

Universidade do Minho

Escola de Engenharia

Paulo César Gonçalves Marques

**Conetividade Cerebral – ferramenta de
processamento automático combinado de
Ressonância Magnética Funcional e Tensor de
Difusão**

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica

Trabalho efetuado sob a orientação do

Professor Doutor Victor Manuel Rodrigues Alves

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE,

Universidade do Minho, ___/___/_____

Assinatura: _____

Agradecimentos

Apesar de se tratar de um trabalho essencialmente individual, a realização desta dissertação não seria possível sem os contributos de várias pessoas às quais não posso deixar de agradecer.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer ao Professor Doutor Victor Manuel Rodrigues Alves por ter aceite coordenar o meu trabalho. Sem dúvida que a disponibilidade demonstrada, o aconselhamento sábio e o apoio prestado foram cruciais para alcançar as metas propostas com o maior rigor.

Agradeço ao José Miguel Soares por todo o acompanhamento e pelas recomendações sempre pertinentes que tanto contribuíram para que este trabalho seguisse o rumo mais frutuoso. Fica também expressa a minha gratidão ao Miguel Ferreira pela ajuda e companheirismo e ao Instituto de Ciências da Vida e Saúde pelos meios disponibilizados.

À minha família, em especial aos meus pais e irmão, porque sempre fizeram tudo o que estava ao seu alcance para que o meu futuro passasse pela formação académica agora concluída. Sem dúvida que o apoio deles foi um contributo muito importante.

O bom término desta dissertação não seria possível sem o companheirismo e ajuda dos que me são mais próximos. Agradeço por isso a amizade de todos eles, em particular ao João Vieira, ao Hugo Costa, à Isabel Laranjo e ao Tiago Oliveira por todo o tempo, trabalho e lazer que passamos juntos ao longo do último ano.

Para concluir, àquela que é a minha melhor amiga, namorada e, acima de tudo e em qualquer circunstância, parceira. O meu muito obrigado Nely. Apesar de todas as dificuldades que tens passado estiveste sempre do meu lado e apoiaste-me incondicionalmente. Espero conseguir um dia retribuir todo o amor e carinho que me tens dado.

Título

Conetividade cerebral – ferramenta de processamento automático combinado de Ressonância Magnética Funcional e Tensor de Difusão.

Resumo

Os estudos de conetividade cerebral têm-se revelado extremamente importantes no âmbito científico e clínico. Contudo, a realização destes estudos através da conjugação de análises de conetividade funcional via Ressonância Magnética funcional (RMf) e análises de conetividade estrutural via imagem por tensor de difusão (*Diffusion Tensor Imaging* – DTI), não é uma tarefa fácil. A quantidade de procedimentos e conhecimentos técnicos necessários em estudos de RMf e DTI, associados à quase inexistência de procedimentos padrão para o processamento dos dados e à multitude de soluções de software que é necessário utilizar são alguns dos maiores entraves.

Assim, o objetivo principal deste trabalho consistiu em conceber um fluxo de processamento que possa servir de padrão ao processamento e conjugação dos resultados das análises de RMf e DTI. A concretização aplicacional da automatização fluxo concebido foi conseguida através do desenvolvimento de uma aplicação informática.

O fluxo de processamento desenvolvido inclui as etapas mais relevantes para a conjugação dos resultados da análise de componentes independentes aos dados de RMf e da tratografia a partir dos dados de DTI. Os testes realizados indicam que a aplicação desenvolvida constitui uma ferramenta simples e de fácil utilização. Além disso, os resultados das análises de conetividade cerebral demonstraram ser consistentes com estudos anteriores e o tempo despendido pelo utilizador na manipulação dos dados de RMf e DTI foi reduzido significativamente.

Title

Brain Connectivity – enabling automatic combined processing of Functional Magnetic Resonance Imaging and Diffusion Tensor Imaging.

Abstract

Studies of brain connectivity have proved extremely important in the scientific and clinical fields. However, these studies, through the combination of analysis of functional connectivity by functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) and structural connectivity analysis based on Diffusion Tensor Imaging (DTI) are not an easy task. The amount of procedures and technical expertise needed, associated with the virtual absence of standard procedures for processing the data and the multitude of software solutions that need to be used are some of the biggest barriers.

Thus, the goal of this study was to devise a pipeline that could be used as a standard to process the data and combine the results of combined analysis of fMRI and DTI. The practical implementation of the automated processing pipeline was achieved by the development of a computer application.

The conceived processing pipeline includes the most important steps used in the combination of the results from independent component analysis of fMRI data and tractography from DTI data. Tests indicate that the developed application is a simple and easy to use tool. Moreover, the results of brain connectivity analysis proved to be consistent with previous studies and the time spent by the user in data manipulation was significantly reduced.

Índice

AGRADECIMENTOS	III
RESUMO	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE TABELAS	XVII
NOTAÇÃO E TERMINOLOGIA	XIX
CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Enquadramento	3
1.1.1 Conetividade Cerebral	4
1.1.2 Ressonância Magnética funcional	6
1.1.3 Imagem por Tensor de Difusão	8
1.1.4 Problema	9
1.2 Objetivos	11
1.3 Organização do documento	11
CAPÍTULO 2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL	13
2.1 A técnica de RMf	14
2.2 O contraste BOLD	17
2.3 Da RMf em repouso à Conetividade Funcional	18
2.4 Aquisição e pré-processamento	21
2.5 Métodos de análise	23
2.5.1 <i>General Linear Model</i> (GLM)	23
2.5.2 Análises de correlação	25
2.5.3 Análise de Componentes Independentes	26

2.6	Redes neuronais de repouso	27
2.6.1	Default Mode Network – um caso particular	29
2.7	Aplicação clínica	32
CAPÍTULO 3 IMAGEM POR TENSOR DE DIFUSÃO		35
3.1	O processo de difusão e a anisotropia	36
3.2	Como medir a difusão cerebral? – RM de Difusão	37
3.3	Tensor de Difusão	38
3.4	Aquisição e pré-processamento dos dados de DTI	41
3.5	Visualização dos dados de DTI	43
3.5.1	Índices Escalares	43
3.5.2	Glifos	45
3.5.3	Tratografia	46
3.6	Análise Quantitativa	50
3.6.1	Abordagem por ROIs	50
3.6.2	Voxel-Based Morphometry (VBM)	51
3.6.3	Tratografia Quantitativa	52
3.6.4	Tract-Based Spatial Statistics (TBSS)	53
3.7	Aplicações Clínicas	54
CAPÍTULO 4 FLUXO DE PROCESSAMENTO DE RMf E DTI		57
4.1	Análise de Requisitos	58
4.2	Software disponível para processamento de RMf e DTI	59
4.2.1	Aplicações informáticas para RMf	60
4.2.2	Aplicações informáticas para DTI	63
4.3	Análise comparativa	67
4.4	Fluxo de processamento	70
4.4.1	Pré-processamento de RMf	73
4.4.2	Pré-processamento de DTI	79
4.4.3	Processamento de RMf	80
4.4.4	Processamento de DTI	81

4.4.5	Pós-processamento	83
CAPÍTULO 5 BRAINCAT		89
5.1	Análise de requisitos	90
5.2	Base tecnológica	91
5.3	Considerações de utilização	92
5.4	Arquitetura	93
5.5	Interface do utilizador	94
5.6	Principais funcionalidades	96
5.6.1	Criar um estudo	97
5.6.2	Pré-processamento	99
5.6.3	Análise ICA	101
5.6.4	Tratografia	104
5.6.5	Outras funcionalidades	108
5.7	Testes e resultados	110
5.7.1	Teste de utilidade	110
5.7.2	Testes de facilidade de utilização	114
CAPÍTULO 6 CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO		117
6.1	Trabalho futuro	119
REFERÊNCIAS		121
APÊNDICES		135
Apêndice A – Lista de sufixos		135
Apêndice B – Tabela de gradientes personalizada		137
Apêndice C – Mensagens de ajuda à utilização do TrackVis		138

Lista de Figuras

Figura 1.1. Padrão comum de ativação da DMN obtida por RMf.....	7
Figura 1.2. Principais feixes de fibras neuronais presentes no cérebro humano obtidos por tratografia via DTI.....	9
Figura 2.1. Analogia entre os volumes cerebrais adquiridos (A) e as séries temporais de um voxel (B). Adaptado de (Stippich, Blatow, & Delmaire, 2007).....	16
Figura 2.2. Paradigmas experimentais de RMf: paradigmas de blocos (A) e de eventos (B). Adaptado de (G. J. Barker & Amaro, 2006).....	16
Figura 2.3. HRF canónica que se segue à aplicação de um estímulo de curta duração. Adaptado de (Mulert & Lemieux, 2009).	18
Figura 2.4. Primeiro mapa de conectividade funcional onde se evidencia a existência de uma elevada correlação entre as regiões que compõem a rede motora. Adaptado de (B Biswal et al., 1995).	19
Figura 2.5. A série temporal da <i>seed</i> é extraída e comparada com a série temporal de todos os voxéis (A) resultando num mapa de conectividade funcional cujos valores refletem o nível de correlação de um voxel com a <i>seed</i> (B). Adaptado de (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).	20
Figura 2.6. No método de GLM, o paradigma experimental é convulsionado com a HRF originando os sinais BOLD que esperados como resposta. Adaptado de (Lindquist, 2008)....	23
Figura 2.7. Exemplo ilustrativo da análise ICA. As fontes originais de sinal podem ser encontradas a partir de um sinal composto pela mistura dessas três fontes.	26
Figura 2.8. Redes neuronais de repouso mais comuns identificadas por ICA: rede visual primária (A), rede visual extra estriato (B), rede do córtex auditivo (C), rede motora primária (D), <i>default mode network</i> (E), rede frontal (F), rede parietal-frontal direita (G), rede parietal-frontal esquerda (H). Adaptado de (Cole et al., 2010).	28

Figura 2.9. Convergência entre abordagens de identificação da DMN. Mapas da DMN originados através de análises com paradigmas de blocos, paradigmas de eventos e análises de conectividade funcional (A) demonstram um elevado grau de sobreposição (B). Adaptado de (Buckner et al., 2008).....	31
Figura 2.10. Ativações da DMN em diferentes tipos de tarefas: memória autobiográfica (A), planeamento futuro (B), perspectivação do ponto de vista de terceiros (C) e tomada de decisões morais (D). Adaptado de (Buckner et al., 2008).....	32
Figura 3.1. Em meios livres de barreiras aos movimentos moleculares, a difusão da água é geralmente isotrópica (A). A presença de estruturas fibrosas torna esse movimento preferencial na direção das fibras (B). Adaptado de (R. Cohen & Sweet, 2010).....	37
Figura 3.2. A combinação dos vectores próprios e vectores próprios permite a representação da informação do tensor na forma de uma elipsóide.....	40
Figura 3.3. Diferentes relações entre a magnitude de difusividade ao longo dos 3 eixos de referência resultam em elipsóides de aspecto diferente. Adaptado de (Malloy et al., 2007)...	40
Figura 3.4. Mapas do primeiro, segundo e terceiro valores próprios (linha de cima). Mapa de MD, FA e FA colorido segundo orientação (linha de baixo). Adaptado de (P. Mukherjee et al., 2008).....	44
Figura 3.5. Espaço baricêntrico de elipsóides (A) e <i>superquadrics</i> (B). Adaptado de (Vilanova et al., 2006).....	45
Figura 3.6. Exemplo de uma tratografia realizada a partir os dados de DTI de um individuo saudável.....	47
Figura 3.7. Demonstração do método de propagação implementado pelo algoritmo FACT. Adaptado de (P. Mukherjee et al., 2008).....	48
Figura 3.8. Exemplo dos resultados de uma tratografia probabilística.....	49
Figura 3.9. Duas situações em que o cruzamento de fibras pode conduzir a geração de fibras com a orientação errada. Adaptado de (Tournier et al., 2011).....	50
Figura 3.10. <i>Skeleton</i> de FA criado para uma análise TBSS (verde) sobreposto à média de FA (imagens em escala de cinzento) e diferenças significativas entre valores de MD de dois grupos (azul). Adaptado de (R. Cohen & Sweet, 2010).....	54

Figura 4.1. Principais características das aplicações informáticas analisadas.	69
Figura 4.2. Esquema ilustrativo do encadeamento das etapas no fluxo de processamento concebido.	72
Figura 4.3. Efeitos da deslocação e interpolação da série temporal de um vóxel durante a correção dos tempos de aquisição.....	74
Figura 4.4. A aplicação do programa <i>clusters</i> a um mapa da DMN obtido por ICA (A) resulta na separação das diferentes regiões que compõem a DMN por atribuição de diferentes intensidades (B). Regiões como o PCC (C) ou o MPFC podem (D) ser convertidos em ROIs filtrando o mapa de <i>clusters</i> por intensidades.	84
Figura 4.5. Etapas do processo de seleção de feixes de fibras por ROIs.	86
Figura 5.1. Aspecto geral da interface desenvolvida.	95
Figura 5.2. Divisão lógica da interface do BrainCAT.	95
Figura 5.3. Ícone do BrainCAT.....	96
Figura 5.4. Organização da diretoria de trabalho necessária para a criação de um estudo de conectividade cerebral através do BrainCAT.	98
Figura 5.5. Aspecto geral do separador “Pré-processamento” quando se pretende aplicar o fluxo de processamento padrão.	100
Figura 5.6. Aspecto geral do separador “Análise ICA” durante uma análise de grupo.	102
Figura 5.7. Correspondência entre a listagem dos casos na aplicação (imagem à esquerda) e a listagem dos ficheiros com as componentes no FSLView (imagem à direita), para as análises individuais.....	103
Figura 5.8. Aspecto do separador “Tratografia”.	105
Figura 5.9. Painel de ajuda à utilização do TrackVis.	107
Figura 5.10. Mensagem de aviso mostrada quando se tenta iniciar o pré-processamento das imagens sem que os casos tenham sido validados.	109
Figura 5.11. Indicador de progresso mostrado durante as etapas de processamento.....	109
Figura 5.12. Mapa de ativação da componente da DMN onde se observa um elevado nível de conectividade funcional entre o MPFC, PCC e IPL.....	113

Figura 5.13. Fibras resultantes da combinação dos feixes selecionados para todos os casos do estudo.	113
Figura B.1. Aspecto de uma tabela de gradientes capaz de ser importada pela aplicação. ..	137
Figura C.1. Mensagens apresentadas ao utilizador através do painel de ajuda à utilização do TrackVis (A-I).....	139

Lista de Tabelas

Tabela 3.I. Parâmetros de aquisição típicos para equipamentos de 1,5 e 3 Tesla. Adaptado de (P Mukherjee et al., 2008). _____	42
Tabela 5.I. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas para os casos do estudo. _____	111
Tabela 5.II. Valores de intensidade, valor máximo de z e respectivas coordenadas MNI obtidos para o MPFC, PCC, IPL esquerdo e IPL direito. _____	112
Tabela A.I. Prefixos utilizados nas etapas de pré-processamento. _____	135
Tabela A.II. Prefixos utilizados nas etapas de processamento de RMf _____	136
Tabela A.III. Prefixos utilizados nas etapas de processamento de DTI. _____	136

Notação e terminologia

Notação Geral

A notação ao longo do documento segue a seguinte convenção:

- **Texto em itálico** – para palavras em língua estrangeira (e.g., Inglês). Também utilizado para dar ênfase a um determinado termo ou expressão.
- **Texto em negrito** – utilizado para realçar um conceito ou palavra.

A presente dissertação foi elaborada ao abrigo do novo acordo ortográfico.

