes superiores a 0,975 entre os diferentes métodos estudados (12). Neste estudo, a utilização de *thresholding* foi um dos passos implementados na segmentação de imagens DaTSCAN SPECT por *ThreeBox* e *TwoBox*.

Como se pode verificar na literatura (12,59), o método *threshold* não é solitariamente utilizado na avaliação de imagens SPECT. Geralmente, é utilizado como método intermédio, num conjunto de etapas de processamento das imagens. Técnicas como o método de Otsu, que permite uma definição computacional e automática do valor de *threshold*, ou como o cálculo implementado em Oliveira *et al.* (2014) podem ter grande utilidade na avaliação de imagens SPECT (12).

Segmentação com atlas anatômico

Na segmentação com atlas anatômico foram estudadas três estruturas: o putâmen, globo pálido e o núcleo caudado. Nas Tabelas 6, 7 e 8 apresentam-se os valores médios do BPI para o putâmen, globo pálido e núcleo caudado, respectivamente, sendo considerados o sexo e a lateralidade de cada estrutura.

Tabela 6 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do putâmen em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI $\pm \sigma$				Total
	Putâmen Esquerdo		Putâmen Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	1,973 \pm 0,265	2,181 \pm 0,604	1,796 \pm 0,352	1,861 \pm 0,647	1,951 \pm 0,512
PACIENTES COM DP	0,883 \pm 0,269	0,838 \pm 0,242	0,664 \pm 0,212	0,713 \pm 0,294	0,774 \pm 0,270

Tabela 7 - Valores médios do BPI e do desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do globo pálido em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI $\pm \sigma$				Total
	Globo Pálido Esquerdo		Globo Pálido Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	1,415 \pm 0,380	1,579 \pm 0,279	1,928 \pm 0,275	2,116 \pm 0,474	1,758 \pm 0,455
PACIENTES COM DP	0,873 \pm 0,260	0,840 \pm 0,212	0,970 \pm 0,324	1,104 \pm 0,384	0,941 \pm 0,314

Tabela 8 - Valores médios do BPI e desvio padrão obtidos para os VS e pacientes com DP na metodologia de segmentação específica do núcleo caudado em imagens SPECT.

GRUPO	Média BPI $\pm \sigma$				Total
	Núcleo Caudado Esquerdo		Núcleo Caudado Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	1,457 \pm 0,351	1,580 \pm 0,362	1,567 \pm 0,326	1,767 \pm 0,473	1,591 \pm 0,397
PACIENTES COM DP	0,923 \pm 0,251	1,103 \pm 0,199	0,974 \pm 0,316	1,168 \pm 0,285	1,020 \pm 0,285

As percentagens de variação da média do BPI para o putâmen, globo pálido e núcleo caudado, tendo em conta a média total (coluna “Total” das Tabelas 6, 7 e 8), foram de 60,331%, 46,490% e

35,895%, respetivamente. Estes números permitem identificar o putámen como a região que perde mais sinal dopaminérgico, ou seja, o putámen é a região mais evidente da neurodegeneração dopaminérgica do estriado. Por outro lado, o núcleo caudado foi a estrutura que obteve menor variação do BPI.

Os gráficos *boxplots* corroboram com dados demonstrados nas tabelas. A segmentação do putámen evidencia uma separação clara dos valores médios do BPI, enquanto, na segmentação do núcleo caudado há uma maior interseção dos valores médios.

A evidência principal da DP em imagens SPECT é o facto do formato de “ponto e vírgula” característico de indivíduos saudáveis não estar presente, sendo apenas visível o “ponto” dessa estrutura (55,56). O núcleo caudado é a estrutura anatómica mais próxima da região do “ponto” e, assim, tem a menor diminuição de sinal. Por outro lado, o putámen e o globo pálido têm maior perda de sinal, estando estas estruturas na região da “vírgula”. Logo, os dados obtidos comprovam que a “vírgula”, ou seja, o putámen é a região mais afetada na DP.

A utilização de atlas anatómicos em DaTSCAN SPECT pode facilitar a identificação e quantificação dos corpos estriados, permitindo, inclusive, a correlação com estruturas específicas do estriado (87). Vários estudos focam-se na criação e otimização de atlas anatómicos (44,54), sendo que neste estudo foi desenvolvida uma nova e reprodutível ROI que identifica o corpo estriado e o GP. Os resultados obtidos através desta metodologia comprovam que a utilização de atlas anatómicos pode ser útil na distinção entre pacientes com DP e VS.

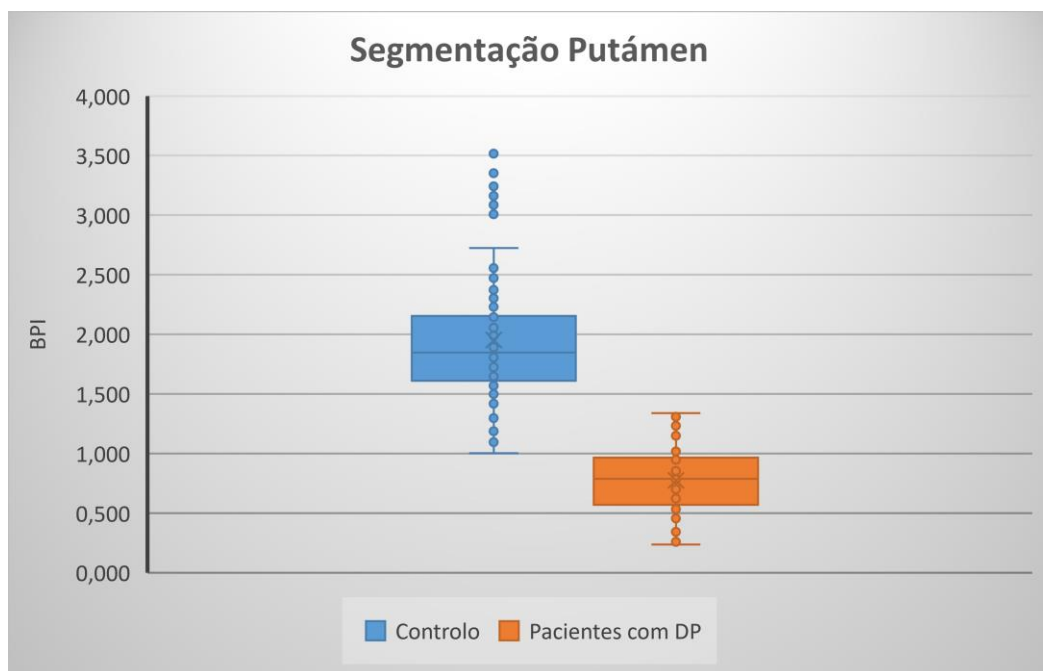


Figura 34 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do putámen para o grupo de VS e pacientes com DP.