Acrónimos

ADC	<i>Apparent Diffusion Coefficient</i>
AFNI	<i>Analysis of Functional NeuroImages</i>
ALFF	<i>Amplitude of Low-Frequency Fluctuation</i>
BOLD	<i>Blood Oxygenation Level-Dependent</i>
CSF	<i>Cerebrospinal Fluid</i>
DMN	<i>Default Mode Network</i>
DPARSF	<i>Data Processing Assistant for Resting-State fMRI</i>
DTI	<i>Diffusion Tensor Imaging</i>
DWI	<i>Diffusion Weighted Imaging</i>
EEG	Electro-encefalografia
EPI	<i>Echo-Planar Imaging</i>
FA	<i>Fractional Anisotropy</i>
FACT	<i>Fiber Assignment by Continuous Tracking</i>
FALFF	<i>fractional ALFF</i>
FCMAP	<i>Functional Connectivity Map</i>
FDT	<i>FMRI Diffusion Toolbox</i>
FEAT	<i>FMRI Expert Analysis Tool</i>
FSL	<i>FMRI Software Library</i>
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i>

GIFT	<i>Group ICA of fMRI Toolbox</i>
GLM	<i>General Linear Model</i>
HRF	<i>Hemodynamic Response Function</i>
IA	Inteligência Artificial
ICA	<i>Independent Component Analysis</i>
IM	Informática Médica
IPL	<i>Inferior Parietal Lobes</i>
MD	<i>Mean Diffusivity</i>
MEG	Magneto-encefalografia
MELODIC	<i>Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MPFC	<i>Medial PreFrontal Cortex</i>
MVC	<i>Model-View-Controller</i>
NIH	<i>National Institute of Health</i>
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>
PCC	<i>Posterior Cingulate Cortex</i>
PCE	Processo Clínico electrónico
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>
PICA	<i>Probabilistic Independent Component Analysis</i>
REHO	<i>Regional Homogeneity</i>
REST	<i>Resting-State fMRI data analysis Toolkit</i>
RM	Ressonância Magnética
RMf	Ressonância Magnética funcional
ROI	<i>Region Of Interest</i>
Rsn	<i>Resting-State Network</i>
Rsp	Retrosplenial
SADC	Sistemas de Apoio à Decisão Clínica
SCA	<i>Seed-based Correlation Analysis</i>
SNR	<i>Signal-to-Noise Ratio</i>
SPM	<i>Statistical Parametric Mapping</i>

TC	Tomografia Computadorizada
TBSS	<i>Tract Based Spatial Statistics</i>
TE	Tempo de Eco
TI	Tecnologias da Informação
TOI	<i>Tract Of Interest</i>
TR	Tempo de Repetição
VBM	<i>Voxel-Based Morphometry</i>

Capítulo 1

Introdução

Ideias chave:

- Em neuroimagem, as análises de conectividade cerebral assumem um destaque crescente.
- A combinação das análises de Ressonância Magnética funcional (RMf) e imagem por Tensor de Difusão (DTI) permitem associar as métricas de conectividade funcional e estrutural para o cérebro humano.
- O processamento das imagens para análises conjuntas carece de padronização, envolve a manipulação de várias ferramentas informáticas, necessita de conhecimentos muito técnicos e a definição de parâmetros é contra-producente.
- O principal objetivo deste trabalho consiste em definir um fluxo de processamento padronizado para análises combinadas de RMf e DTI e criar uma aplicação informática para o automatizar.

O crescente desenvolvimento das Tecnologias da Informação (TI), aliado aos desafios que se colocam atualmente à prestação de cuidados de saúde levou ao surgimento de uma nova disciplina – a Informática Médica (IM).

As primeiras aplicações das TI na área da saúde remontam à segunda metade do século XX, nomeadamente à década de 50. No entanto, a designação Informática Médica foi introduzida pela primeira vez nos anos 60 quando alguns investigadores franceses começaram a utilizar frequentemente a expressão francesa “*informatique médicale*”. Desde então, esta disciplina sofreu uma rápida expansão e existem atualmente várias frentes que compreendem as problemáticas do Processo Clínico Electrónico (PCE), dos Sistemas de Apoio à Decisão Clínica (SADC), da Inteligência Artificial (IA) e da Imagem Médica.

Devido à interdisciplinaridade característica da IM, a sua própria definição não é consensual. Contudo, uma das definições mais aceites foi proposta por Shortliffe (Shortliffe, 1984) que a designa como “o campo científico que lida com os recursos, dispositivos e métodos formalizados para otimizar o armazenamento, recuperação e gestão de informação biomédica

para a resolução de problemas e tomada de decisões”. Assim, o seu principal objetivo consiste em melhorar a qualidade e eficiência dos cuidados de saúde através do recurso às técnicas de TI.

No que diz respeito ao panorama português, a IM encontra-se ainda num estado primário de desenvolvimento (Vasconcelos, Rocha, & Gomes, 2004). Existem, por exemplo, alguns Sistemas de Informação implementados que, no entanto, são algo rudimentares e não possuem algumas das valências pretendidas. Apesar disso, a utilização das TI nas unidades de saúde portuguesas é uma prática cada vez mais comum.

Tal como já foi referido, a área da Imagem Médica ou Imagiologia, é uma das principais frentes da IM. A Imagiologia compreende um conjunto de técnicas e metodologias que permitem obter representações visuais de partes do corpo humano, órgãos ou tecidos. A subdivisão da imagiologia responsável pela aplicação de técnicas imagiológicas no estudo da função e estrutura cerebral designa-se por Neuroimagiologia. Para tal, são empregues várias modalidades imagiológicas, e.g. Tomografia Computadorizada (TC), Ressonância Magnética (RM), Tomografia por Emissão de Positrões (*Positron Emission Tomography* - PET) (R. W. Richter & B. Z. Richter, 2004).

O cérebro humano pode ser entendido como uma rede que apresenta a peculiaridade de ser altamente precisa e ao mesmo tempo complexa (Hasan, Walimuni, Abid, & Hahn, 2010a). Esta rede é composta por um vasto conjunto de regiões diferentes, cada uma com a sua função, mas que partilham informação continuamente. Na última década, um rico historial de estudos estruturais e funcionais forneceram uma grande quantidade de conhecimento relativamente ao cérebro humano (D. P. Kennedy & Courchesne, 2008; Fox et al., 2005; Fox & Marcus E. Raichle, 2007; Greicius, Supekar, Menon, & Dougherty, 2009; Malloy, Correia, Stebbins, & David H Laidlaw, 2007; Buckner et al., 2005; P J Basser, Pajevic, Pierpaoli, Duda, & Aldroubi, 2000; Lui et al., 2008; S M Smith et al., 2006). Os avanços consequentes destes estudos incidem principalmente na forma como as diferentes regiões cerebrais se correlacionam e interligam, isto é, a conectividade cerebral.

No estudo da conectividade cerebral, destacam-se duas técnicas imagiológicas complementares: a ressonância magnética funcional (RMf) e a técnica de imagem por tensor de difusão (*Diffusion Tensor Imaging* – DTI) (B Biswal, Yetkin, V M Haughton, & Hyde, 1995; Mark Lowe, Dziedzic, Lurito, Mathews, & Phillips, 2000; Rose et al., 2000; D K Jones,

Simmons, Williams, & Horsfield, 1999). A primeira permite mapear a conectividade funcional entre regiões cerebrais anatomicamente separadas mas que apresentam ativações correlacionadas. A segunda possibilita a verificação da conectividade estrutural do cérebro, nomeadamente da microestrutura da substância branca. Alguns anos após o surgimento da técnica de RMf, esta foi adaptada para permitir verificar correlações temporais entre diferentes regiões cerebrais quando o cérebro se encontra em estado de repouso, surgindo assim uma nova modalidade – a RMf em estado de repouso (B B Biswal, Van Kylen, & Hyde, 1997).

Apesar da relevância destes estudos, as análises de conectividade cerebral revelam-se complexas e morosas, dificultando o trabalho da generalidade dos profissionais de saúde. Os conhecimentos específicos necessários, nomeadamente a nível técnico, representam um dos maiores associados à entaves à disseminação deste tipo de análise

A presente dissertação surge neste contexto de interação entre as tecnologias da saúde e as ciências da saúde. Tendo em conta os problemas acima referidos, pretende-se criar uma técnica que permita o processamento e análise conjunta dos dados de RMf de repouso e de DTI por forma a correlacionar a conectividade funcional e estrutural das redes neuronais de repouso.

1.1 Enquadramento

O principal objeto de estudo da neuroimagem é o cérebro humano enquanto parte do sistema nervoso. Uma das principais características deste sistema biológico é a sua complexidade, principalmente no que concerne às interligações entre os elementos neuronais que o compõem. Como tal, desde cedo vários cientistas procuraram encontrar padrões de conectividade neuronal na ânsia de obterem uma melhor percepção do funcionamento e organização cerebrais. É desta ambição que nasce o campo da conectividade cerebral.

A conectividade cerebral é uma das áreas de investigação em neuroimagem que tem sofrido maior expansão na última década. Com efeito, em Outubro de 2010 foi anunciado o lançamento do primeiro jornal científico exclusivamente direcionado para os aspectos da conectividade cerebral (Mary Ann Liebert, Inc, 2010). O título “*Brain Connectivity*” reflete de forma explícita este facto. Segundo o fundador do jornal, “o campo da investigação em

conetividade cerebral encontra-se em rápida expansão e o lançamento desta nova publicação vem preencher uma grande necessidade”.

Simultaneamente uma outra iniciativa ambiciosa encontra-se a ser lançada – o Human Connectome Project (Battary, 2010). Este projeto, massivamente financiado pelo National Institute of Health, tem o objetivo ousado de construir um mapa completo das ligações neuronais funcionais e estruturais *in vivo*.

Esta é, portanto, uma área científica recente mas que tem despertado o interesse da comunidade científica em geral. Neste trabalho pretende-se abordar duas das grandes dimensões da conectividade cerebral: a conectividade funcional e a conectividade estrutural. Esta abordagem será especialmente focada na chamada *Default Mode Network* (DMN), uma rede neuronal detectável em estado de repouso, que se encontra envolvida em processos da cognição humana importantes e que tem demonstrado refletir disfuncionalidades cognitivas em patologias neurológicas/psiquiátricas (Buckner, Andrews-Hanna, & Schacter, 2008).

1.1.1 Conetividade Cerebral

Nos últimos anos têm-se observado alterações significativas na forma como as questões científicas são colocadas. A ciência atual encontra-se cada vez mais preocupada com a estrutura, comportamento e evolução de sistemas complexos como as células, o cérebro, os ecossistemas, as sociedades ou a economia global. Para que estes sistemas possam ser compreendidos é necessário ir além dos seus componentes elementares. É preciso perceber de que forma estes componentes interagem e conhecer as propriedades destas interações. O advento das TI veio facilitar o registo, análise e modelação de sistemas constituídos por milhares de elementos interagentes. Todos estes sistemas complexos exibem padrões característicos diversos e organizados que resultam da interação estruturada e seletiva entre os seus elementos. Estas interações refletem uma rede intrínseca de conectividade.

O cérebro humano é também um destes sistemas complexos e, talvez, um dos mais intrigantes. Pode, por isso, ser entendido como uma rede de elementos que interagem, exibindo padrões complexos. As ações coletivas das células nervosas encontram-se ligadas por uma rede de conectividade intrínseca que conduzem o comportamento, moldam os

pensamentos, formam e recuperam memórias e criam a consciência. É esta conectividade cerebral que recentemente tem despertado o interesse de vários neurocientistas e as posteriores descobertas têm influenciado a prática clínica (Sundgren et al., 2004; Paul M. Matthews, Honey, & Bullmore, 2006; Kleiser, Staempfli, Valavanis, Boesiger, & Kollias, 2009).

Tal como existem várias formas de se observar o cérebro humano, também surgiram várias formas de descrever e quantificar a conectividade cerebral. De uma forma geral, entende-se por conectividade cerebral o conjunto de padrões de ligação entre as diferentes unidades neuronais que compõem o cérebro humano. No entanto, é comum fazer-se uma distinção clara entre conectividade funcional e conectividade estrutural (Sporns, 2010).

A conectividade funcional designa as interações dinâmicas, verificadas por desvios do princípio da independência estatística, entre unidades neuronais espacialmente separadas (K J Friston, C D Frith, Liddle, & R S Frackowiak, 1993). Este tipo de conectividade baseia-se nos dados das séries temporais obtidos através de técnicas como PET, electro-encefalografia (EEG), magneto-encefalografia (MEG) e RMf. É altamente dependente da escala temporal, podendo variar na ordem das centenas de milissegundo. Além disso, por se basear em relações estatísticas, não traduz especificamente um modelo estrutural ou efeitos causais.

Por outro lado, a conectividade estrutural refere-se às ligações físicas/estruturais (anatômicas), estabelecidas por ligações sinápticas, entre elementos neuronais (Sporns, Tononi, & Kötter, 2005). Estas ligações podem representar desde circuitos locais de células individuais a redes de grande escala. Estes padrões físicos são relativamente estáticos, podendo ser dinâmicos a escalas temporais na ordem das horas ou dias.

Os dois tipos de conectividade previamente descritos encontram-se relacionados e a forma como se moldam e limitam mutuamente tem-se tornado a questão chave de vários estudos. Curiosamente, no estudo da conectividade cerebral destacam-se duas técnicas imagiológicas de ressonância magnética complementares: a RMf que possibilita o estudo da conectividade funcional cerebral e o DTI que permite verificar a referida a conectividade estrutural.

1.1.2 Ressonância Magnética funcional

A neuroimagem funcional tem conhecido um crescimento quase exponencial nos últimos anos (Bandettini, 2007). Atualmente existe um número de modalidades de imagem diferentes que permitem aos investigadores estudar as alterações fisiológicas que acompanham a ativação cerebral, desde o EEG e a MEG à RMf e à PET. As duas últimas destacam-se pela boa resolução espacial comparativamente às primeiras, embora a sua resolução temporal seja ditada pela hemodinâmica cerebral.

Apesar de possuir uma baixa resolução temporal, a Ressonância Magnética funcional destaca-se das demais por se tratar de uma modalidade não invasiva que faz uso da medição da resposta hemodinâmica cerebral para obter um mapeamento da atividade/função cerebral (Newton & Jolesz, 2008). Esta medição baseia-se no efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*), assim designado por permitir verificar o nível de oxigenação do sangue. Assim, regiões cerebrais com atividade neuronal aumentada poderão ser identificadas devido ao aumento da irrigação com sangue oxigenado (Ogawa, T M Lee, Kay, & Tank, 1990). Este tipo de mapeamento, além de ser utilizado para diagnóstico, pode ser utilizado para planeamento cirúrgico e radioterapêutico de tumores (Faro, Mohamed, Law, & Ulmer, 2011; Huettel, Song, & McCarthy, 2009; Sabsevitz et al., 2003). Outro tipo de aplicações incluem a avaliação das funções motoras ou da fluência verbal em pacientes com vários tipos de patologias (Reis, S. Pereira, Mascarenhas, Vaz, & J. R. Pereira, 2003) ou ainda o estudo da forma como as diferentes regiões cerebrais sensíveis ao movimento se articulam na percepção dos movimentos globais (Castelo-Branco et al., 2002).

Num estudo funcional típico, procuram-se identificar regiões cerebrais ativadas em função da aplicação de um estímulo ou da execução de uma tarefa devidamente planeada. Contudo, é também possível utilizar a técnica de RMf para estudar a conectividade funcional cerebral. Neste caso, o objetivo não é apenas a localização das ativações mas também a examinação dos padrões de comunicação funcional entre as regiões ativadas anatomicamente separadas. Para tal, a evolução temporal da resposta hemodinâmica de regiões cerebrais distintas é comparada com intuito de verificar correlações que possam traduzir uma dependência funcional entre essas regiões.

Passados vários anos após a invenção da RMf, começou-se a estudar a possibilidade de medir a conectividade funcional entre regiões cerebrais através do nível de co-ativação espontânea das séries temporais de RM, registadas em repouso. Assim surgiu a modalidade de ressonância magnética funcional em estado de repouso. Durante estas experiências em estado de repouso, os voluntários eram instruídos a relaxar e a não pensar em nada em particular, enquanto o seu nível de atividade cerebral espontânea era medido ao longo da experiência. Biswal e colegas foram os primeiros a demonstrar que, em repouso, as regiões do hemisfério esquerdo e direito da rede motora primária não se encontravam “em silêncio”. Pelo contrário, demonstravam uma elevada correlação entre as séries temporais BOLD, sugerindo a existência de conectividade funcional entre estas regiões. Este e outros estudos permitem vincar que, em repouso, a rede cerebral não se encontra inativa, pelo contrário, demonstra uma vasta quantidade de atividade espontânea altamente correlacionada entre múltiplas regiões cerebrais (B B Biswal et al., 1997; Damoiseaux et al., 2006; Fox & Marcus E. Raichle, 2007; Greicius, Srivastava, A. L. Reiss, & Menon, 2004; Mark Lowe et al., 2000).

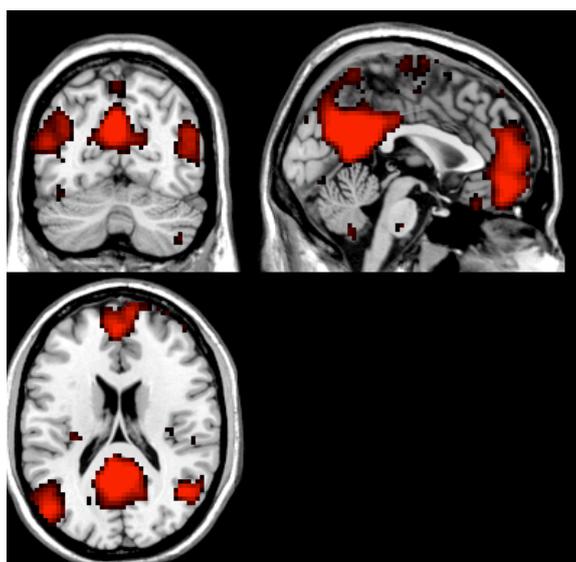


Figura 1.1. Padrão comum de ativação da DMN obtida por RMf.