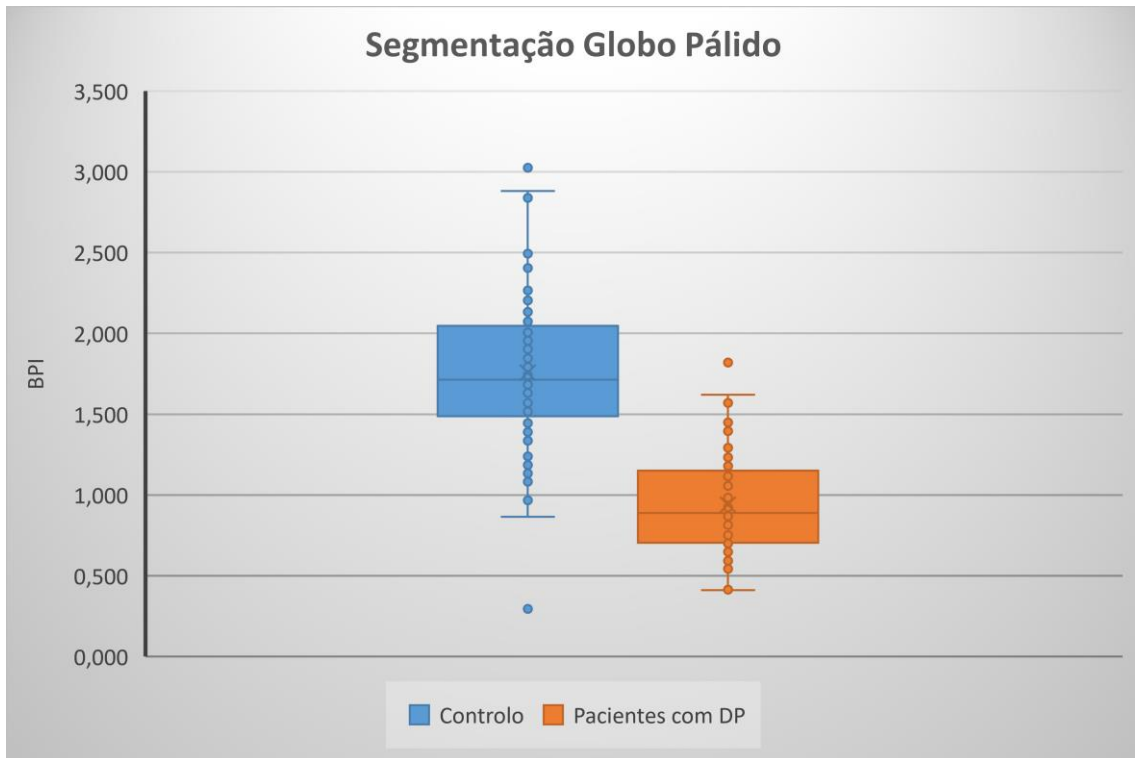


Figura 35 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do globo pálido para o grupo de VS e pacientes com DP.

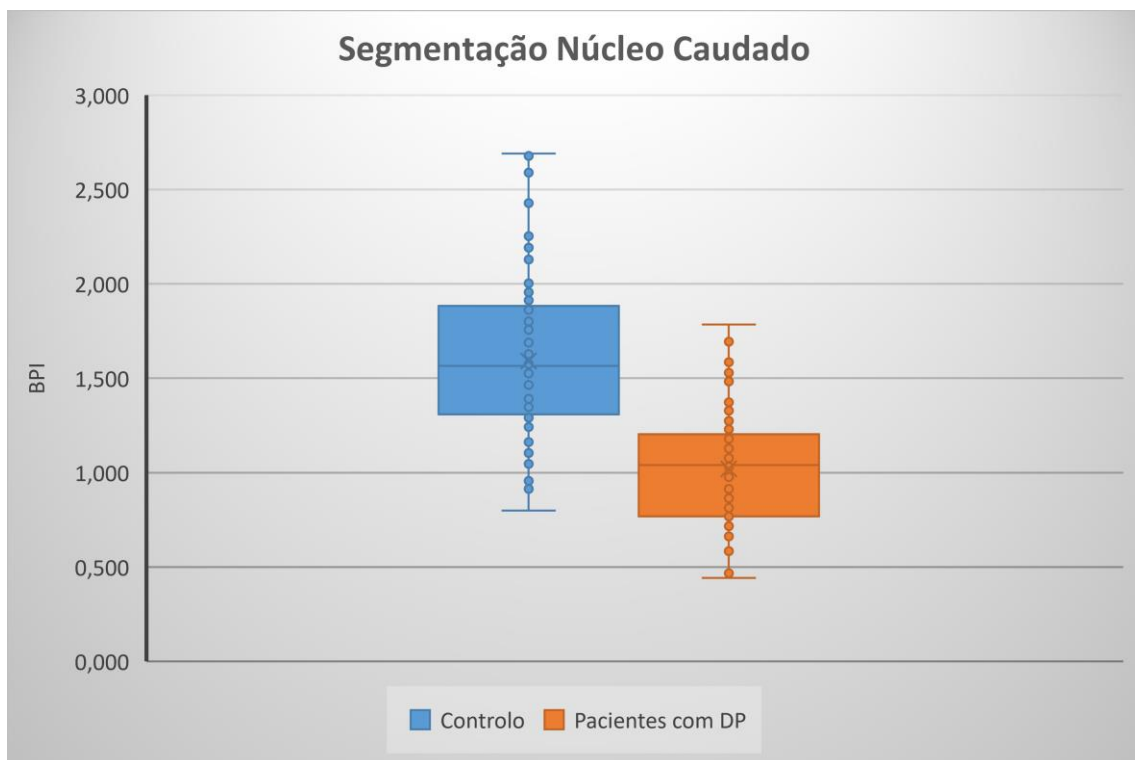


Figura 36 - Boxplot dos valores médios do BPI na metodologia de segmentação com atlas anatómico do núcleo caudado para o grupo de VS e pacientes com DP.

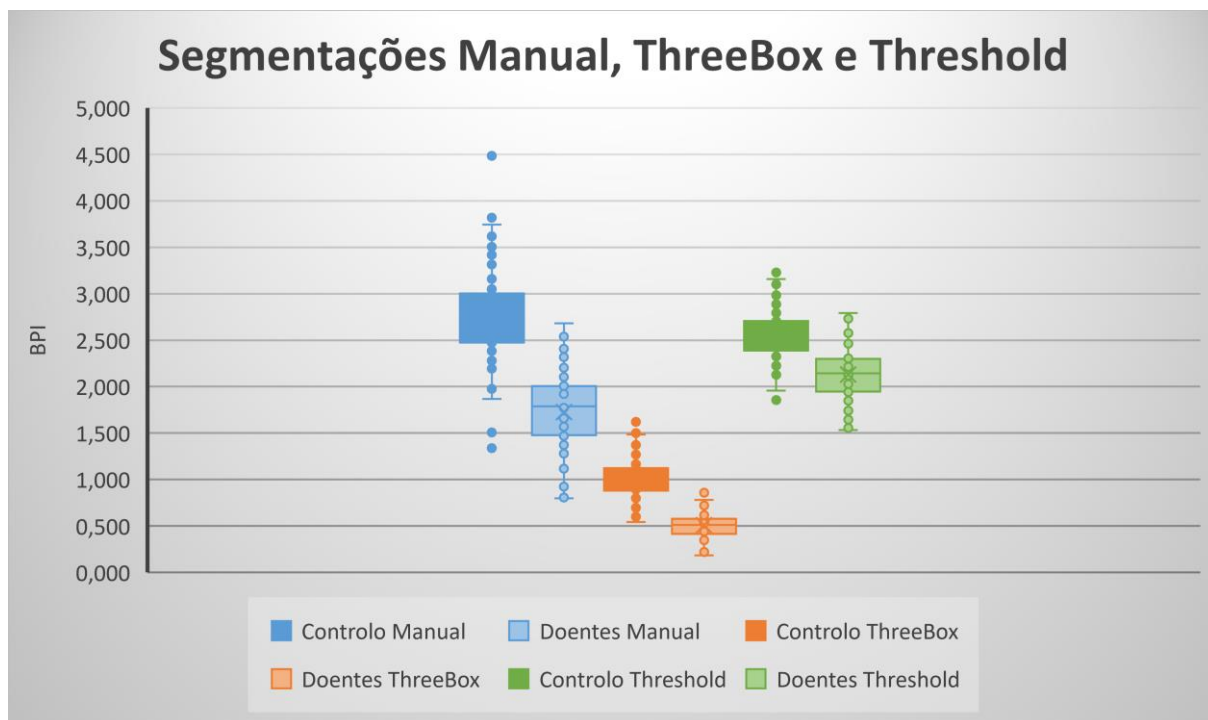


Figura 37 - Comparação dos boxplot entre as segmentações manual, ThreeBox e threshold.

Evolução da DP através da segmentação *ThreeBox*

A metodologia de segmentação *ThreeBox* é uma das mais utilizadas na avaliação dos corpos estriados em imagem nuclear (8,12,59) e é aquela que neste estudo apresentou melhores resultados. Desta forma, esta metodologia foi utilizada para avaliar a progressão da DP após 12 e 24 meses.

Como mencionado anteriormente, a seleção dos pacientes com DP teve em conta o critério da existência de exames SPECT em períodos de aquisição *Baseline*, 12 meses e 24 meses. Posteriormente, verificou-se que 3 pacientes selecionados não tinham exames no período de 12 meses e 6 pacientes não tinham exames no período de 24 meses. Os valores médios do BPI e dos desvios padrão para a aquisição *Baseline*, 12 meses e 24 meses encontram-se na Tabela 9.

Tabela 9 - Valores médios do BPI e desvio padrão obtidos para os pacientes com DP nas aquisições *Baseline*, 12 meses e 24 meses, na metodologia de segmentação *ThreeBox* em imagens SPECT.

PACIENTES COM DP	Média BPI ± σ				Total
	Corpo Estriado Esquerdo		Corpo Estriado Direito		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
<i>BASELINE</i>	0,506 ± 0,131	0,532 ± 0,106	0,479 ± 0,133	0,539 ± 0,148	0,509 ± 0,133
<i>12 MESES</i>	0,455 ± 0,118	0,495 ± 0,106	0,414 ± 0,118	0,504 ± 0,132	0,458 ± 0,124
<i>24 MESES</i>	0,407 ± 0,107	0,456 ± 0,126	0,380 ± 0,130	0,467 ± 0,165	0,420 ± 0,135

Na avaliação a 12 meses, a percentagem de variação do valor médio do BPI é de 9,969% e, aos 24 meses, a percentagem de variação é de 17,389%. Aos 24 meses, a variação do BPI é aproximadamente o dobro da aquisição realizada aos 12 meses.

A principal conclusão que se pode retirar sobre esta metodologia é que, após o primeiro exame de SPECT realizado, aquisição *Baseline*, a evolução da doença é progressiva e linear. Independentemente do estadio da DP, a tendência de evolução está relacionada com a perda constante de funções dopaminérgicas.

Uma das limitações que este estudo apresenta é o facto de não se conhecer o estadio da DP associado a cada paciente. Se tal fosse conhecido, seria possível correlacionar a variação do BPI com o estadio da doença, em cada caso.

4.2. Avaliação das imagens de RM

As segmentações das imagens de RM tiveram como objetivo verificar que alterações ocorrem aos níveis médios de intensidade da SN, ao volume e intensidade média dos nigrossomas-1, e a presença uni ou bilateral dos mesmos. Na Tabela 10 estão representados os valores médios da intensidade média da SN e desvio padrão obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.

Tabela 10 - Valores da intensidade média da SN e desvios padrão obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.

GRUPO	Intensidade média $\pm \sigma$				Total
	SN Esquerda		SN Direita		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	77,000 \pm 11,158	82,795 \pm 13,617	77,895 \pm 11,156	81,820 \pm 12,820	79,513 \pm 12,325
PACIENTES COM DP	68,652 \pm 10,101	78,648 \pm 13,043	68,583 \pm 10,202	76,588 \pm 11,614	72,047 \pm 11,891

Tabela 11 - Valores do volume médio da SN e desvios padrão obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.

GRUPO	Volume médio $\pm \sigma$				Total
	SN Esquerda		SN Direita		
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino	
VS	43,739 \pm 6,917	40,882 \pm 6,773	44,652 \pm 6,246	40,824 \pm 6,501	43 \pm 6,823
PACIENTES COM DP	43,115 \pm 8,285	40,063 \pm 7,870	46,000 \pm 7,504	39,938 \pm 6,923	42,821 \pm 8,111

Segundo a literatura abordada no Capítulo do Enquadramento Teórico, seria expectável que a intensidade média da SN fosse inferior no grupo dos pacientes com DP, em comparação com o grupo de VS. Analisando o valor total (coluna “Total” da Tabela 10), é possível determinar que há uma variação de 9,390 %.

Em análise crítica à diferença de intensidades médias obtidas, pode-se afirmar que os resultados não são expressivos. Embora haja uma diferença, as intensidades médias apresentaram grande oscilação de valores que limitam a afirmação de clara distinção entre valores normais e anormais. Os valores dos desvios padrão, para ambos os grupos de estudo, são o dobro da diferença das intensidades médias.

As diferenças do volume médio entre os VS e os pacientes com DP são praticamente nulas. Tal era expectável, uma vez que a região da SN é dificilmente identificada em imagens de RM T2.

Tabela 12 - Valores médios do volume e da intensidade média dos nigrossomas-1 obtidos para os pacientes com DP em imagens RM T2.

GRUPO	Nigrossoma-1 esquerdo		Nigrossoma-1 direito	
	Volume (mm ³) ± σ	Intensidade ± σ	Volume (mm ³) ± σ	Intensidade ± σ
VS	5,229 ± 1,709	95,411 ± 15,851	5,114 ± 1,635	100,127 ± 15,557
PACIENTES COM DP	4,200 ± 2,072	94,834 ± 15,636	4,238 ± 1,269	92,355 ± 12,081

A análise das segmentações dos nigrossomas-1 é muito semelhante à análise das SN. Tal como mencionado no Capítulo 2, geralmente, em casos de DP, o nigrossoma-1 não é visível. No entanto, em alguns pacientes avaliados neste estudo foi possível verificar a existência dos nigrossomas-1, sendo estes segmentados. Os resultados dessas segmentações provam que o nigrossoma-1 perde volume e é, na maior parte das vezes, não identificado em pacientes com DP.

A presença unilateral e bilateral dos nigrossomas-1 foi contabilizada. No grupo de VS foram identificadas 8 imagens com presença unilateral, 32 imagens com presença bilateral e 1 imagem onde não foi possível identificar os nigrossomas-1. No grupo de pacientes com DP foram sinaladas 12 imagens com presença unilateral, 11 imagens com presença bilateral e 19 imagens onde não se visualizar qualquer nigrossoma-1.