Das redes neuronais que podem ser identificadas via RMf em estado de repouso, destaca-se uma em particular – a chamada *Default Mode Network* (DMN) cujas ativações características se apresentam na Figura 1.1. Este destaque deve-se a uma particularidade característica da DMN: os níveis de atividade funcional em estado de repouso superam normalmente os níveis verificados na execução de tarefas cognitivas exigentes (Mazoyer et al., 2001; Shulman, Fiez,

et al., 1997). Esta peculiaridade tem despertado o interesse de vários investigadores, multiplicando-se o número de estudos que se referem à DMN (Greicius & Menon, 2004; Shannon, 2006; Y. Zhou et al., 2007). A atividade e conectividade da DMN têm sido associadas a processos neurológicos nucleares da cognição humana.

1.1.3 Imagem por Tensor de Difusão

Com os avanços nas técnicas de Ressonância Magnética de difusão, particularmente com a introdução da tratografia a partir da modalidade de imagem por Tensor de Difusão (*Difusion Tensor Imaging* – DTI), novas descobertas foram feitas no que diz respeito às ligações estruturais que compõe o cérebro humano.

A técnica de imagem por tensor de difusão é uma modalidade de imagem médica capaz de fornecer informação direcional de estruturas fibrosas como a substância branca cerebral ou músculos *in vivo* (P J Basser et al., 2000; Le Bihan et al., 2001). Trata-se, portanto, do único método não invasivo para observação de difusão *in vivo*. Esta técnica, inicialmente designada de Ressonância Magnética de difusão, baseia-se na medição da anisotropia característica do processo de difusão da água. Verifica-se que, em estruturas fibrosas, o processo de difusão das moléculas de água é mais rápido na direção paralela às fibras devido à existência de menos barreiras físicas. A introdução do tensor de difusão permitiu um maior desenvolvimento da técnica uma vez que este formalismo confere à análise um maior rigor (P. J. Basser, Mattiello, Turner, & Le Bihan, 1993). Através da técnica de imagem por tensor de difusão os efeitos da anisotropia da difusão puderam ser completamente extraídos, caracterizados e explorados, proporcionando um detalhe ainda maior da microestrutura do tecido cerebral.

Rapidamente foi percebido que esta característica poderia ser explorada para mapear a orientação espacial das fibras de substância branca no cérebro, utilizando uma escala de cores. A aplicação mais avançada é a da tratografia (Figura 1.2) por DTI que permite efetuar um mapeamento tridimensional dos principais feixes de fibras nervosas (P Mukherjee, S W Chung, J I Berman, C P Hess, & R G Henry, 2008; Vilanova, S Zhang, G Kindlmann, & D Laidlaw, 2006; Correia et al., 2008; A. Kunitatsu et al., 2007).

Atualmente, muitos hospitais, universidades e centros de investigação possuem equipamentos de RM, e, conseqüentemente, têm a capacidade para efetuar aquisições de imagens de difusão, permitindo a disseminação das aplicações de DTI. Esta técnica tem sido utilizada para demonstrar alterações subtis numa variedade de doenças (incluindo derrames, esclerose múltipla, dislexia e esquizofrenia) e presentemente começa a fazer parte da rotina de muitos protocolos clínicos (Sundgren et al., 2004; Le Bihan et al., 2001; Coenen et al., 2001; A. Kunimatsu et al., 2007).

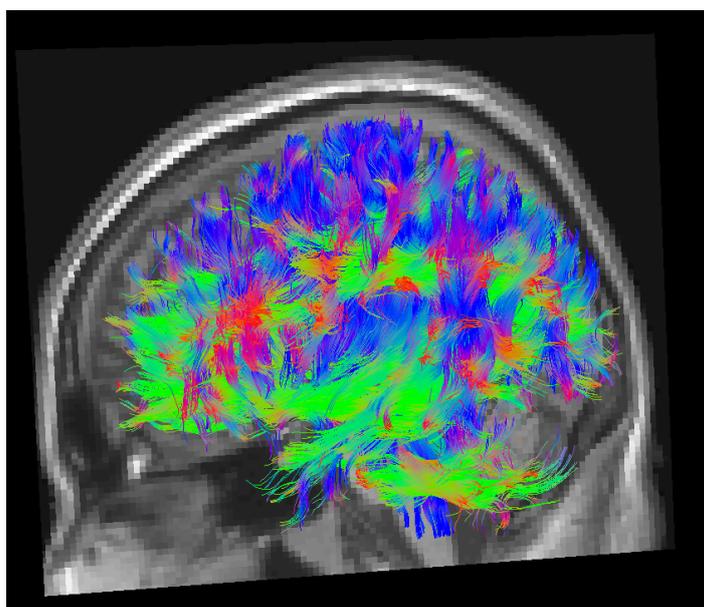


Figura 1.2. Principais feixes de fibras neuronais presentes no cérebro humano obtidos por tractografia via DTI.

1.1.4 Problema

Apesar da relevância dos estudos conjuntos de conectividade funcional e estrutural, a sua utilização por parte de profissionais de saúde é condicionada por um conjunto de fatores intimamente relacionados com o processamento dos dados das aquisições de RMf e DTI.

Quer nas análises de RMf, quer em análises de DTI, é comum as imagens serem processadas de forma sequencial, isto é, são estabelecidos fluxos de processamento (Rex, Ma, & Toga, 2003). Contudo, não existem ainda fluxos de processamento concretamente estabelecidos para o processamento e análise conjunta das imagens de RMf e DTI, não existindo também

padrões de processamento. Apesar de existirem alguns fluxos de trabalho implementados em software para o processamento individual de cada modalidade, em muitos dos casos a informação é escassa e existe uma falta de padronização de procedimentos (Rex, Ma, & Toga, 2003). A análise conjunta envolve sempre a utilização de software de diferentes fornecedores, muitas vezes com problemas de interoperabilidade devido à adoção de formatos de imagem diferentes. A estas dificuldades acresce o número de procedimentos muito técnicos que, na ausência de conhecimentos muito específicos e devido à falta de consenso sobre quais as melhores opções, só dificultam o trabalho de quem realiza a análise e introduz variabilidade nos resultados obtidos por diferentes utilizadores (Soares & Alves, 2009).

Devido à ausência de fluxos de processamento implementados em software, é comum ser o utilizador a definir manualmente os inputs e os parâmetros de cada etapa de processamento, repetindo o procedimento para cada caso do mesmo estudo (Tseytlin et al., 2003). Esta situação, além de ser contra-produtiva devido ao tempo gasto desnecessariamente, aumenta consideravelmente a probabilidade de se cometerem erros inadvertidos na implementação das etapas. Esses erros podem comprometer os resultados obtidos e são muitas vezes difíceis de detectar por inspeção visual.

Um outro problema prende-se com a variedade de software utilizado (Yan & Zang, 2010). Antes de poder utilizar cada aplicação, o utilizador tem que aprender a utilizá-la da melhor forma. Além disso, a maioria ou não possui uma interface gráfica ou a interface disponibilizada é pouco intuitiva, rudimentar e não permite aceder a todas as funcionalidades necessárias.

Os problemas referidos podem vir a ser, em parte, ultrapassados com a padronização e automatização do processamento dos dados e dos parâmetros utilizados nesse processamento. Isto facilitaria também a comparação de resultados entre diferentes estudos uma vez que, atualmente, cada estudo utiliza parametrizações diferentes que, só por si, podem justificar as diferenças entre os resultados.

1.2 Objetivos

Tendo em conta os problemas acima referidos, pretende-se com este projeto criar um fluxo de processamento automatizado que torne possível a conjugação dos resultados das análises de RMf de repouso e de DTI permitindo correlacionar a conectividade funcional e estrutural da referida DMN.

Para que estes objetivos sejam cumpridos propõe-se a definição do fluxo de processamento etapa-a-etapa que confira ao utilizador uma forma simples, estruturada e padronizada de processar os dados de RMf e de DTI com vista à conjugação dos resultados obtidos. Na implementação deste fluxo deverão ser utilizados os procedimentos que apresentem maior consistência em estudos de conectividade cerebral. Além disso, deverá ser direcionado para a realização de estudos individuais e de grupo. No final pretende-se disponibilizar uma aplicação que permita implementar de forma automatizada o fluxo de processamento. Esta aplicação permitirá ao utilizador diminuir o tempo gasto na definição dos dados (i.e. aquisições de RMf e DTI) e dos parâmetros necessários ao processamento, diminuindo assim o tempo despendido pelo utilizador no processamento das imagens e o conhecimento necessário para tratar esta informação.

1.3 Organização do documento

O presente trabalho compreenderá, para além deste capítulo introdutório, mais seis capítulos distintos estruturados da seguinte forma:

- **Capítulo 2** – Ressonância Magnética funcional

Neste capítulo é abordada a temática que envolve a modalidade imagiológica de Ressonância Magnética funcional, com particular destaque para as análises de conectividade funcional. São descritos os princípios básicos da modalidade, as análises que podem ser efetuadas e são descritas as redes neuronais de repouso mais comuns.

- **Capítulo 3** – Imagem por Tensor de Difusão

À semelhança do capítulo anterior, este visa expor a temática que envolve a modalidade de imagem por Tensor de Difusão. Assim sendo, são apresentados os princípios físicos subjacentes à modalidade, os métodos de aquisição e processamento das imagens, bem como a forma como os dados podem ser explorados.

- **Capítulo 4** – Fluxo de processamento para RMF e DTI

Neste capítulo, são apresentadas e avaliadas as ferramentas de software mais utilizadas nas análises de conectividade funcional e estrutural via RMf e DTI, respectivamente. É proposto um fluxo de processamento para análise conjunta de RMf e DTI, sendo pormenorizadamente descritas as etapas que compõem esse fluxo. Tendo em conta a avaliação das ferramentas de software, é indicada a ferramenta mais adequada para implementar cada etapa.

- **Capítulo 5** – BrainCAT

No quinto capítulo é apresentada e descrita a aplicação desenvolvida que permite a integração e geração automática de parâmetros para o fluxo de processamento. É apresentada a sua arquitetura, as principais funcionalidades implementadas e os resultados obtidos.

- **Capítulo 6** – Conclusões e trabalho futuro

No último capítulo realiza-se uma exposição sumária do trabalho realizado, enunciando as principais conclusões e propostos desenvolvimentos futuros.

Capítulo 2

Ressonância Magnética funcional

Ideias chave:

- A RMf permite obter um mapeamento da atividade neuronal por medições indiretas da resposta hemodinâmica cerebral.
- O cérebro humano apresenta níveis de atividade consideráveis, mesmo em estados de repouso.
- A conectividade funcional reflete-se na associação temporal ou dependência estatística entre diferentes regiões cerebrais.
- No processamento das imagens de RMf devem ser empregues várias etapas de pré-processamento para melhorar a sua qualidade.
- As análises de correlação e análises de componentes independentes são as duas metodologias mais utilizadas no estudo da conectividade funcional.
- Várias redes neuronais podem ser identificadas em repouso, sendo que a *Default Mode Network* tem-se revelado particularmente afetada por vários tipos de patologias.

O cérebro destaca-se dos demais órgãos do corpo humano por ser considerado um dos mais fascinantes e, simultaneamente, intrigante. A ânsia de melhor perceber a forma como as diferentes regiões cerebrais se articulam e as principais funções associadas a cada região são algumas das principais fontes desse fascínio. Contudo, o surgimento de uma nova modalidade de RM – a Ressonância Magnética funcional (RMf) – permitiu perceber melhor alguns desses processos.

A RMf possui como principais trunfos o facto de ser uma modalidade imagiológica, não invasiva, que permite verificar as principais funções cerebrais sem necessidade de recorrer a radiação ionizante. Em 1990, Ogawa e colaboradores perceberam que a atividade neuronal se encontrava intimamente relacionada com as alterações hemodinâmicas nas regiões cerebrais ativas e que essas alterações poderiam ser medidas através do sinal de RM (Ogawa et al., 1990). Esta descoberta deu origem à técnica de RMf como é hoje conhecida.

Esta modalidade, em conjunto com outras também recentes, são responsáveis por uma crescente interesse na realização de estudos funcionais. Tal é evidente no crescimento quase

exponencial do número de publicações nesta área ao longo dos últimos anos(Ogawa et al., 1990).

Com a disseminação dos estudos funcionais, alguns investigadores começaram a focar-se no estudo das redes neuronais que demonstravam níveis de co-ativação espontânea entre as regiões que as compõem, em condições de repouso (B Biswal et al., 1995; Fox et al., 2005; Damoiseaux et al., 2006; Greicius, Krasnow, A. L. Reiss, & Menon, 2003; M J Lowe, Mock, & Sorenson, 1998). Estes estudos levaram ao surgimento de uma nova variante de RMf – a RMf em repouso – e a uma nova forma de estudar o cérebro – as análises de conectividade funcional.

2.1 A técnica de RMf

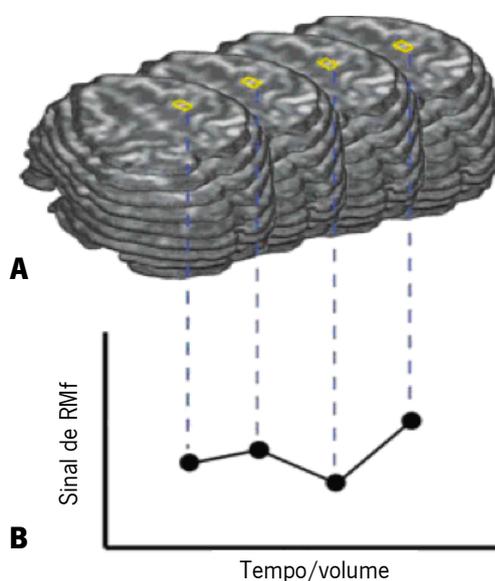
A neuroimagem funcional tem conhecido um grande crescimento nos ao longo da última década. Atualmente existem diversas técnicas que permitem aos investigadores estudar as alterações fisiológicas que acompanham a ativação cerebral, desde a Electroencefalografia (EEG) e a Magnetoencefalografia (MEG) à Ressonância Magnética funcional e à Tomografia por Emissão de Positrões (*Positron Emission Tomography* - PET).

A Ressonância Magnética funcional destaca-se por se tratar de uma modalidade não invasiva que faz uso da medição da resposta hemodinâmica cerebral para obter um mapeamento da atividade/função cerebral (Newton & Jolesz, 2007). Esta modalidade surgiu como resultado dos trabalhos de Ogawa e seus colaboradores que detectaram uma dependência entre o sinal de RM e o nível de oxigenação sanguínea colaboradores (Newton & Jolesz, 2007). Posteriormente propuseram que a monitorização das alterações no nível de perfusão sanguínea cerebral, que acompanham a ativação neuronal, poderiam ser utilizadas para o mapeamento funcional do cérebro.

Apesar de se tratar de uma técnica de RM, a realização de um exame de RMf difere nalguns aspectos de uma aquisição de RM estrutural típica. O exame inicia-se com a colocação do paciente/voluntário no equipamento de RM. De seguida, são adquiridas várias sequências de imagens simultaneamente à realização, por parte do paciente/voluntário, de tarefas programadas (também designadas de estímulos). Estas tarefas podem ser de vários tipos, e.g.

visualização de imagens/filmes, reconhecimento de odores, memorização e imaginação (Ogawa et al., 1990). Tipicamente, estes períodos de apresentação de estímulos, são intervalados com fases de repouso. Consoante o tipo de paradigma experimental, podem ainda ser feitas aquisições apenas em repouso. Terminado o procedimento de aquisição, as imagens são tratadas e processadas com o objetivo de identificar áreas cerebrais ativadas em consequência dos estímulos apresentados. Finalmente, a partir da análise estatística dos resultados, podem-se efetuar inferências acerca das ativações cerebrais relacionando-as com os estímulos.

Durante a aquisição, são obtidas várias imagens de baixa resolução da área de interesse em rápida sucessão, com um volume tridimensional do cérebro do paciente/voluntário a ser adquirido normalmente na ordem dos dois/três segundos. A necessidade de tempos de aquisição reduzidos faz com que as sequências EPI (*Echo Planar Imaging*) sejam as mais utilizadas neste tipo de exames (Faro et al., 2011). Vários volumes são obtidos consecutivamente durante a realização do exame (Figura 2.1.A). Com essas imagens constrói-se uma série temporal de intensidade para cada vóxel¹ que podem então ser comparadas (Figura 2.1.B). Esta série temporal pode ser utilizada para a avaliação experimental da resposta a um estímulo aplicado.



¹ Nas imagens de RM, um *pixel* corresponde à contribuição de um volume de tecido. Como tal, é comum utilizar-se a designação de vóxel com forma de traduzir esse elemento volumétrico.

Figura 2.1. Analogia entre os volumes cerebrais adquiridos (A) e as séries temporais de um vóxel (B). Adaptado de (Stippich, Blatow, & Delmaire, 2007).

A forma como os estímulos são planejados e apresentados designa-se por paradigma, sendo classificado num de dois tipos: paradigma de blocos ou paradigma de eventos (Stippich, Blatow, & Delmaire, 2007). Num paradigma de blocos (Figura 2.2.A), o sujeito executa duas ou mais funções diferentes, cada uma individualmente e repetitivamente em blocos de tempo relativamente longos (20 a 30 segundos). Os níveis relativos de ativação durante cada estímulo são então comparados entre si para obter indicações sobre a ativação diferencial de uma região cortical. Num paradigma de eventos (Figura 2.2.B), são apresentados estímulos de curta duração (1 a 5 segundos) de uma ou mais categorias com intervalos variáveis entre eles, a fim de medir a evolução no tempo da ativação de uma determinada região cortical. Assim, a vantagem de um paradigma de blocos é a localização das áreas funcionais de resposta, enquanto a principal vantagem de um paradigma de eventos é fornecer indicações sobre a natureza da resposta que se seguiu.

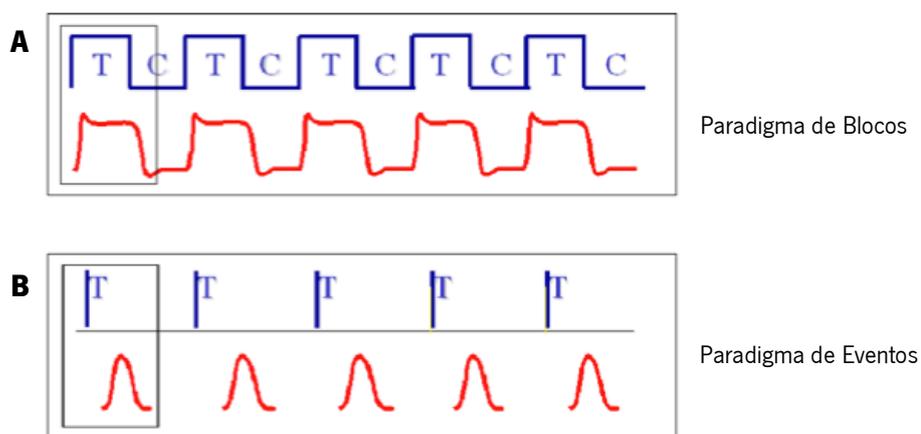


Figura 2.2. Paradigmas experimentais de RMf: paradigmas de blocos (A) e de eventos (B). Adaptado de (G. J. Barker & Amaro, 2006).

A ressonância magnética funcional permite então efetuar uma análise funcional do cérebro por oposição à análise estrutural mais usual. Para tornar esta análise possível, é necessário utilizar um tipo de contraste diferente dos contrastes característicos das análises estruturais. Em RMf utiliza-se o contraste BOLD (*Blood Oxygenation Level-Dependent*) que permite efetuar um

mapeamento funcional por medição indireta da atividade neuronal. Este contraste será descrito na próxima subsecção.

2.2 O contraste BOLD

Em RMf, normalmente utiliza-se o contraste BOLD para estudar as alterações locais na concentração de desoxi-hemoglobina no cérebro (Ogawa et al., 1990). Este contraste tira partido das diferenças inerentes entre a hemoglobina oxigenada e desoxigenada. Estes dois estados têm propriedades magnéticas diferentes, sendo a oxi-hemoglobina diamagnética e a desoxi-hemoglobina paramagnética. Como tal, diferentes estados de oxigenação da hemoglobina produzem campos magnéticos locais diferentes.

Devido às suas propriedades paramagnéticas, a deoxi-hemoglobina tem um efeito de supressão do sinal de RM, enquanto no estado oxigenado tal não acontece. Uma vez que o fluxo sanguíneo no cérebro refresca com sangue oxigenado as áreas cerebrais que se encontram ativas, a susceptibilidade magnética local e consequentemente o sinal de RM são alterados. Deste modo, uma série de imagens adquiridas de forma apropriada pode ser utilizada para estudar alterações na oxigenação sanguínea que, por sua vez, pode ser aproveitada para inferir acerca da atividade cerebral.

A resposta hemodinâmica a um evento neuronal é tipicamente referida como função de resposta hemodinâmica (HRF – *Hemodynamic Response Function*). Na Figura 2.3 pode observar-se o aspecto típico da função utilizada para modelar a HRF, também designada de HRF canónica. As necessidades metabólicas aumentadas devido à atividade neuronal levam a um aumento no fluxo de entrada de sangue oxigenado nas regiões cerebrais ativas. Uma vez que é fornecido mais oxigénio do que é consumido, a concentração de deoxi-hemoglobina diminui, o que, por sua vez, leva a um aumento no sinal de RM registado. Este aumento no sinal dá-se aproximadamente 2 segundos após o início da atividade cerebral e atinge um pico 5-8 segundos após o pico de atividade cerebral. Depois de atingir o seu nível máximo, o sinal BOLD diminui para um nível inferior de base, que é sustentado por cerca de 10 segundos. Este efeito, conhecido como o *undershoot* pós-estímulo, deve-se ao facto do fluxo sanguíneo

diminuir mais rapidamente do que o volume de sangue, permitindo assim uma maior concentração de deoxi-hemoglobina nas regiões do cérebro ativadas anteriormente. Alguns estudos têm demonstrado evidências de uma diminuição nos níveis de oxigenação no instante imediatamente após o aumento da atividade neuronal, dando origem a uma diminuição no sinal BOLD durante os primeiros 1-2 segundos após a apresentação do estímulo (Karl J. Friston, 2007).

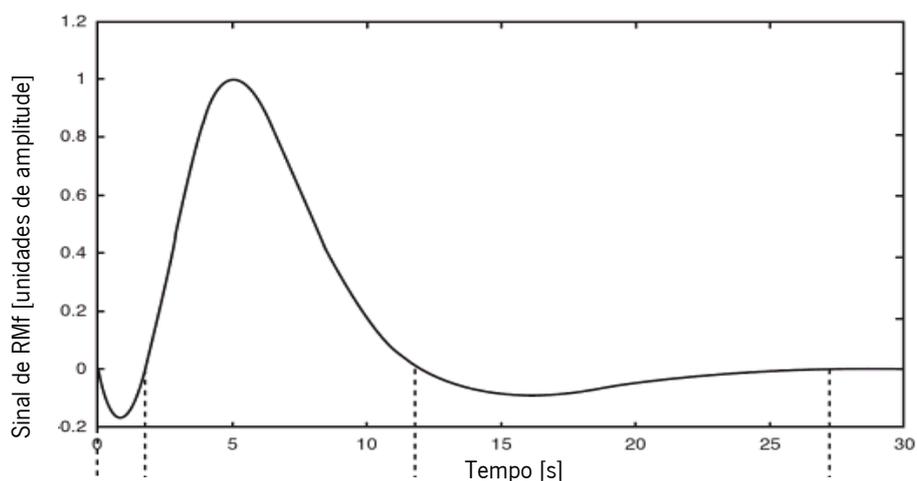


Figura 2.3. HRF canônica que se segue à aplicação de um estímulo de curta duração. Adaptado de (Mulert & Lemieux, 2009).

2.3 Da RMf em repouso à Conetividade Funcional

A ideia de que o cérebro humano se encontra ativo, mesmo quando o ser humano se encontra em repouso não é recente, no entanto, as evidências que o comprovam remontam às últimas décadas.

Desde meados do século XX que surgiram evidências deste facto, como o relatam os resultados intrigantes obtidos por Sokoloff e colaboradores (Mulert & Lemieux, 2009). Estes investigadores demonstraram que o metabolismo cerebral se mantinha inalterado quando um conjunto de voluntários passava de um estado de repouso para a realização de tarefas aritméticas complexas. Apesar de outros contributos importantes para esta teoria terem sido posteriormente apresentados por investigadores como Ingvar (Sokoloff, Mangold, Wechsler, C. Kennedy, & Kety, 1955), através de medições do fluxo de sangue cerebral, apenas com o desenvolvimento da modalidade imagiológica de PET foi dada relevância à hipótese levantada.

Com efeito, até meados dos anos 90, foram realizados vários estudos utilizando como condição de controlo o estado de repouso. Em todos estes estudos foram relatadas “desativações” em determinadas regiões, desativações essas que mais não eram do que níveis de ativação mais elevados na condição de controlo (estado de repouso) do que na realização das tarefas programadas (Marcus E. Raichle et al., 2001; Shulman, Fiez, et al., 1997).

Com a utilização da modalidade de RMf, Biswal e colegas tornaram-se os primeiros a demonstrar que, em repouso, as regiões do hemisfério esquerdo e direito da rede motora primária não se encontravam “em silêncio”, mas demonstravam uma elevada correlação entre as suas séries temporais de RMf (Figura 2.4) (B Biswal et al., 1995). Este achado sugeria o decurso de processamento de informação e a existência de conetividade funcional entre estas regiões, em repouso.

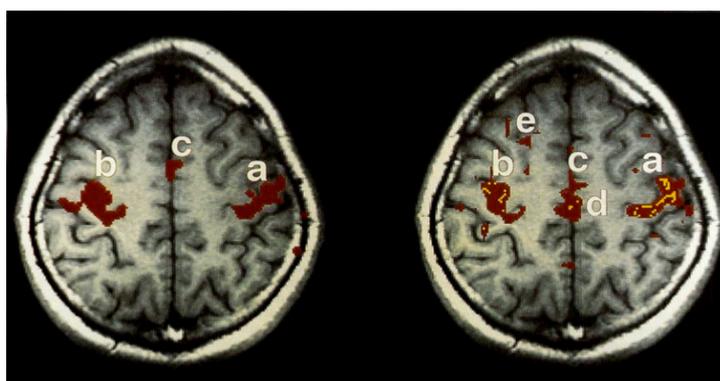


Figura 2.4. Primeiro mapa de conetividade funcional onde se evidencia a existência de uma elevada correlação entre as regiões que compõem a rede motora. Adaptado de (B Biswal et al., 1995).

Nos seus estudos, os voluntários foram instruídos a relaxarem e a não pensar em nada em específico enquanto era feita a aquisição de RMf. Para estudar o grau de conetividade funcional entre as regiões da rede motora primária, o investigador selecionou um vóxel (*seed*) de uma região que se sabia fazer parte da rede motora primária e calculou o grau de correlação entre a série temporal desse vóxel e os restantes vóxeis que compunham o volume cerebral (Figura 2.5.A). Como resultado verificou um elevado nível de correlação entre as regiões cerebrais evidenciadas na Figura 2.5.B. Esta metodologia será descrita em maior pormenor na secção 2.5.2.

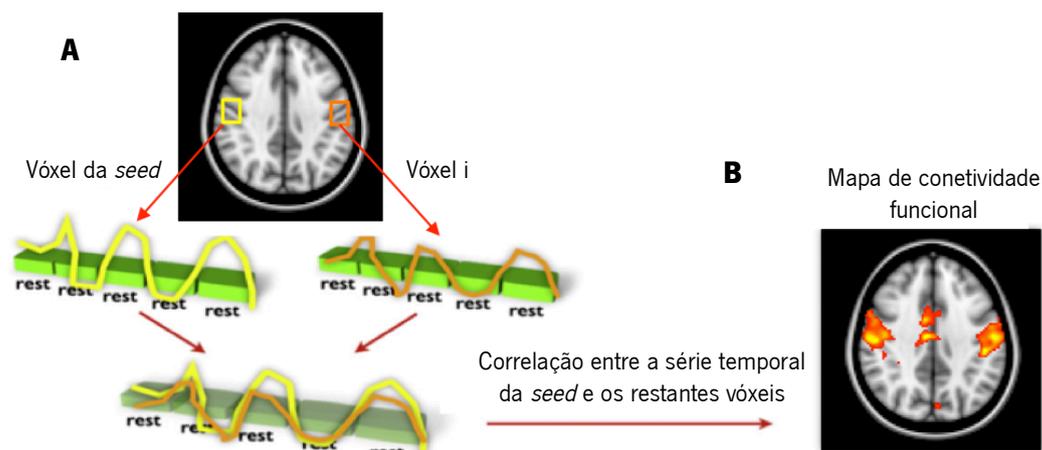


Figura 2.5. A série temporal da *seed* é extraída e comparada com a série temporal de todos os vóxeis (A) resultando num mapa de conectividade funcional cujos valores refletem o nível de correlação de um vóxel com a *seed* (B). Adaptado de (van den Heuvel & Hulshoff Pol, 2010).

Biswal e colaboradores, não só demonstram que, em repouso, a rede cerebral não se encontra inativa, como introduziram um novo tipo de análise baseada na medição grau de correlação de ativação espontânea entre as séries temporais de diferentes regiões cerebrais. Este novo tipo de análise, tornou-se no primeiro método utilizado para medição da conectividade funcional.

Pensa-se que comunicação funcional entre as diversas regiões cerebrais desempenha um papel fundamental em processos cognitivos complexos, permitindo uma integração contínua de informação. Daqui se depreende a importância que a conectividade funcional cerebral assume no estudo da organização do cérebro humano. Ao nível conceptual, a conectividade funcional reflete a dependência temporal ou associação estatística entre eventos neurofisiológicos espacialmente remotos (Karl Friston, 2002). Em neuroimagem afirma-se que a conectividade funcional retrata o nível de comunicação funcional entre regiões cerebrais anatomicamente separadas, descrevendo a relação entre os padrões de ativação neuronal dessas regiões.

Outras análises para medição de conectividade funcional foram desde então utilizadas, não só com o objetivo de replicar os resultados de Biswal, como também para correlacionar regiões de outras redes neuronais conhecidas (B B Biswal et al., 1997; Damoiseaux et al., 2006; Fox & Marcus E. Raichle, 2007; van den Heuvel, René C W Mandl, Kahn, & Hulshoff Pol, 2009).

Os resultados obtidos permitem evidência à hipótese de que, em repouso, o cérebro humano mantém elevados níveis de atividade espontânea.

2.4 Aquisição e pré-processamento

Os procedimentos de aquisição e processamento de dados de RMf de repouso são na sua grande maioria comuns aos procedimentos comuns para um estudo funcional típico (Christian F Beckmann, DeLuca, Devlin, & Stephen M Smith, 2005; Birn, Diamond, Monica A Smith, & Bandettini, 2006). No entanto, algumas diferenças pontuais podem ser verificadas.

A etapa de aquisição de imagem inicia-se com a colocação do paciente/voluntário no equipamento de RM. Ao contrário do procedimento padrão de RMf, o paciente/voluntário é instruído a permanecer em repouso durante a aquisição das imagens. Apesar de não existir consenso quanto à definição de um estado de repouso padrão, na maioria dos estudos é pedido aos voluntários para permanecerem acordados, de olhos fechados e tentando não pensar em nada em concreto. No entanto, alguns investigadores referem que os padrões de correlação em questão são relativamente estáveis durante o sono e sedação leve (Greicius et al., 2008). Atualmente os parâmetros de aquisição típicos incluem:

- resolução de 2 x 2 x 2 mm ou 3 x 3 x 3 mm (eventualmente superior);
- tempo de repetição (TR) de 2 a 5 segundos;
- tempo de eco (TE) na ordem das dezenas de milissegundo;
- 30 – 45 cortes;
- tempos de aquisição que podem ir dos 5 aos 10 minutos.