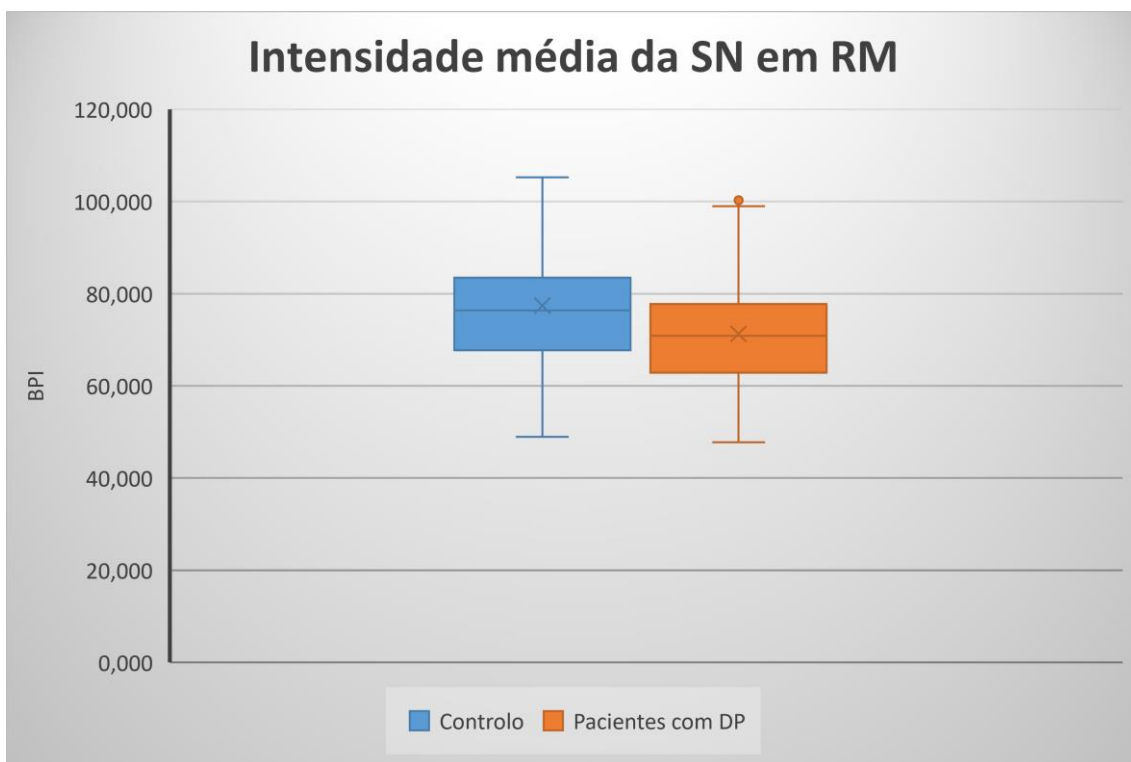


Figura 38 - Boxplot da intensidade média da SN em RM T2.

A análise ao gráfico *boxplot* corrobora a análise já mencionada. Há uma proximidade de valores entre a intensidade média da SN nas segmentações em RM T2.

Os resultados obtidos das segmentações realizadas em RM T2 provam que a SN é uma estrutura que sofre alterações a nível de intensidade média e que o nigrossoma-1 está menos presente em casos clínicos de DP. Porém, esta técnica apresentou baixa sensibilidade e oscilação de valores. Quando comparada com outras técnicas (T2*, SWI, SWAN e RM com maior resolução) abordadas em vários artigos (80,83,84), a RM T2 perde na apresentação de resultados por ter menor sensibilidade e resolução para a representação desta estrutura.

4.3. Correlação entre DaTSCAN SPECT e RM T2

As correlações entre os resultados das segmentações de SPECT e RM foram calculadas através da correlação Spearman. As variáveis relacionadas foram: a [intensidade média da SN] e o [BPI], e o [volume da SN] e o [BPI]. Na Tabela 13 estão apresentados os resultados obtidos.

Tabela 13 - Correlações Spearman entre o volume da SN e o BPI, e a intensidade da SN e o BPI.

	Volume - BPI		Intensidade - BPI	
	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito
ρ (coeficiente)	-0,084	-0,059	-0,018	-0,134
P (valor p)	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Os resultados calculados indicam que existe uma correlação fraca entre o volume ou a intensidade e o BPI. O valor p é superior a 0,05 para todas as correlações, traduzindo-se numa diferença não significativa.

Os BPI utilizados foram extraídos da metodologia *ThreeBox*, visto que este método apresentou melhor discriminação entre o grupo de VS e os pacientes com DP. Uma vez que, os resultados das segmentações relativos à intensidade e volume da SN apresentaram maior oscilação e menor distinção entre os dois grupos, pode-se atribuir a fraca correlação entre as duas técnicas às segmentações em RM.

A pesquisa literária efetuada ao longo deste estudo e descrita no Enquadramento Teórico sugere que existe uma relação entre a degeneração dopaminérgica do estriado e a SN. Na pesquisa efetuada, não foram encontrados estudos que correlacionem imagens DaTSCAN SPECT com imagens de RM T2. Por outro lado, técnicas mais avançadas de RM, tal como contraste à NM (30) ou T2* (17), são mais frequentes no estudo da DP e demonstram uma correlação entre a perda de funções dopaminérgicas no estriado e na SN.

A não existência de estudos entre as duas técnicas mencionadas pode ser explicada pelas limitações inerentes à avaliação da SN em RM T2. Nas condições desta avaliação, a delimitação da SN em RM T2 é muito complexa. Como pode ser observado ao longo das várias segmentações, não existe uma separação evidente da SN e do pedúnculo cerebral, e entre a SNr e a SNc, o que corrobora com outros artigos (81,82). Esta limitação é um dado essencial na avaliação da SN, pois não permite uma segmentação exata da sua região. Estas limitações traduzem uma maior variabilidade de resultados, o que pode explicar a correlação fraca das variáveis, assim como, a oscilação de valores na intensidade e no volume da SN, mencionados no subcapítulo anterior.

Estes dados permitem concluir que a RM T2 não é uma ferramenta ideal na avaliação da DP. Por outro lado, técnicas mais avançadas de RM, que incluem imagens de difusão (88), ponderação SWI (83), contraste de transferência magnética (MTC) (82) e RM com elevados campos magnéticos (80) demonstram ter potencial como biomarcadores quantitativos da DP.

4.4. Variáveis sociodemográficas e DP

A correlação em imagens de RM foi realizada entre o volume da SN e a idade do paciente, entre a intensidade da SN e a idade do paciente, e entre o BPI e a idade. Para todos os casos, a correlação Spearman foi calculada.

Sobre a correlação entre o volume da SN e a idade, a correlação Spearman foi negativa, moderada e significativa (SN esquerda: $\rho = -0,329$, $P < 0,05$; SN direita: $\rho = -0,365$, $P < 0,05$). Da mesma forma, a correlação entre a intensidade da SN e a idade foi também negativa, moderada e significativa, exceto à esquerda (SN esquerda: $\rho = -0,225$, $P > 0,05$; SN direita: $\rho = -0,380$, $P < 0,05$). Na correlação do BPI e a idade, a correlação foi negativa e fraca (Corpo estriado esquerdo: $\rho = -0,036$, $P > 0,05$; Corpo estriado direito: $\rho = -0,178$, $P > 0,05$).