Para que os resultados da aquisição possam vir a ser avaliados, as imagens necessitam de ser pré-processadas com o intuito de melhorar a qualidade dos dados, reduzindo o nível de ruído e melhorando o rácio entre sinal e ruído (*Signal-to-Noise Ratio* – SNR). Muitos dos passos de pré-processamento são comuns às análises típicas de RMf:

- **conversão de formato** – a maioria do software utilizado na análise de RMf utilizam o formato NIfTI/Analyze, pelo que as imagens têm que ser convertidas do formato DICOM ou outro utilizado pelos equipamentos de RM;

- **remoção de volumes** – é prática comum remover os primeiros volumes da aquisição uma vez que, no início das aquisições, o campo magnético no interior do equipamento de RM não se encontra completamente estabilizado;
- **correção dos tempos de aquisição** – cada corte que constitui um volume cerebral é adquirido num instante de tempo diferente, como tal, as diferenças nos tempos de aquisição necessitam de ser compensadas;
- **correção de movimento** – para que as regiões cerebrais possam ser analisadas ao longo dos diferentes volumes, é de extrema importância que o cérebro se encontre sempre na mesma posição. Uma vez que é impossível o paciente/voluntário permanecer totalmente imóvel durante a aquisição, esses movimentos têm que ser corrigidos;
- **normalização** – quando se pretende efetuar análises inter-sujeito, o cérebro dos diversos indivíduos devem encontrar-se num espaço de referência comum, uma vez que é grande a variabilidade introduzida pelas diferentes formas, tamanhos e orientações do cérebro. Para tal, efetuam-se transformações espaciais às imagens, colocando-as no espaço de referência, sendo os mais usados o MNI (*Montreal Neurological Institute*) (Montreal Neurological Institute and Hospital, 2011) e o Talairach (Talairach & Tournoux, 1988);
- **suavização** – este passo é aplicado para diminuir algumas diferenças anatómicas residuais inter-sujeitos, aplicando normalmente um filtro Gaussiano (filtro FWHM - *full-width-half-maximum*);
- **filtragem** – é comum aplicar-se um filtro passa-banda de 0,01Hz – 0,08Hz para que permaneçam na aquisição as baixas frequências características das redes de repouso e sejam eliminadas as frequências provenientes de outras fontes fisiológicas ou ruído.

Apesar do sinal de RMf de repouso poder ser atribuído à atividade neuronal espontânea, algumas interferências de sinais fisiológicos não neuronais podem subsistir. Este é o caso dos sinais respiratórios, de pulsação ou vasculares. A remoção destes sinais é particularmente importante em estudos de conectividade funcional. Os métodos de Análise de Componentes Independentes (Independent Component Analysis - ICA) através do aumento da dimensionalidade da análise, têm demonstrado ser capazes de detectar estes sinais de ruído.

2.5 Métodos de análise

Atualmente podem ser encontrados na literatura vários métodos para analisar dados de ressonância magnética funcional (Talairach & Tournoux, 1988). Nos estudos típicos de RMf destaca-se um método conhecido por *General Linear Model* (GLM). Já para o estudo da conectividade funcional, podem utilizar-se abordagens por modelos, como as análises de correlação, e abordagens independentes de modelos, como o caso das análises ICA. Outro tipo de análises são efetuadas, embora em menor escala (K J Friston et al., 1993; Cordes, Vic Haughton, Carew, Arfanakis, & Maravilla, 2002; van den Heuvel, Rene Mandl, & Hulshoff Pol, 2008).

2.5.1 *General Linear Model* (GLM)

O método de análise de RMf mais utilizado designa-se de *General Linear Model* (GLM) (KJ Friston et al., 1994; K J Worsley et al., 2002). Nesta metodologia, as séries temporais são modeladas como uma combinação linear de diferentes componentes de sinal e é testada a hipótese da atividade numa região cerebral se encontrar sistematicamente relacionada com alguma destas funções (Lindquist, 2008). Na sua versão mais simples, o modelo GLM assume que a função de estímulo e a HRF são conhecidas. Pressupõe-se que o estímulo é equivalente ao paradigma experimental, enquanto que a HRF é modelada utilizando a HRF canónica. Da convolução do paradigma experimental com a HRF canónica resulta um conjunto de respostas esperadas que são introduzidas como colunas numa matriz de *design*. Este procedimento encontra-se esquematicamente representado na Figura 2.6.

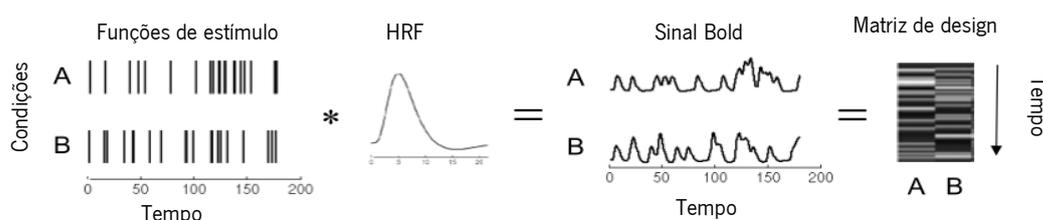


Figura 2.6. No método de GLM, o paradigma experimental é convulsionado com a HRF originando os sinais BOLD que esperados como resposta. Adaptado de (Lindquist, 2008).

Conceptualmente, e considerando uma única condição x , o GLM pode ser descrito pela seguinte equação:

$$y_i = x_i\beta + \varepsilon_i \quad \text{Equação 2.1}$$

em que y_i é o sinal da série temporal do vóxel i , x_i denota o sinal esperado como resposta à condição x , β é o factor de escala e ε_i o factor de erro. Assim, o principal objetivo do GLM é explicar a variação na intensidade do sinal das séries temporais de cada vóxel em termos de uma combinação linear de variáveis explanatórias e um termo de erro. Na configuração matricial, a equação 2.1 assume o seguinte notação (Lindquist, 2008):

$$Y = X\beta + \varepsilon \quad \text{Equação 2.2}$$

em que Y denota o vector de valores de intensidade dos vóxeis, β o vector de parâmetros (também designado de declive de regressão) e ε representa o vector de termos de erro. X representa a matriz de *design* em que as linhas representam instantes temporais e as colunas representam as variáveis explanatórias do modelo.

Na prática, cada coluna de X mais não é do que um vector de valores binários que indicam a presença ou ausência de um determinado estímulo em cada instante de tempo. Por outro lado, os valores de β definem a contribuição/peso de cada componente da matriz de *design* para o sinal observado. Através da determinação da magnitude do parâmetro β para estes vectores da matriz pode-se determinar a existência ou ausência de ativação posterior à apresentação do estímulo. Assim, a análise GLM consiste em calcular a combinação de parâmetros de β que permitem minimizar o termo de erro ε , que, no contexto da RMf, representa a contribuição do ruído para o sinal observado.

Uma vez que estes parâmetros se encontram distribuídos normalmente e que é possível calcular o parâmetro de erro, podem-se efetuar inferências estatísticas para demonstrar com que significância uma resposta de ativação difere da hipótese nula. Este modelo é o mais utilizado em RMf para testar uma hipótese específica. Apesar das potencialidades do GLM, este método é, no entanto, muito rígido. As conclusões são retiradas com base no modelo apresentado sem garantias que esse modelo seja o mais adequado. Além disso, esta análise assume que a matriz de *design* é a mesma para todo o cérebro sabendo-se, atualmente, que a HRF difere consoante a região cerebral.

2.5.2 Análises de correlação

As análises de correlação (*Seed Correlation Analysis* - SCA) são um outro tipo de abordagem dependente de um modelo, partindo-se do princípio que existe um conhecimento à priori de algo que é espectável. A metodologia mais simples para estabelecimento de conexões funcionais passa por correlacionar as séries temporais de repouso de uma determinada região cerebral de interesse com as séries temporais de cada vóxel cerebral (B Biswal et al., 1995).

Daí resulta o estabelecimento de um mapa cerebral das conexões funcionais da região selecionada, normalmente designada de *seed region*. A *seed* não é mais do que uma região definida à priori, podendo ser um vóxel, um agrupamento de vóxeis ou mesmo uma região selecionada a partir de um mapa funcional de um estudo convencional de RMf realizado previamente. Da *seed* definida será extraída a série temporal e esta, por sua vez, será utilizada como regressor numa análise de correlação linear para determinar o grau de correlação com as séries temporais dos restantes vóxeis do cérebro (Faro et al., 2011). Assim, é calculado um coeficiente de relação r entre pares de séries temporais, podendo este coeficiente ser calculado da seguinte forma:

$$r = \frac{\Sigma(x-\bar{X})(Y-\bar{Y})}{\sqrt{\Sigma(x-\bar{X})^2 \Sigma(Y-\bar{Y})^2}} \quad \text{Equação 2.3}$$

em que X é a série temporal do vóxel a ser analisado, Y representa a série temporal de referência, \bar{X} e \bar{Y} representam as médias das respectivas séries temporais.

O resultado da análise é um mapa de conectividade funcional (*functional connectivity map* - fcMap). Este mapa permite verificar com que regiões a *seed* selecionada se encontra associada funcionalmente e em que medida (Figura 2.5).

Em alternativa à computação de mapas de conectividade entre todos os vóxeis cerebrais, alguns investigadores optam por definir algumas regiões de interesse e calcular apenas os níveis de correlação entre pares de regiões. Esta metodologia tem a vantagem de tratar todas as regiões de interesse de igual forma.

A principal vantagem deste método é a sua relativa simplicidade e o facto dos resultados constituírem uma resposta direta a um problema, neste caso, as regiões cerebrais mais fortemente relacionadas funcionalmente com a *seed*. Recentemente comprovou-se que este tipo de análise permite identificar as relações de conectividade das redes neuronais de repouso com elevado grau de confiança (Shehzad et al., 2009). A desvantagem mais significativa

prende-se com o facto da presença de ruído na região da *seed* poder influenciar negativamente a série temporal desta e, conseqüentemente, comprometer os resultados. Além disso, a localização da *seed*, o volume ou mesmo diferenças entre sujeitos podem introduzir graus de variabilidade elevados.

A simplicidade e utilidade destes métodos levou a que vários estudos fossem realizados utilizando este tipo de abordagem (Shehzad et al., 2009).

2.5.3 Análise de Componentes Independentes

Por oposição aos métodos dependentes de modelos, os métodos independentes de modelos permitem a exploração de padrões de conectividade funcional estatisticamente relevantes ao longo de todo o cérebro, não existindo necessidade de definir uma região de interesse à priori. As análises de componentes independentes (*Independent Component Analysis - ICA*) fazem parte deste tipo de abordagens e são muito utilizados na identificação de redes neuronais em repouso (Christian F Beckmann et al., 2005; Calhoun, Adali, Pearlson, & Pekar, 2001; Damoiseaux et al., 2006)

Independentemente do campo de aplicação, as análises ICA são uma metodologia de processamento e análise de dados que visa estimar fontes de sinal desconhecidas a partir de um sinal composto por várias fontes de sinal misturadas através de um processo desconhecido. No contexto das análises de conectividade funcional, estes métodos são utilizados com o objetivo de procurar uma mistura de fontes que permitam explicar os padrões das redes neuronais de repouso. Este processo de decomposição encontra-se ilustrado na Figura 2.7.



Figura 2.7. Exemplo ilustrativo da análise ICA. As fontes originais de sinal podem ser encontradas a partir de um sinal composto pela mistura dessas três fontes.

Formalmente, o modelo ICA pode ser expressado pela seguinte equação (Calhoun & Adali, 2006):

$$X = AS \quad \text{Equação 2.3}$$

em que as colunas da matriz X denotam as amostras, S é denota a matriz de componentes a ser calculada, contendo em cada coluna uma das fontes de sinal estimada (também designada de componente), e A a matriz de pesos que define a contribuição de cada fonte de sinal para o sinal global observado.

O pressuposto base desta análise é o de que as fontes de sinal são estatisticamente independentes com distribuições não Gaussianas. A determinação das componentes decorre num processo iterativo em que se procura maximizar o grau de independência entre as componentes, podendo ser utilizadas várias métricas diferentes para o efeito. Vários algoritmos podem ser empregues para o cálculo das componentes, contudo os mais utilizados em RMf são o Infomax (Bell & Sejnowski, 1995) e o FastICA (Hyvärinen & Oja, 1997). As análises ICA podem classificar-se em ICA espacial e ICA temporal, consoante se considera que as fontes de sinal são independentes no espaço ou no tempo.

A principal potencialidade dos métodos ICA reside no facto de poderem ser aplicados aos dados da totalidade do cérebro. Além disso, os sinais temporais das componentes relevantes podem ser facilmente selecionados para análises de grupo entre controlos e pacientes. A principal desvantagem destes métodos é a maior dificuldade em perceber as componentes independentes geradas, comparativamente aos mapas funcionais gerados com regiões *seed*, por se tratarem de representações mais complexas dos dados (Fox & Marcus E. Raichle, 2007).

2.6 Redes neuronais de repouso

Vários conjuntos de regiões cerebrais podem ser identificadas em estudos de conectividade funcional. A estas regiões anatomicamente separadas mas funcionalmente interligadas em estados de repouso é comum atribuir-se a designação de redes neuronais de repouso (*resting-state networks* - RSNs). Até agora, estudos neuroimagingológicos reportaram a existência de pelo menos oito sub-redes funcionalmente ligadas (Cole, Stephen M Smith, & Christian F Beckmann, 2010). Na Figura 2.8 apresentam-se oito das redes de repouso mais comuns,

neste caso, identificadas através de análises ICA. Estas redes incluem a rede motora, a rede visual, duas redes lateralizadas constituídas pelas regiões parietal superior e frontal superior, a *Default Mode Network* e uma rede constituída pelas regiões corticais temporal/insular bilateral e cíngulo anterior.

É interessante verificar que a maioria destas redes tende a representar redes funcionais conhecidas, sobrepondo regiões que são conhecidas por partilharem uma função comum, apoiando a sua relevância funcional. Por exemplo, sobrepõem as regiões motoras, visuais primárias e redes parietal-frontal envolvidas no processamento da atenção. Alguns estudos sugerem que estas redes podem apresentar uma topologia interna que se encontra fortemente organizada pelas suas sub-funções (Damoiseaux et al., 2006; van den Heuvel et al., 2008).

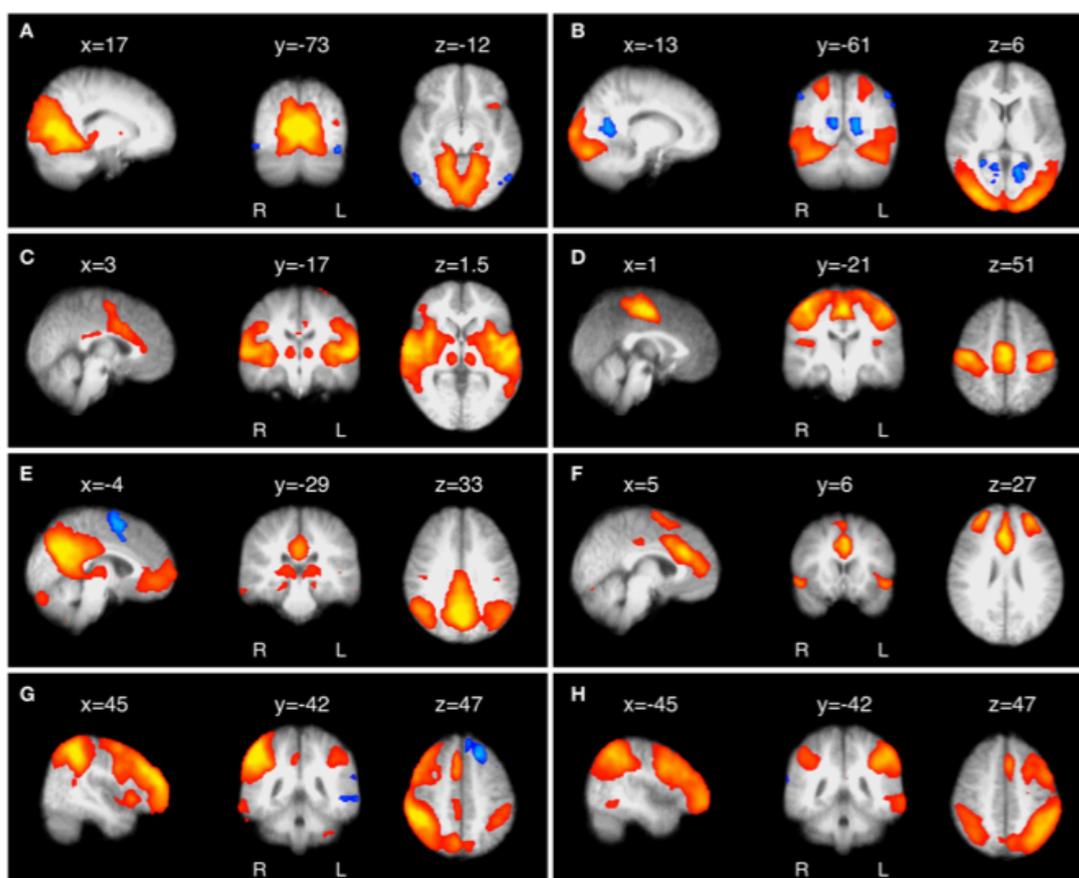


Figura 2.8. Redes neuronais de repouso mais comuns identificadas por ICA: rede visual primária (A), rede visual extra estriato (B), rede do córtex auditivo (C), rede motora primária (D), *default mode network* (E), rede frontal (F), rede parietal-frontal direita (G), rede parietal-frontal esquerda (H). Adaptado de (Cole et al., 2010).

As redes neuronais de repouso possuem características peculiares que as distinguem dos demais sistemas biológicos, características essas que podem ser usadas para melhor as identificar via RMf. Em termos espaciais, as redes neuronais de repouso localizam-se predominantemente em regiões de substância cinzenta (Christian F Beckmann et al., 2005). Através de uma simples observação da Figura 2.8, verifica-se que essas regiões são características dos sistemas funcionais essencialmente responsáveis pelos processos cognitivos e perceptuais centrais.

Relativamente às características espectrais destas redes, verifica-se uma predominância das baixas frequências, devendo-se a esta propriedade a designação alternativa de “redes de baixa frequência” muitas vezes utilizada. Vários estudos têm localizado a largura de banda própria das redes de repouso entre os 0,01 – 0,08Hz (B Biswal et al., 1995; Cordes et al., 2000). Sendo assim, esta gama de frequências é distinta da banda característica dos sinais respiratório e cardíaco, permitindo isolar os efeitos de influência destes sinais.

Apesar do cepticismo inicialmente gerado em torno destas redes, estudos conjuntos de RMf e EEG permitiram reforçar a validade dos resultados alcançados (Mantini, Perrucci, Del Gratta, Romani, & M. Corbetta, 2007). Tal deve-se em grande parte ao facto dos resultados destes estudos permitirem associar a atividade das redes neuronais de repouso a perfis de potência específicos do espectro de aquisição do EEG.

2.6.1 Default Mode Network – um caso particular

A rede neuronal de repouso que tem despoletado maior interesse é a designada *Default Mode Network*. Ao contrário das outras redes de repouso, as regiões desta rede são conhecidas por demonstrar, em repouso, um nível de atividade neuronal superior ao nível de atividade exibido durante a execução de tarefas cognitivas, sugerindo que a atividade nesta rede reflete um estado padrão ou de base de atividade neuronal no cérebro humano (D A Gusnard & M E Raichle, 2001). Além disso, estes níveis aumentados de atividade neuronal tendem a estar fortemente correlacionados em repouso, formando uma rede de repouso integrativa ligada funcionalmente.

Inicialmente, esta rede neuronal começou por ser detectada como um conjunto de regiões cerebrais que, em estudos de paradigmas de blocos, se evidenciavam como “desativações” (Mazoyer et al., 2001; Shulman, Maurizio Corbetta, et al., 1997). Isto significa que, na condição de repouso, essas regiões apresentavam níveis de atividade neuronal superiores aos níveis de ativação medidos durante a realização das tarefas programadas.

Mais tarde, com o surgimento da RMf e a possibilidade de aquisição de imagens em intervalos de tempo inferiores aos da PET, a DMN pôde ser caracterizada através de análises com paradigmas de eventos. Uma análise deste tipo foi efetuada por Shannon utilizando tarefas de classificação semântica e fonética (Shannon, 2006). Visualmente verificou-se que a DMN definida com este tipo de análise é bastante similar à DMN definida pela análise de blocos.

A introdução das metodologias de conectividade funcional, tornou possível a identificação da DMN através de correlações de atividade intrínseca. Este tipo de análise tem sido vastamente utilizada para mapear a DMN (Greicius et al., 2003; Greicius & Menon, 2004; Fox et al., 2005; Damoiseaux et al., 2006).

O grau de sobreposição dos mapas estatísticos evidenciado na Figura 2.9 demonstra uma clara convergência entre abordagens. Essa convergência suporta a hipótese de que a *Default Mode Network* é um sistema biológico cuja anatomia se encontra bem definida.

Através da análise da Figura 2.9, observa-se que DMN compreende um conjunto de regiões distribuído que envolve o córtex associativo e poupa o córtex motor e sensorial. Em particular, o córtex medial prefrontal, (*Medial Prefrontal Cortex* – MPFC), córtex do cíngulo posterior/córtex retrosplenial (*Posterior Cingulum Cortex/Retrosplenial* – PCC/Rsp) e o lobos parietais inferiores (*Inferior Parietal Lobes* – IPL) mostram uma convergência quase total. Pode ainda observar-se o envolvimento da formação hipocampal, embora de uma forma menos robusta.

Existem duas principais teorias que procuram explicar as funções desempenhadas pela DMN: a teoria da monitorização exploratória do ambiente circundante e a teoria da introspecção e devaneio.

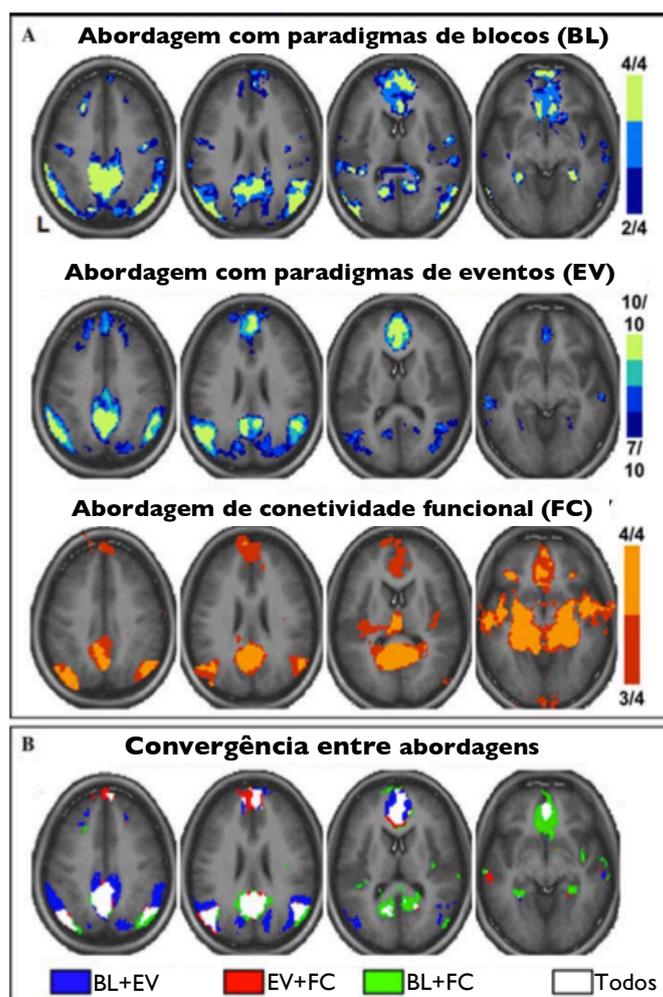


Figura 2.9. Convergência entre abordagens de identificação da DMN. Mapas da DMN originados através de análises com paradigmas de blocos, paradigmas de eventos e análises de conectividade funcional (A) demonstram um elevado grau de sobreposição (B). Adaptado de (Buckner et al., 2008).

A teoria da introspecção ou devaneio é mais consistente com as funções associadas a cada área que constitui a DMN. Segundo esta teoria, a atividade da DMN relaciona-se especialmente com os chamados “pensamentos independentes de estímulos”, i.e. pensamentos relativos a algo que não sejam eventos provenientes do mundo externo. Assim, a DMN seria responsável pelos devaneios (Gilbert, Dumontheil, Simons, Chris D. Frith, & Burgess, 2007), planeamento de ações futuras (Schacter, Addis, & Buckner, 2007), revisitar memórias (Schacter, Addis, & Buckner, 2007), pensamentos de conteúdo moral e emocional (D A Gusnard & M E Raichle, 2001) ou perspectivação do ponto de vista de terceiros (Saxe, Carey, & Kanwisher, 2004). Na Figura 2.10 pode verificar-se que as áreas ativas em cada

uma das situações enunciadas anteriormente demonstram um elevado grau de sobreposição com a DMN.

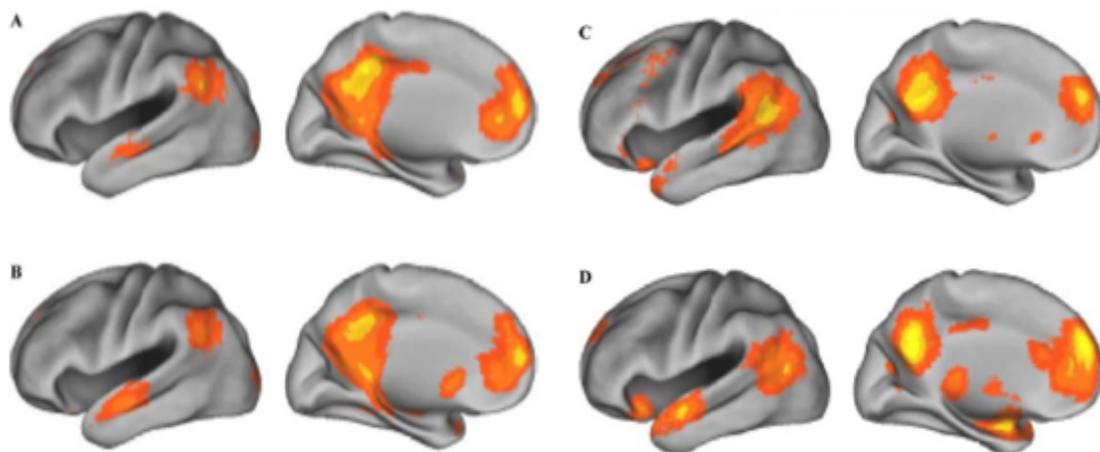


Figura 2.10. Ativações da DMN em diferentes tipos de tarefas: memória autobiográfica (A), planeamento futuro (B), perspectivação do ponto de vista de terceiros (C) e tomada de decisões morais (D). Adaptado de (Buckner et al., 2008).

2.7 Aplicação clínica

O desenvolvimento da técnica RMf ao longo dos últimos anos tem fornecido a esta modalidade um notoriedade crescente, com repercussões nas aplicações clínicas em que é utilizada.

Com efeito, a principal aplicação clínica da RMf é a detecção pré-operativa de áreas cerebrais responsáveis por funções específicas (Huettel et al., 2009; Sabsevitz et al., 2003). Normalmente, as intervenções cirúrgicas ao cérebro envolvem a remoção de tecido cerebral para eliminar a presença de massas tumorais. Contudo, se por um lado se pretende remover extensivamente o tumor, é necessário assegurar que se pretende remover não irá afetar a função desempenhada pelas áreas cerebrais adjacentes. Assim, apesar da remoção de tecido cerebral implicar algum défice cognitivo, pode-se assegurar que as funções primárias são preservadas.

A RMf poderá ainda vir a ser utilizada em ambiente clínico na detecção precoce de tumores e patologias bem como acompanhar a evolução dessas mesmas condições. Com efeito, ao longo dos últimos ano, vários estudos têm reportado algum tipo de alteração na estrutura da

DMN em pacientes com vários tipos de patologias, cobrindo quase a totalidade das doenças psiquiátricas.

Em pacientes que sofrem de Alzheimer, alguns resultados indicaram uma diminuição da atividade da DMN (Greicius et al., 2004; Serge A R B Rombouts, Frederik Barkhof, Goekoop, Cornelis J Stam, & Philip Scheltens, 2005) e de níveis de conectividade funcional com o hipocampo também reduzidos (L. Wang et al., 2006). Esta característica pode vir a ser utilizada clinicamente em diagnósticos diferenciais entre pacientes com Alzheimer, ou risco de virem a desenvolver a doença, e controles.

Em pacientes com esquizofrenia verificaram-se também níveis de conectividade funcional atípicos. Neste tipo de pacientes observou-se um aumento de conectividade funcional em repouso e um aumento no antagonismo entre a DMN e a chamada rede “*task-positive*” (uma rede geralmente associada à DMN por apresentar padrões de ativação temporalmente anti-correlacionados com esta) (L. Wang et al., 2006).

No caso de indivíduos autistas demonstrou-se existir uma diminuição no antagonismo entre a DMN e a rede “*task-positive*” bem como uma diminuição nos níveis de conectividade funcional do MPFC (Y. Zhou et al., 2007).

Outras patologias como a depressão (Greicius et al., 2007), a hiperatividade/défice de atenção (Castellanos et al., 2008) e a epilepsia têm sido também amplamente estudadas (Lui et al., 2008).

Capítulo 3

Imagem por Tensor de Difusão

Ideias chave:

- Na substância branca o processo de difusão é essencialmente anisotrópico.
- A RMf de difusão permite obter imagens cujo contraste é dependente do grau de difusão da água.
- Com a introdução do tensor de difusão tornou-se possível caracterizar a tridimensionalidade do processo difusão das moléculas de água e assim refletir a estrutura da substância branca
- A correção de movimentos e de distorções provocadas por correntes residuais são as etapas de pré-processamento mais importantes.
- A tratografia determinística permite criar representações tridimensionais dos feixes neuronais e é a forma de visualização mais popular.
- A modalidade de DTI demonstra ser útil no planeamento cirúrgico bem como no estudo de várias patologias e do envelhecimento saudável do cérebro.

Desde os primórdios dos estudos cerebrais que o papel da substância branca nos processos de cognição e do comportamento tem recebido menor atenção do que no caso da substância cinzenta. Contudo, a partir da segunda metade do século XX e com o desenvolvimento de uma nova modalidade de RM para o estudo *in vivo* dos processos de difusão no cérebro humano, esse aspecto viria a mudar. Esta modalidade, designada de Imagem por Tensor de Difusão (*Diffusion Tensor Imaging* - DTI), foi a partir de então largamente utilizada no estudo da estrutura da substância branca e na forma como essa estrutura se encontra relacionada com a funcionalidade das áreas cerebrais.

Sendo o DTI a única modalidade capaz de permitir o estudo da difusão das moléculas de água *in vivo*, tornou-se muito popular no na análise de estruturas fibrosas, como a substância branca ou músculos devido ao seu arranjo linear. Este aspecto tornou o DTI numa ferramenta de importância singular no estudo de várias patologias, incluindo derrames, esclerose múltipla, dislexia e esquizofrenia, integrando cada vez mais a rotina de muitos protocolos clínicos (Sundgren et al., 2004).

3.1 O processo de difusão e a anisotropia

O processo de difusão é um processo físico que ocorre naturalmente em condições de equilíbrio térmico, caracterizado por movimentos moleculares aleatórios. Apesar de se tratar de um processo ao nível molecular, facilmente se observa este fenómeno macroscopicamente (e.g. tinta a espalhar-se num recipiente com água). Os movimentos moleculares de difusão da água podem também ser designados de movimentos Brownianos em homenagem a Robert Brown, o primeiro cientista a referir o processo. Atualmente é sabido que este processo é provocado por colisões resultantes do movimento aleatório constante das partículas de água que, por sua vez, se deve à energia térmica que estas partículas possuem (Sundgren et al., 2004).

O deslocamento das partículas é dependente de uma constante, designada de coeficiente de difusão, que varia com as propriedades das moléculas em difusão, com a temperatura e com o arranjo do meio. Como tal, os deslocamentos moleculares traduzem esse arranjo devido às interações com os tecidos como membranas celulares, fibras ou macromoléculas.

Num meio livre de barreiras aos movimentos moleculares, o processo de difusão das partículas de água diz-se isotrópico. Nestas condições, o deslocamento probabilístico das moléculas de água ao longo de um determinado período de tempo é igual para todas as direções. Estruturas biológicas como os ventrículos cerebrais e a substância cinzenta em geral existe pouca restrição ao movimento das moléculas de água e, naturalmente, a difusão da água nestas estruturas é altamente isotrópica (Figura 3.1.A). Por outro lado, na substância branca, devido ao arranjo específico das fibras axonais, a difusão é altamente anisotrópica (Moseley, Kucharczyk, Asgari, & Norman, 1991). Isto é, a difusão da água é mais rápida na direção das fibras axonais, relativamente às outras direções (Figura 3.1 B).

É o movimento preferencial das moléculas de água ao longo das estruturas fibrosas que torna a RM de difusão uma modalidade imagiológica particularmente útil no estudo destas estruturas.