Tabela 14 - Correlações Spearman calculados para o volume e intensidade da SN, e BPI com a idade.

	Volume - Idade		Intensidade - Idade		BPI - Idade	
	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito
ρ (coeficiente)	-0,329	-0,365	-0,225	-0,380	-0,036	-0,178
P (valor p)	< 0,05	< 0,05	> 0,05	< 0,05	> 0,05	> 0,05

Estes resultados eram espectáveis, uma vez que, a DP tem diferentes manifestações e velocidades de progressão, e não é uma doença exclusivamente relacionada com a idade. De facto, a DP tem maior prevalência a partir dos 60 anos. No entanto, neste trabalho, as aquisições das imagens foram *baseline* e o estadio da DP de cada paciente não era conhecido, visto que essa informação não constava na base de dados utilizada. Assim, pode-se especular que foram segmentadas imagens em diferentes estadios da DP, aumentando a variabilidade dos resultados. Neste caso, a correlação negativa significa que a diminuição da intensidade do sinal em RM e SPECT está relacionada com o aumento da idade.

As correlações calculadas podem ser equiparadas a outros estudos. Em Isaias *et al.* (2016) foi realizado um estudo semelhante onde concluem que a idade não é estatisticamente significativa na correlação com o sinal T2* (30). Em Kaasinen *et al.* (2015) foi avaliada a correlação entre o envelhecimento e o sinal em imagens DaTSCAN SPECT, onde concluíram que o envelhecimento não é um fator catalisador na DP (89). Ainda em Sohara *et al.* (2021) foi calculada a correlação entre a idade e o SBR, sendo que os resultados atingidos ($r = -0,441$) equiparam-se aos calculados neste estudo (87).

Embora esteja evidenciado que há um declínio natural dos níveis de dopamina, o envelhecimento, por si só, não atinge os valores críticos de degeneração necessários para justificar o aparecimento de

DP. Estes estudos demonstram que o efeito do envelhecimento na DP não é expressivo, o que pode ser atribuído à variação clínica da doença.

5. Conclusões

As metodologias desenvolvidas neste estudo permitiram responder aos objetivos enunciados. Verificou-se que a metodologia de segmentação *ThreeBox* é viável na distinção entre VS e pacientes com DP, apresentando elevada separação nos valores calculados do BPI. Neste estudo, esta segmentação é considerada a melhor metodologia para avaliação da captação de DaTSCAN em imagens SPECT devido a apresentar elevada capacidade de distinção entre o grupo de doentes e o grupo de controlo. Adicionalmente, é uma metodologia que apresenta pouco intra variabilidade, uma vez que foram utilizadas ROIs fixas e consegue diminuir os PVEs presentes em imagens SPECT. A segmentação manual também apresentou resultados discriminatórios, mas possui a limitação do tempo consumido. A metodologia que recorre ao atlas anatómico comprova que a degeneração mais profunda ocorre na região do putámen, sendo menor na região do núcleo caudado. Embora apresente grande variabilidade, este atlas anatómico pode também ser útil na identificação de casos de DP e permite uma análise mais específica às diferentes estruturas dos núcleos da base. A metodologia de segmentação *Threshold* quando utilizada solitariamente não apresenta resultados que permitam diferenciação. No entanto, pode ser um passo intermédio em metodologias mais complexas.

O estudo da evolução da DP através da metodologia de segmentação *ThreeBox* nos períodos de aquisição *Baseline*, 1 ano e 2 anos, permite concluir que há uma tendência progressiva e linear de degeneração dopaminérgica no estriado. Destaca-se a necessidade de realizar estudos de evolução da DP com esta metodologia, correlacionando os estádios da doença com a perda de sinal dopaminérgico em imagens DaTSCAN SPECT.

O papel da SPECT na avaliação de funções dopaminérgicas está bem cimentado em práticas clínicas. A literatura sobre esta temática tem sido desenvolvida nos últimos trinta anos, possibilitando mais conhecimento e aplicabilidade. Os recentes desenvolvimentos nas técnicas de imagem em RM começam a equiparar-se à SPECT. Neste estudo optou-se pela avaliação da imagem de RM T2 e conclui-se que não é a mais indicada para a avaliação da SN ou dos nigrossomas-1 na DP. De facto, existem diferenças entre VS e pacientes com DP, contudo, essa diferença é reduzida.

As correlações entre a intensidade e o volume da SN com o BPI foram fracas, negativas e estatisticamente não significativas, significando que não existe uma associação entre as variáveis. Esta evidência deve-se ao facto de os resultados obtidos para as imagens de RM apresentarem grande oscilação de valores.

Na análise sociodemográfica, o fator da idade não apresenta diferenças expressivas. Tal como outros estudos (77,90), as correlações realizadas indicam, com correlações maioritariamente significativas, que com o aumento da idade, há uma tendência para a diminuição da intensidade e do volume da SN.

Limitações

A principal limitação deste trabalho prende-se na utilização de uma base de dados pública em que não existe conhecimento sobre o estadió dos pacientes com DP, o que implica uma variabilidade expectável de resultados e uma maior oscilação de valores. Segundo o protocolo mais recente, a base de dados incluiu pacientes com DP que pertençam aos estadios I, II e III da escala de Hoehn & Yahr na aquisição *Baseline* (91). Sendo utilizadas imagens de uma base de dados, não existiu controlo sobre as condições ou variáveis dos equipamentos usados na aquisição das imagens. As imagens apresentam-se com baixa resolução espacial, o que dificultou a segmentação.

Uma outra grande limitação é facto de ser apenas um operador a aplicar os métodos de segmentação e a extrair os resultados.

O diagnóstico dos pacientes parkinsonianos foi exclusivamente clínico. A análise cito patológica poderia aumentar a eficácia de diagnóstico, confirmando, ou não, casos de DP.

A escolha de duas *slices* segmentadas para cada metodologia é uma limitação. A segmentação total dos corpos estriados seria mais adequada e permitiria realizar comparações mais exatas. A escolha de duas *slices* teve em consideração o tempo despendido para se realizarem as segmentações.

Uma das melhorias apontadas ao longo da realização deste trabalho prende-se no facto de as ROIs que identificam o estriado, no método *ThreeBox*, apresentarem uma ligeira separação entre si (Figura 25). Verificou-se que em pacientes com DP, por vezes, a captação do radiofármaco dos hemisférios está muito próxima e pode existir uma junção entre os corpos estriados. A separação das ROIs, em alguns casos, não permitiu a segmentação mais correta e exata das regiões intensas. Deste modo, uma das melhorias identificadas seria a redefinição das ROIs, tornando-as adjacentes e coincidentes.

As imagens de RM apresentam, também, várias limitações. As imagens possuem baixa resolução espacial, o que implica maior dificuldade na definição de limites de estruturas profundas de pequenas dimensões. A metodologia de segmentação manual está intrinsecamente relacionada com intra variabilidade e não foi realizada análise de reprodutibilidade. Os ajustes de janela e contraste de imagem são funções com limitações para o software utilizado.