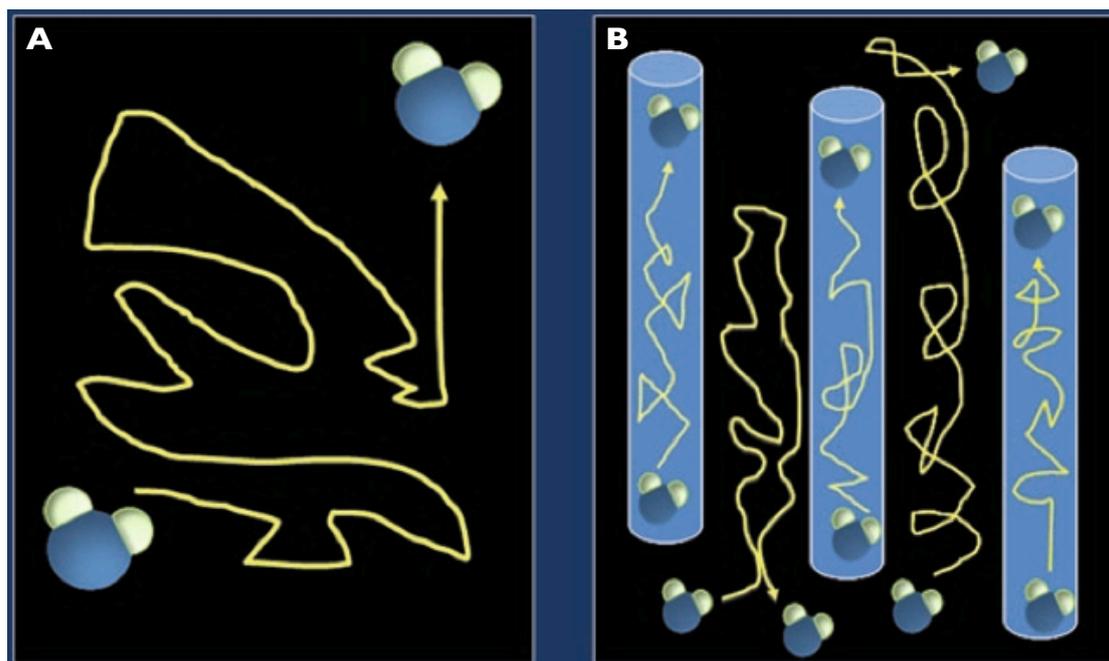


Figura 3.1. Em meios livres de barreiras aos movimentos moleculares, a difusão da água é geralmente isotrópica (A). A presença de estruturas fibrosas torna esse movimento preferencial na direção das fibras (B). Adaptado de (R. Cohen & Sweet, 2010).

3.2 Como medir a difusão cerebral? – RM de Difusão

O que torna a RM numa técnica imagiológica de particular interesse no estudo dos processos de difusão em estruturas fibrosas é a capacidade de refletir no sinal de RM o grau de isotropia e anisotropia da difusão da água, bem como a direção em que ocorre. A modalidade de RM que permite este tipo de medidas é chamada de Ressonância Magnética de difusão. Esta modalidade tem demonstrado ser bastante útil na investigação não invasiva da arquitetura neuronal.

Numa aquisição deste tipo, quando os pacientes/voluntários se submetem a uma ressonância magnética, os momentos magnéticos nucleares das moléculas de água no interior do seu corpo alinham-se com a direção do campo magnético. De seguida, são aplicados gradientes de campo magnético de duração finita que criam um pequeno campo magnético adicional. A introdução deste novo campo magnético, induz o processo de difusão na direção do gradiente aplicado. Posteriormente, outro pulso de gradiente é aplicado permitindo adquirir o sinal de ressonância. A magnitude deste sinal é dependente da extensão do movimento das moléculas

de água, nesse período de tempo, ao longo da orientação do gradiente (Stejskal & Tanner, 1965).

O sinal (S) assim adquirido pode ser expresso pela seguinte equação:

$$S = S_0 \exp(-b \text{ADC}) \quad \text{Equação 3.1}$$

em que S_0 denota o sinal adquirido sem ponderação de difusão, b o factor de gradiente e ADC (*Apparent Diffusion Coefficient*) o coeficiente de difusão aparente. O ADC traduz a extensão do movimento de difusão. Pode-se verificar através da equação 3.1 que o sinal decai com os movimentos de difusão. Isto acontece porque os movimentos brownianos das moléculas de água reduzem o alinhamento dos momentos magnéticos destas moléculas com o campo magnético, diminuindo assim a intensidade do sinal captado. As imagens resultantes da aquisição são normalmente designadas de imagens DWI (*Diffusion Weighted Imaging*). Verifica-se ainda que quando $b = 0$ obtém-se $S = S_0$, ou seja, as imagens assim adquiridas não possuem ponderação de difusão, sendo equivalentes a aquisições com contraste T2².

A possibilidade de caracterizar de forma rigorosa os movimentos de difusão com recurso a imagens DWI deve-se a Basser com a introdução do formalismo do tensor de difusão (P. J. Basser et al., 1993). Este formalismo será descrito na próxima secção e deu origem à modalidade de RM chamada de Tensor de Difusão (*Diffusion Tensor Imaging – DTI*), uma forma sofisticada de RM de difusão que permite caracterizar a direcionalidade dos processos de difusão.

3.3 Tensor de Difusão

Quando se observa o processo de difusão numa única direcção, constata-se que este pode ser descrito segundo um único escalar – o referido ADC, vulgarmente designado somente por D. Um outro factor importante em RM de difusão é o chamado “factor b” que permite caracterizar os pulsos de gradiente da sequência de RM utilizada. A combinação destes fatores dita a atenuação causada no sinal de RM pela interferência do processo de difusão. Estas relações podem ser descritas pela seguinte expressão (Le Bihan et al., 2001):

² Contraste utilizado em imagens de RM que se baseia nas diferenças no decréscimo exponencial da magnetização dos tecidos. É muito utilizado em exames patológicos onde os tecidos/fluidos anómalos tendem a aparecer a claro.

$$A = \exp(-bD) \quad \text{Equação 3.2}$$

em que A denota atenuação do sinal.

Devido à anisotropia característica dos movimentos Brownianos, o coeficiente D não é suficiente para caracterizar a tridimensionalidade destes movimentos. O DTI veio colmatar este problema ao sugerir a utilização de um tensor de difusão (i.e uma matriz 3x3 de coeficientes de difusão) como forma de descrever a difusão num espaço tridimensional (P. J. Basser et al., 1993). O tensor pode ser representado da seguinte forma:

$$\underline{D} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{Equação 3.3}$$

em que \underline{D} denota o tensor de difusão. Considerando que o movimento de difusão é equivalente em ambos os sentidos da direção de aquisição, facilmente se verifica que o tensor é simétrico ($D_{yx} = D_{xy}$, $D_{zx} = D_{xz}$, $D_{zy} = D_{yz}$). Além disso, num referencial cujos eixos coincidam com os principais eixos de difusividade, os termos que não fazem parte da diagonal deixam de existir. Nestas condições, a atenuação do sinal de RM passa a ser descrita pela expressão:

$$A = \exp(-b_{x'x'}D_{x'x'} - b_{y'y'}D_{y'y'} - b_{z'z'}D_{z'z'}) \quad \text{Equação 3.4}$$

em que x' , y' e z' denotam os eixos do referencial e b_i (com $i,j = x, y, z$) denotam os valores da matriz \underline{b} que agora substitui o factor b.

Na prática, o referencial de medida é o mesmo referencial dos gradientes do equipamento de RM que normalmente não coincidem com o referencial de difusão dos tecidos. Isto faz com que todos os elementos do tensor tenham que ser determinados e não apenas os que compõe a diagonal.

A simetria do tensor implica um mínimo de 6 direções de aquisição para que possa ser corretamente preenchido. Após a aquisição das imagens com contraste de difusão, segue-se o cálculo dos componentes do tensor \underline{D} . Estes componentes permitem, posteriormente, calcular índices escalares, como a difusividade média ou o grau de anisotropia para cada vóxel. É ainda necessário calcular a principal direção de difusividade e os valores de difusão para cada direção. Este processo equivale ao cálculo do referencial segundo o qual os componentes não diagonais de \underline{D} são nulos. A este processo dá-se o nome de diagonalização do tensor e permite decompor o tensor nos seus vectores (e_1, e_2, e_3) e valores próprios ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$) que

correspondem às direções e magnitudes de difusividade ao longo dos 3 eixos de referência (P. Mukherjee, J.I. Berman, S.W. Chung, C.P. Hess, & R.G. Henry, 2008).

A informação do tensor é geralmente representada visualmente sob a forma de uma elipsóide em que os três raios equatoriais resultam do produto dos vectores próprios com os respectivos valores próprios (Figura 3.2). O eixo principal das elipsóides coincide com a direção principal de difusão no voxel e a forma da elipsóide permite obter uma ideia da anisotropia e simetria respectivas. Como se pode verificar na Figura 3.3, estas elipsóides podem apresentar várias formas distintas consoante o tipo de difusão que descrevem.

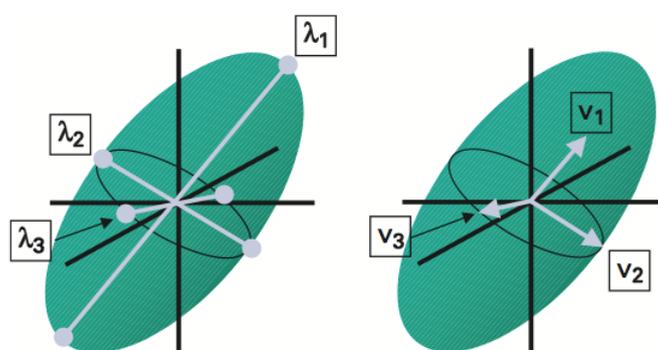


Figura 3.2. A combinação dos valores próprios e vetores próprios permite a representação da informação do tensor na forma de uma elipsóide.

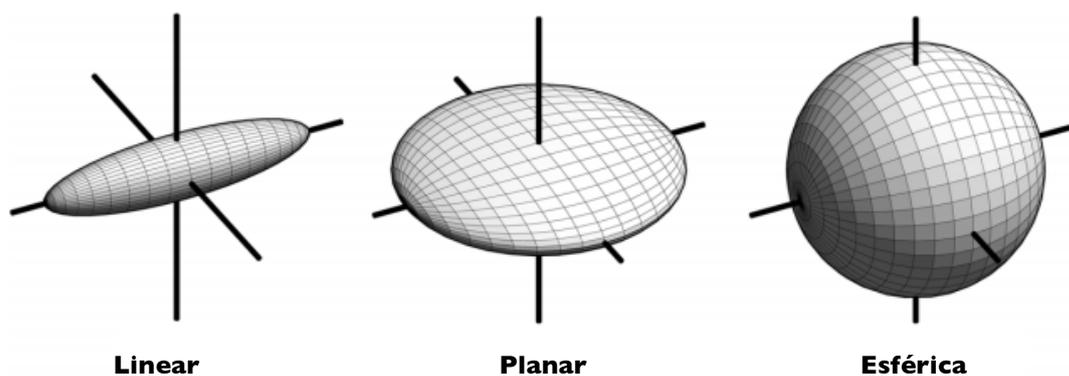


Figura 3.3. Diferentes relações entre a magnitude de difusividade ao longo dos 3 eixos de referência resultam em elipsóides de aspecto diferente. Adaptado de (Malloy et al., 2007).

3.4 Aquisição e pré-processamento dos dados de DTI

Quando se pretendem realizar aquisições de DTI, é necessário ter em conta vários fatores. Não existem atualmente consensos sobre quais serão os melhores parâmetros de aquisição. Na realidade, quando se pretende melhorar um parâmetro, essa escolha envolve, geralmente, uma degradação de outro aspecto da aquisição.

Estas aquisições envolvem a recolha de imagens de RM de difusão segundo várias direções de gradiente. Para tal são utilizadas sequências EPI (*Echo Planar Imaging*) (P Mukherjee et al., 2008). É habitual utilizarem-se mais do que 6 direções de aquisição com o objetivo de melhorar as estimativas dos parâmetros de difusão, contudo, isto implica um aumento no tempo de aquisição. O número e a distribuição das direções pode também variar e é normalmente limitado pelos objetivos do estudo. No entanto, deve-se ter em atenção que a distribuição deve preservar uma amostragem espacial uniforme. Alguns estudos indicam que acima de 30 direções os benefícios de aumentar o número de direções diminuem drasticamente (P Mukherjee et al., 2008).

Às imagens, para cada direção acresce um volume sem ponderação de difusão (também conhecido por volume b_0 por ser utilizado $b = 0$) que servirá de referência para o cálculo da atenuação no sinal de RM. Estabelecendo uma analogia com a equação 3.1, as imagens b_0 equivalem a S_0 e as imagens para cada direção correspondem ao sinal S . Cada aquisição pode ser repetida para melhorar o SNR.

Podem ter que ser tomadas outras decisões relativas a outros parâmetros de aquisição consoante o objetivo do estudo. Na Tabela 3.1 apresentam-se valores típicos para alguns dos parâmetros de aquisição mais importantes em DTI. Refira-se que estes valores não são mandatórios, pretendendo apenas servir como referência.

Tabela 3.1. Parâmetros de aquisição típicos para equipamentos de 1,5 e 3 Tesla³. Adaptado de (P Mukherjee et al., 2008).

Parâmetro	3T	1,5T
Resolução espacial	2,0 x 2,0 x 2,0 mm	2,5 x 2,5 x 2,5 mm
Matriz de aquisição	128 x 128 x 60	96 x 96 x 50
FOV	256 mm	240 mm
Nº de DWIs	30	30
Nº de b0	5	5
Nº de repetições	1	1
b	1000 s/mm ²	1000 s/mm ²
TE	70 ms	70 ms
TR	< 12 s	< 10 s
Tempo de aquisição	< 8 min	< 7 min

As imagens de DTI possuem, por natureza, um elevado conteúdo de ruído. Como tal, é necessário efetuar pré-processamento dos dados para melhorar a sua qualidade. Mais uma vez, apesar de não existir um padrão definido, podem enumerar-se algumas das etapas de pré-processamento mais utilizadas (P Mukherjee et al., 2008):

- **conversão de formato** – a maioria do software utilizados para análise de DTI, utilizam o formato NIFTY/Analyze, contrariamente ao formato standard dos dados em ambiente hospitalar (DICOM);
- **correção de movimentos** – a informação contida nas imagens DWI é altamente localizada e os movimentos da cabeça do paciente podem alterar a posição relativa das estruturas cerebrais. Como tal, é necessário compensar esses movimentos;
- **correção de distorções** – as sequências de aquisição utilizadas são muito sensíveis a correntes residuais. Estas correntes induzem distorções nas imagens DWI que devem ser compensadas.

³ Os equipamentos de RM são habitualmente classificados consoante a intensidade de campo magnético que são capazes de criar e cuja unidade de medida é Tesla (T).

3.5 Visualização dos dados de DTI

A visualização da informação contida no tensor de uma forma intuitiva e perceptível é um dos maiores desafios que se colocam à utilização desta modalidade. A elevada dimensionalidade dos dados e as relações complexas no domínio do tensor de difusão são as duas principais razões para essa dificuldade. Consequentemente, várias foram as alternativas propostas ao longo dos últimos anos para facilitar essa visualização, passando muitas dessas alternativas por uma redução da dimensionalidade para extrair informação relevante do tensor.

As diferentes técnicas podem facilmente ser distinguidas pela dimensionalidade a que o tensor é reduzido ou pela capacidade que possuem para representar informação global ou local. Nas secções seguintes serão apresentados alguns dos métodos de visualização mais comuns, nomeadamente: os índices escalares que reduzem a dimensionalidade do tensor a um valor escalar; os glifos que não reduzem a dimensionalidade do tensor e a tratografia que reduz a dimensionalidade do tensor a apenas 3 dimensões.

3.5.1 Índices Escalares

Na área imagiológica, os profissionais de saúde, em especial, os radiologistas têm muita prática na visualização de índice escalares em imagens bidimensionais. Trata-se de uma forma de visualização clara, simples e de fácil interpretação embora a quantidade de informação que transmite seja limitada. Consequentemente, a visualização de índices escalares tem sido muito utilizada, em especial como método complementar à visualização multidimensional dos dados.