Trabalhos Futuros

Um trabalho futuro que se propõe é a aplicação da metodologia *ThreeBox* para o estudo da evolução da DP, em intervalos, no mínimo de 6 meses ou 1 ano, tendo em conta o estadió da doença. Seria interessante conhecer a tendência de progressão da doença entre os vários estadios.

O potencial da aplicação da metodologia *ThreeBox* é deveras interessante. Aproveitando os desenvolvimentos tecnológicos na área da IA, seria cientificamente útil combinar esta metodologia

com radiómica e classificadores estatísticos com o intuito de diagnosticar casos de DP precocemente ou aumentar o seu poder de distinção face a outras de síndromes parkinsonianas.

Bibliografia

1. Erkinen MG, Kim M, Geschwind MD. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018;
2. Dickson DW. Neuropathology of Parkinson disease. *Park Relat Disord*. 2018;46(Suppl 1):S30–3.
3. Postuma RB, Berg D, Stern M, Poewe W, Olanow CW, Oertel W, et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015;30(12):1591–601.
4. Tatsch K, Poepperl G. Nigrostriatal dopamine terminal imaging with dopamine transporter SPECT: An update. *J Nucl Med*. 2013;54(8):1331–8.
5. Miller DB, Callaghan JPO. Biomarkers of PD - Present and Future. *Metabolism* [Internet]. 2014;64(3):S40–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2014.10.030>
6. Ming CS, Amaro E, Ferraz HB, Hoexter MQ, Goulart FO, Wagner J, et al. Neuroimaging of the dopamine transporter in Parkinson's disease: First study using [99mTc]-TRODAT-1 and SPECT in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr*. 2006;64(3 A):628–34.
7. Patel A, Simon S, M Elangoven I, Amalchandran J, S Jain A, S T. Dopamine Transporter maging with Tc-99m TRODAT-1 SPECT in Parkinson's isease and its orrelation with linical isease everity. *Asia Ocean J Nucl Med Biol* [Internet]. 2019;7(1):22–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30705908> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/article-render.fcgi?artid=PMC6352051>
8. Costa DC, Verhoeff NPLG, Cullum ID, Ell PJ, Syed GM., Barret J, et al. In vivo characterisation of 3-iodo-6-methoxybenzamide 123I in humans. *Eur J Nucl Med*. 1990;16:813–6.
9. Booij J, Hemelaar JTGM, Speelman JD, De Bruin K, Janssen AGM, Van Royen EA. One-day protocol for imaging of the nigrostriatal dopaminergic pathway in Parkinson's disease by [123I]FPCIT SPECT. *J Nucl Med*. 1999;40(5):753–61.
10. Brigo F, Martinella A, Erro R, Tinazzi M. [123I]FP-CIT SPECT (DaTSCAN) may be a useful tool to differentiate between Parkinson's disease and vascular or drug-induced parkinsonisms: A meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2014;21(11):1369-e90.
11. Verhoeff NPLG, Kapucu O, Sokole-Busemann E, Van Royen EA, Janssen AGM. Estimation of dopamine D2 receptor binding potential in the striatum with iodine-123-IBZM SPECT: Technical and interobserver variability. *J Nucl Med*. 1993;34(12):2076–84.
12. Oliveira FPM, Borges Faria D, Campos Costa D, Tavares JMRS. A robust computational solution for automated quantification of a specific binding ratio based on [123I]FP-CIT SPECT

- images. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;58(1):74–84.
13. Alexandre-Santos L, Trevisan AC, Pitella FA, Tumas V, Silvah JH, Kato M, et al. Assessment of different regions of interest-based methods for [^{99m}Tc]Tc DAT-SPECT quantification using an anthropomorphic striatal phantom. *EJNMMI Phys* [Internet]. 2022;9(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s40658-022-00519-2>
 14. Augimeri A, Cherubini A, Cascini GL, Galea D, Caligiuri ME, Barbagallo G, et al. CADA—computer-aided DaTSCAN analysis. *EJNMMI Phys* [Internet]. 2016;3(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40658-016-0140-9>
 15. Natacha V. Avaliação do potencial de técnicas de machine learning no diagnóstico diferencial da doença de Parkinson com base em imagem molecular. Instituto Superior de Engenharia de Lisboa, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa; 2022.
 16. Gaurav R, Valabrègue R, Yahia-Chérif L, Mangone G, Narayanan S, Arnulf I, et al. NigraNet: An automatic framework to assess nigral neuromelanin content in early Parkinson’s disease using convolutional neural network. *NeuroImage Clin*. 2022;36(October).
 17. Depierreux F, Parmentier E, Mackels L, Baquero K, Degueldre C, Balteau E, et al. Parkinson’s disease multimodal imaging: F-DOPA PET, neuromelanin-sensitive and quantitative iron-sensitive MRI. *npj Park Dis* [Internet]. 2021;7(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41531-021-00199-2>
 18. Sasaki M, Shibata E, Tohyama K, Takahashi J, Otsuka K, Tsuchiya K, et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson’s disease. *Neuroreport*. 2006;17(11):1215–8.
 19. Martin-Bastida A, Pietracupa S, Piccini P. Neuromelanin in parkinsonian disorders: an update. *Int J Neurosci* [Internet]. 2017;127(12):1116–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/00207454.2017.1325883>
 20. Zucca FA, Vanna R, Cupaioli FA, Bellei C, De Palma A, Di Silvestre D, et al. Neuromelanin organelles are specialized autolysosomes that accumulate undegraded proteins and lipids in aging human brain and are likely involved in Parkinson’s disease. *npj Park Dis* [Internet]. 2018;4(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41531-018-0050-8>
 21. Carballo-Carbajal I, Laguna A, Romero-Giménez J, Cuadros T, Bové J, Martínez-Vicente M, et al. Brain tyrosinase overexpression implicates age-dependent neuromelanin production in Parkinson’s disease pathogenesis. *Nat Commun* [Internet]. 2019;10(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-08858-y>
 22. Blazejewska AI, Schwarz ST, Pitiot A, Stephenson MC, Lowe J, Bajaj N, et al. Visualization of nigrosome 1 and its loss in PD: Pathoanatomical correlation and in vivo 7T MRI. *Am Acad*

- Neurol. 2013;81:534–40.
23. Castellanos G, Fernández-Seara MA, Lorenzo-Betancor O, Ortega-Cubero S, Puigvert M, Uranga J, et al. Automated Neuromelanin Imaging as a Diagnostic Biomarker for Parkinson's Disease. *Mov Disord*. 2015;30(7):945–52.
 24. Garg A, Appel-Cresswell S, Popuri K, McKeown MJ, Beg MF. Morphological alterations in the caudate, putamen, pallidum, and thalamus in Parkinson's disease. *Front Neurosci*. 2015;9(MAR):1–14.
 25. Kashihara K, Shinya T, Higaki F. Neuromelanin magnetic resonance imaging of nigral volume loss in patients with Parkinson's disease. *J Clin Neurosci* [Internet]. 2011;18(8):1093–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2010.08.043>
 26. Sterling NW, Du G, Lewis MM, Dimaio C, Kong L, Eslinger PJ, et al. Striatal shape in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2013;34(11):2510–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.05.017>
 27. Miller CPK, Muller J, Noecker AM, Matias C, Alizadeh M, McIntyre C, et al. Automatic Segmentation of Parkinson Disease Therapeutic Targets Using Nonlinear Registration and Clinical MR Imaging: Comparison of Methodology, Presence of Disease, and Quality Control. *Stereotact Funct Neurosurg*. 2023;101(2):146–57.
 28. Egger K, Amtage F, Yang S, Obmann M, Schwarzwald R, Köstering L, et al. T2* Relaxometry in Patients with Parkinson's Disease: Use of an Automated Atlas-based Approach. *Clin Neuroradiol*. 2016;28(1):63–7.
 29. Kuya K, Ogawa T, Shinohara Y, Ishibashi M, Fujii S, Mukuda N, et al. Evaluation of Parkinson's disease by neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging and 123I-FP-CIT SPECT. *Acta radiol*. 2018;59(5):593–8.
 30. Isaias IU, Trujillo P, Summers P, Marotta G, Mainardi L, Pezzoli G, et al. Neuromelanin imaging and dopaminergic loss in parkinson's disease. *Front Aging Neurosci*. 2016;8(AUG):1–12.
 31. Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease: A Review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(6):548–60.
 32. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *Lancet* [Internet]. 2021;397(10291):2284–303. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00218-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00218-X)
 33. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2017;124(8):901–5.
 34. Kalia L V., Lang AE. Parkinson's disease. *Lancet* [Internet]. 2015;386(9996):896–912.

Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)

35. Abbott RD, Petrovitch H, White LR, Masaki KH, Tanner CM, Curb JD, et al. Frequency of bowel movements and future risk of Parkinson's disease. *Neurology*. 2002;57(5):838–9.
36. VanPutte C, Regan J, Russo A, Seeley R, Stephens T, Tate P. *Anatomia e Fisiologia de Seeley*. 10th ed. AMGH Editora Ltda.; 2016.
37. Drayer B, Burger P, Darwin R, Riederer S, Herfkens R, Johnson GA. MRI of Brain Iron. *AJR AM J Roentgenol*. 1986;147(1):103–10.
38. Eapen M, Zald DH, Gatenby JC, Ding Z, Gore JC. Using high-resolution MR imaging at 7T to evaluate the anatomy of the midbrain dopaminergic system. *Am J Neuroradiol*. 2011;32(4):688–94.
39. Dzieciol K, Iordanishvili E, Abbas Z, Nahimi A, Winterdahl M, Shah NJ. A robust method for the detection of small changes in relaxation parameters and free water content in the vicinity of the substantia nigra in Parkinson's disease patients. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(2 February):1–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0247552>
40. Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM. The substantia nigra of the human brain: II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. *Brain*. 1999;122(8):1437–48.
41. Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM. The substantia nigra of the human brain: I. Nigrosomes and the nigral matrix, a compartmental organization based on calbindin D(28K) immunohistochemistry. *Brain*. 1999;122(8):1421–36.
42. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, De Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2003;24(2):197–211.
43. Akdemir ÜÖ, Bora Tokçaer A, Atay LÖ. Dopamine transporter SPECT imaging in Parkinson's disease and parkinsonian disorders. *Turkish J Med Sci*. 2021;51(2):400–10.
44. Hida K, Nonokuma M, Kuwabara Y, Tani T, Takano K, Yoshimitsu K. Creation and validation of an I-123 FP-CIT template for statistical image analysis using high-resolution SPECT for parkinsonian patients. *Ann Nucl Med*. 2016;30(7):477–83.
45. Chahine LM, Beach TG, Brumm MC, Adler CH, Coffey CS, Mosovsky S, et al. In vivo distribution of α -synuclein in multiple tissues and biofluids in Parkinson disease. *Neurology*. 2020;95(9):E1267–84.
46. Hanganu A, Provost JS, Monchi O. Neuroimaging studies of striatum in cognition part II: Parkinson's disease. *Front Syst Neurosci*. 2015;9(OCT):1–11.
47. Uhl GR. Dopamine transporter: Basic science and human variation of a key molecule for

- dopaminergic function, locomotion, and parkinsonism. *Mov Disord.* 2003;18(SUPPL. 7).
48. Yandrapalli S, Puckett Y. SPECT imaging [Internet]. StatPearls. 2022 [cited 2023 Jun 10]. p. 1. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564426/>
 49. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. Nuclear Medicine [Internet]. [cited 2023 Jun 10]. Available from: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/nuclear-medicine>
 50. Brucke T, Podreka I, Angelberger P, Wenger S, Topitz A, Kufferle B, et al. Dopamine D2 receptor imaging with SPECT: Studies in different neuropsychiatric disorders. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1991;11(2):220–8.
 51. Kung HF, Pan S, Kung MP, Billings J, Kasliwal R, Reilley J, et al. In vitro and in vivo evaluation of [123I]IBZM: A potential CNS D-2 dopamine receptor imaging agent. *J Nucl Med.* 1989;30(1):88–92.
 52. Darcourt J, Booij J, Tatsch K, Varrone A, Vander Borght T, Kapucu ÖL, et al. EANM procedure guidelines for brain neurotransmission SPECT using 123I-labelled dopamine transporter ligands, version 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2010;37(2):443–50.
 53. Booij J, Speelman JD, Horstink MWIM, Wolters EC. The clinical benefit of imaging striatal dopamine transporters with [123I]FP-CIT SPET in differentiating patients with presynaptic parkinsonism from those with other forms of parkinsonism. *Eur J Nucl Med.* 2001;28(3):266–72.
 54. Nonokuma M, Kuwabara Y, Hida K, Tani T, Takano K, Yoshimitsu K. Optimal ROI setting on the anatomically normalized I-123 FP-CIT images using high-resolution SPECT. *Ann Nucl Med.* 2016;30(9):637–44.
 55. Prashanth R, Member S, Roy SD, Mandal PK, Ghosh S. High Accuracy Classification of Parkinson ' s Disease through Shape Analysis and Surface Fitting in 123 I-Ioflupane SPECT Imaging. 2016;
 56. Morbelli S, Esposito G, Arbizu J, Barthel H, Boellaard R, Bohnen NI, et al. EANM practice guideline/SNMMI procedure standard for dopaminergic imaging in Parkinsonian syndromes 1.0. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2020;47(8):1885–912.
 57. Colloby SJ, O'Brien JT, Fenwick JD, Firbank MJ, Burn DJ, McKeith IG, et al. The application of statistical parametric mapping to 123I-FP-CIT SPECT in dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Neuroimage.* 2004;23(3):956–66.
 58. Grings A, Jobic C, Kuwert T, Ritt P. The magnitude of the partial volume effect in SPECT imaging of the kidneys: a phantom study. *EJNMMI Phys [Internet].* 2022;9(1). Available from:

<https://doi.org/10.1186/s40658-022-00446-2>

59. Badiavas K, Molyvda E, Iakovou I, Tsolaki M, Psarrakos K, Karatzas N. SPECT imaging evaluation in movement disorders: Far beyond visual assessment. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011;38(4):764–73.
60. Morton RJ, Guy MJ, Clauss R, Hinton PJ, Marshall CA, Clarke EA. Comparison of different methods of datscan quantification. *Nucl Med Commun*. 2005;26(12):1139–46.
61. Tossici-Bolt L, Hoffmann SMA, Kemp PM, Mehta RL, Fleming JS. Quantification of [123I]FP-CIT SPECT brain images: An accurate technique for measurement of the specific binding ratio. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;33(12):1491–9.
62. Jensen PS, Ziebell M, Skouboe G, Khalid U, de Nijs R, Thomsen G, et al. Validation of a method for accurate and highly reproducible quantification of brain dopamine transporter SPECT studies. *J Nucl Med Technol*. 2011;39(4):271–8.
63. Fleming JS, Bolt L, Stratford JS, Kemp PM. The specific uptake size index for quantifying radiopharmaceutical uptake. *Phys Med Biol*. 2004;49(14).
64. Booij J, Tissingh G, Boer GJ, Speelman JD, Stoof JC, Janssen AGM, et al. [123I]FP-CIT SPECT shows a pronounced decline of striatal dopamine transporter labelling in early and advanced Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1997;62(2):133–40.
65. Løkkegaard A, Werdelin LM, Friberg L. Clinical impact of diagnostic SPET investigations with a dopamine re-uptake ligand. *Eur J Nucl Med*. 2002;29(12):1623–9.
66. Moon HS, Barbour D. Washington University Open Scholarship Computational Imaging Methods for Analysis of DaTScan SPECT Images. 2020;
67. Zhang J. Mining imaging and clinical data with machine learning approaches for the diagnosis and early detection of Parkinson's disease. *npj Park Dis*. 2022;8(1).
68. Mei J, Desrosiers C, Frasnelli J. Machine Learning for the Diagnosis of Parkinson's Disease: A Review of Literature. *Front Aging Neurosci*. 2021;13(May):1–41.
69. Eshuis SA, Jager PL, Maguire RP, Jonkman S, Dierckx RA, Leenders KL. Direct comparison of FP-CIT SPECT and F-DOPA PET in patients with Parkinson's disease and healthy controls. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2009;36(3):454–62.
70. Hitachi Medical Corporation. MR Imaging System - AIRIS Elite - Technical Guide. Tokyo, Japan; 2005. p. 88.
71. Reimão S, Ferreira S, Nunes RG, Pita Lobo P, Neutel D, Abreu D, et al. Magnetic resonance correlation of iron content with neuromelanin in the substantia nigra of early-stage Parkinson's disease. *Eur J Neurol*. 2016;23(2):368–74.

72. Hoehn MM, Yahr MD. Parkinsonism: onset, progression, and mortality. 1967;17(May).
73. Bhidayasiri R, Tarsy D. Parkinson's Disease: Hoehn and Yahr Scale. In: Movement Disorders: A Video Atlas. In: Current Clinical Neurology. Humana, Totowa, NJ; 2012. p. 4–5.
74. Schwarz ST, Rittman T, Gontu V, Morgan PS, Bajaj N, Auer DP. T1-Weighted MRI shows stage-dependent substantia nigra signal loss in Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2011;26(9):1633–8.
75. Reimão S, Pita Lobo P, Neutel D, Correia Guedes L, Coelho M, Rosa MM, et al. Substantia nigra neuromelanin magnetic resonance imaging in de novo Parkinson's disease patients. *Eur J Neurol.* 2015;22(3):540–6.
76. Ferreira J. Quantificação da Neuromelanina. Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia; 2013.
77. Pitcher TL, Melzer TR, MacAskill MR, Graham CF, Livingston L, Keenan RJ, et al. Reduced striatal volumes in Parkinson's disease: a magnetic resonance imaging study. *Transl Neurodegener.* 2012;1:1–8.
78. Sigirli D, Ozdemir ST, Erer S, Sahin I, Ercan I, Ozpar R, et al. Statistical shape analysis of putamen in early-onset Parkinson's disease. *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2021;209(August):106936. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2021.106936>
79. Barber R, McKeith I, Ballard C, O'Brien J. Volumetric MRI study of the caudate nucleus in patients with dementia with Lewy bodies, Alzheimer's disease, and vascular dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002;72(3):406–7.
80. Cosottini M, Frosini D, Pesaresi I, Donatelli G, Cecchi P, Costagli M, et al. Comparison of 3T and 7T susceptibility-weighted angiography of the substantia nigra in diagnosing Parkinson disease. *Am J Neuroradiol.* 2015;36(3):461–6.
81. Oikawa H, Sasaki M, Tamakawa Y, Ehara S, Tohyama K. The substantia nigra in Parkinson disease: Proton density-weighted spin-echo and fast short inversion time inversion-recovery MR findings. *Am J Neuroradiol.* 2002;23(10):1747–56.
82. Bolding MS, Reid MA, Avsar KB, Roberts RC, Gamlin PD, Gawne TJ, et al. Magnetic transfer contrast accurately localizes substantia nigra confirmed by histology. *Biol Psychiatry.* 2013;73(3):289–94.
83. Schwarz ST, Afzal M, Morgan PS, Bajaj N, Gowland PA, Auer DP. The “swallow tail” appearance of the healthy nigrosome - A new accurate test of Parkinson's disease: A case-control and retrospective cross-sectional MRI study at 3T. *PLoS One.* 2014;9(4).
84. Schwarz ST, Mougin O, Xing Y, Blazejewska A, Bajaj N, Auer DP, et al. Parkinson's disease

- related signal change in the nigrosomes 1–5 and the substantia nigra using T2* weighted 7T MRI. *NeuroImage Clin* [Internet]. 2018;19(September 2017):683–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2018.05.027>
85. Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, Finet J, Fillion-Robin J-C, Pujol S, et al. 3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging*. 30(9):1323–41.
 86. ICBM 152 Nonlinear atlases (2009) [Internet]. Available from: <https://nist.mni.mcgill.ca/icbm-152-nonlinear-atlases-2009/>
 87. Sohara K, Sekine T, Tateno A, Mizumura S, Suda M, Sakayori T, et al. Multi-Atlas MRI-Based Striatum Segmentation for 123I-FP-CIT SPECT (DAT-SPECT) Compared With the Bolt Method and SPECT-Atlas-Based Segmentation Method Toward the Accurate Diagnosis of Parkinson's Disease/Syndrome. *Front Med*. 2021;8(May):1–10.
 88. Saeed U, Compagnone J, Aviv RI, Strafella AP, Black SE, Lang AE, et al. Imaging biomarkers in Parkinson's disease and Parkinsonian syndromes: Current and emerging concepts. *Transl Neurodegener*. 2017;6(1):1–25.
 89. Kaasinen V, Joutsa J, Nojonen T, Johansson J, Seppänen M. Effects of aging and gender on striatal and extrastriatal [123I]FP-CIT binding in Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2015;36(4):1757–63. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.01.016>
 90. Geng DY, Li YX, Zee CS. Magnetic resonance imaging-based volumetric analysis of basal ganglia nuclei and substantia nigra in patients with Parkinson's disease. *Neurosurgery*. 2006;58(2):256–61.
 91. Marek K, Tanner C. The Parkinson's Progression Markers Initiative (PPMI) Clinical - Establishing a Deeply Phenotyped PD Cohort. 2021.