Após a determinação dos vectores e valores próprios que permitem descrever os tensores, um vasto leque de índices escalares podem ser calculados. Uma das métricas mais conhecida é a difusividade média (*mean diffusivity* – MD, muitas vezes também referida como ADC) e consiste na média dos três valores próprios do tensor, como se descreve na equação 3.5. Este escalar indica a presença de barreiras à difusão livre no volume em estudo. Contudo, este valor não inclui informação de direcionalidade, e para tal, utiliza-se outra métrica escalar

designada de anisotropia fracional (*fractional anisotropy* - FA) (Pierpaoli & P J Basser, 1996). Este escalor, baseado no rácio dos valores próprios entre si, consiste num valor entre 0 e 1, em que 0 significa que não existe nenhuma direção preferencial para a difusão (difusão isotrópica) e 1 representa movimento unidirecional (difusão anisotrópica). Os valores de FA podem ser calculados com base na equação 3.6.

$$MD = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} = \frac{D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}}{3} = \frac{\text{Trace}}{3} \quad \text{Equação 3.5}$$

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_2 - \bar{\lambda})^2 + (\lambda_3 - \bar{\lambda})^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}}, \bar{\lambda} = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} = MD \quad \text{Equação 3.6}$$

Apesar dos valores de FA permitirem indicar se existe, ou não, uma direção preferencial para o processo de difusão, esta métrica, como foi descrita anteriormente, não permite identificar a direção. Este obstáculo pode ser ultrapassado pela atribuição de cores distintas a cada vóxel consoante o eixo ortogonal que corresponde à principal direção de difusão (Pajevic & Pierpaoli, 1999). Tipicamente, é atribuída a cor vermelha à direção esquerda-direita, verde para a direção anterior-posterior e azul representa a direção superior-inferior, como se pode ver na imagem do topo inferior direito da Figura 3.4.

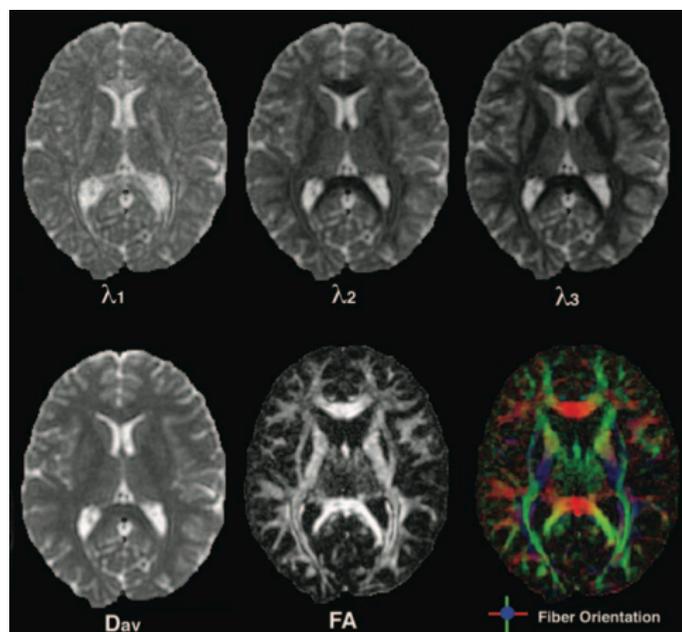


Figura 3.4. Mapas do primeiro, segundo e terceiro valores próprios (linha de cima). Mapa de MD, FA e FA colorido segundo orientação (linha de baixo). Adaptado de (P. Mukherjee et al., 2008).

3.5.2 Glifos

Apesar de ser facilmente interpretável, um mapa escalar permite apenas representar uma característica do tensor de difusão. Contudo é do interesse geral que toda a informação do tensor de difusão possa ser visualizada numa única representação. Para tal foi introduzido o método de visualização por glifos (P. Mukherjee et al., 2008).

Os glifos são objetos gráficos parametrizados que descrevem completamente um tensor de difusão através e.g. do seu tamanho, forma, cor, textura, localização. Uma vez que os glifos possuem normalmente 6 ou mais graus de liberdade, o tensor de difusão pode ser descrito através deste método.

Do conjunto de glifos já utilizados, as elipsóides são o glifo mais popular. Quando foram introduzidas, o seu tamanho foi utilizado para refletir a difusividade média e a orientação refletia a principal direção da difusão. Posteriormente o tamanho da elipsóide foi normalizado, o que permitiu colocar mais elipsóides numa só imagem (Pierpaoli, Jezzard, P J Basser, Barnett, & Di Chiro, 1996). Este tipo de representação permite construir um espaço baricêntrico em que as três formas extremas (anisotropia esférica, linear e planar) constituem os cantos de um triângulo como o que se apresenta na Figura 3.5.A.

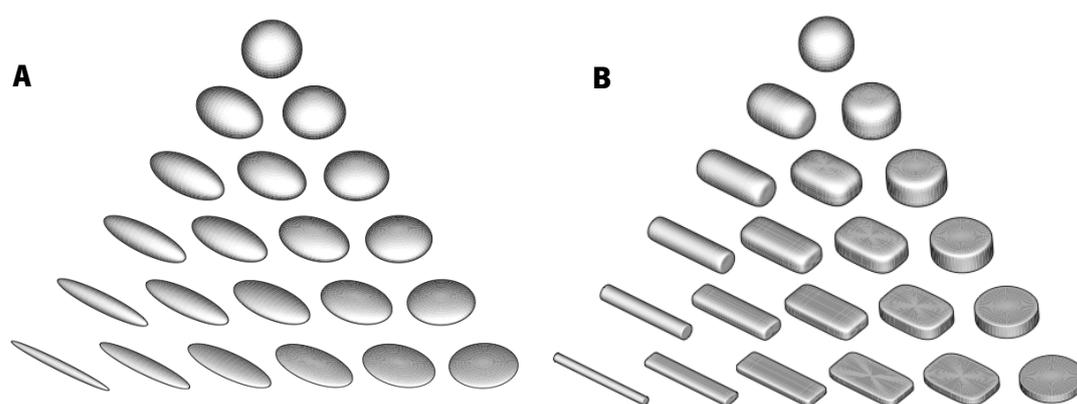


Figura 3.5. Espaço baricêntrico de elipsóides (A) e *superquadrics* (B). Adaptado de (Vilanova et al., 2006).

Os glifos de caixas também permitem mostrar a direccionalidade e comprimentos relativos dos três vectores principais. Além de permitirem verificar facilmente a orientação dos vectores

próprios, a sua simplicidade facilita a reconstrução tridimensional. No entanto, é difícil perceber as formas tridimensionais em visualizações por planos.

Uma outra classe de glifos são os *superquadrics*, adaptados por Kindlmann à visualização de tensores (Vilanova et al., 2006). Este tipo de glifos conjuga formas esféricas, cilindros e caixas para distinguir entre casos isotrópicos, anisotropia planar e linear bem como estados intermédios (Figura 3.5.B). Se por um lado os glifos de caixas são boas representações para anisotropia linear, a simetria rotacional das elipsóides permite identificar melhor a orientação. Os *superquadrics* tentam combinar os pontos fortes de ambas as representações.

A principal desvantagem dos glifos consiste na incapacidade de representar relações e características globais devido às suas características intrinsecamente individuais.

3.5.3 Tratografia

Com a constante evolução dos meios computacionais disponíveis veio facilitar a visualização tridimensional dos dados de DTI. Neste âmbito, a tratografia (das designações anglo-saxónicas *fiber tracking* ou *tractography*) é a técnica mais utilizada e designa o conjunto de processamentos que, baseadas na informação do tensor, permitem obter representações tridimensionais dos feixes de substância branca (Figura 3.6). Nestas representações são evidenciadas as trajetórias e formas desses feixes.

Esta técnica é constituída por três fases distintas (Tournier, Susumu Mori, & Leemans, 2011):

- *seeding* – consiste na definição dos pontos iniciais (*seeds*) a partir dos quais são geradas as fibras;
- propagação – comporta a geração gradual das fibras através de um algoritmo específico;
- terminação – quando é alcançado um dos critérios de paragem, a propagação é terminada.

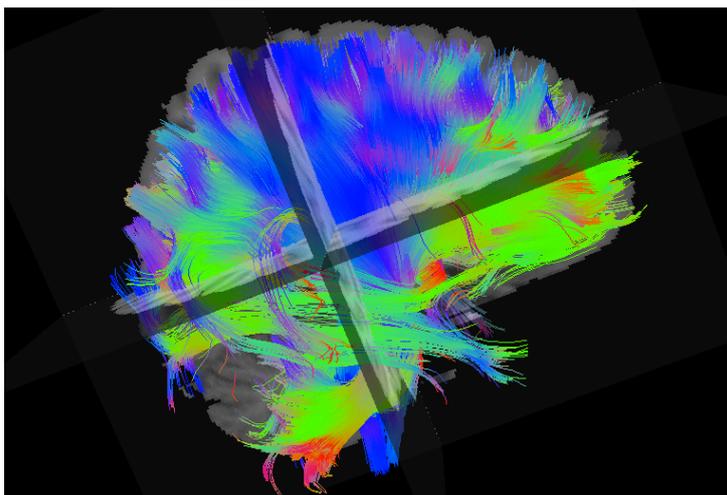


Figura 3.6. Exemplo de uma tratografia realizada a partir os dados de DTI de um indivíduo saudável.

A etapa de *seeding* é uma das mais importantes e pode introduzir uma elevada variabilidade nos resultados. Tipicamente, os pontos iniciais ou *seeds* são definidos pelo utilizador sob a forma de regiões de interesse ou ROIs (*Regions Of Interest*) (S Mori, Crain, Chacko, & van Zijl, 1999). O interior destas ROIs é depois alvo de uma amostragem da qual resulta um conjunto de pontos que servirão para iniciar a geração das fibras. Embora esta seja uma estratégia de *seeding* muito utilizada, algumas características dos dados possivelmente importantes, podem ser omitidas. Como alternativa, podem ser utilizadas estratégias de *seeding* automáticas que requerem menos intervenção do utilizador e permitem efetuar a tratografia a todo o volume cerebral (Conturo et al., 1999). A principal desvantagem desta alternativa é a dificuldade de interpretação dos dados. No entanto, a inclusão de ROIs à posteriori como forma de seleção de fibras tem sido utilizada para colmatar esta dificuldade .

Durante a propagação, a geração gradual das fibras é resolvida por integração numérica que pode ser implementada com vários algoritmos. Estes algoritmos, também designados de algoritmos de propagação podem ser subdivididos em duas categorias: algoritmos determinísticos e algoritmos probabilísticos. Os primeiros fornecem um modelo dos parâmetros enquanto os segundos produzem distribuição de probabilidades da estimativa. De uma forma mais simples, as abordagens determinísticas geram uma fibra estimada por cada *seed* enquanto as abordagens probabilísticas geram múltiplas estimativas de fibras para cada *seed* com uma distribuição de probabilidades subjacente.

Um dos primeiros algoritmos de propagação determinística a serem utilizados na geração de fibras foi o FACT (*fiber assignment by continuous tracking*) (S Mori et al., 1999). O princípio fundamental deste algoritmo é o de que a direção de uma fibra reconstruída que passa num determinado voxel deverá ser paralela ao vector principal do voxel (ϵ_i) associado ao valor principal correspondente (λ_i). Em cada voxel, o feixe é um segmento definido pela posição de entrada no voxel, direção do vector principal e que termina na fronteira desse voxel com o voxel seguinte (Figura 3.7). Este processo é propagado voxel a voxel até se atingir um critério de paragem. Neste tipo de algoritmo, a trajetória é formada por um conjunto de segmentos de comprimento variável.

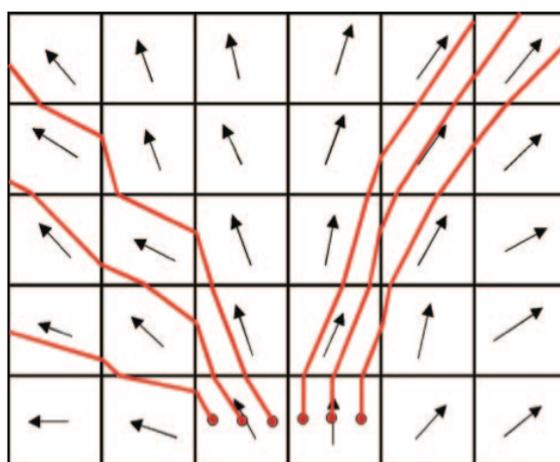


Figura 3.7. Demonstração do método de propagação implementado pelo algoritmo FACT. Adaptado de (P. Mukherjee et al., 2008).

Outros algoritmos mais complexos foram propostos, nomeadamente a tratografia por *streamlines* segundo a qual a trajetória de uma fibra é uma trajetória curva no espaço tridimensional definida pelo vector tangente a essa curvatura ($r(s)$), parametrizado pelo comprimento de arco (s) (P. Mukherjee et al., 2008). Assim, a tratografia consiste em resolver a seguinte equação diferencial:

$$\frac{dr(s)}{ds} = \epsilon_1(r(s)) \quad \text{Equação 3.7}$$

em que ϵ_i denota o vector principal calculado para cada posição. Para a resolução da equação 3.7 podem ser utilizados os métodos de Euler ou então os métodos Runge-Kutta de 2ª ou 4ª ordem.

Outros algoritmos são também utilizados, como é o caso do *tensor deflection* (Lazar et al., 2003) que defletem a direção de propagação na direção do principal vector próprio com uma

curvatura limitada e o *tensorline* (Weinstein, Gordon L. Kindlmann, & Lundberg, 1999) que, na definição da direção de propagação, utiliza também a informação dos vóxeis vizinhos.

Os algoritmos probabilísticos incorporam nos resultados um grau de incerteza e podem produzir uma métrica de conectividade para cada vóxel. Pretendem ainda fornecer alguma estimativa da confiança que se pode depositar na localização das fibras. Para calcular a função de probabilidades da orientação das fibras podem ser utilizadas funções empíricas baseadas nos valores de FA, modelos Bayesianos ou outras estatísticas. O algoritmo PICO (Weinstein, Gordon L. Kindlmann, & Lundberg, 1999) e o algoritmo desenvolvido por (Parker, Haroon, & Wheeler-Kingshott, 2003) são alguns dos mais utilizados. Na Figura 3.8 apresenta-se o resultado de uma tratografia probabilística que resultou da colocação de um ROI de *seeding* no feixe corticoespinal.

Por fim, os critérios de paragem definem em que condições a representação das fibras deve ser terminada, evitando assim que sejam geradas em localizações onde a robustez do campo vectorial não é garantida. Nas regiões onde ocorre difusão isotrópica, o valor de ϵ_i pode ser considerado aleatório e como tal, deixa de permitir efetuar uma analogia com possíveis estruturas fibrosas. Assim, tipicamente, é definido um limite de FA (Conturo et al., 1999) abaixo do qual se considera que o campo vectorial não é robusto e a propagação das fibras deve terminar. Outro critério muito utilizado consiste no estabelecimento de um ângulo de curvatura limite a partir do qual se considera que é pouco provável que as fibras possuam uma curvatura tão acentuada, terminando a propagação (P J Basser et al., 2000).

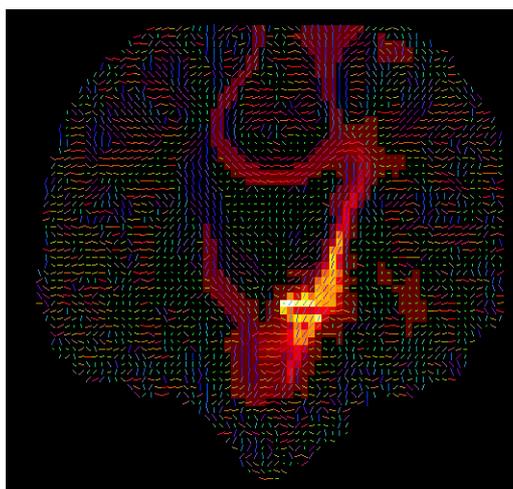


Figura 3.8. Exemplo dos resultados de uma tratografia probabilística.

Uma das principais limitações da tratografia consiste na identificação de fibras que se cruzam num vóxel (Frank, 2001). Nestas situações, a informação contida no tensor não é suficiente para distinguir se trata de um único feixe linear ou vários que se cruzam no mesmo local (Figura 3.9). Isto leva à geração de fibras que não traduzem eficazmente a anatomia subjacente.

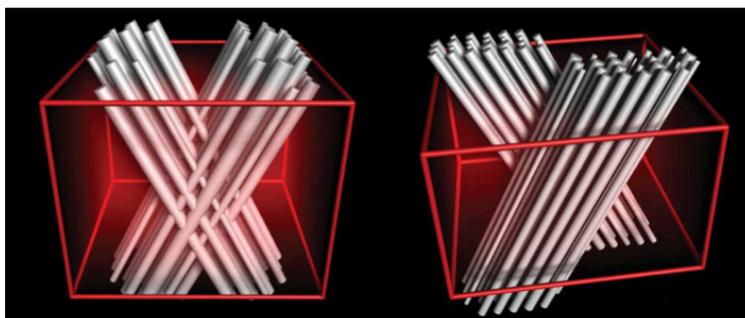


Figura 3.9. Duas situações em que o cruzamento de fibras pode conduzir a geração de fibras com a orientação errada. Adaptado de (Tournier et al., 2011).

3.6 Análise Quantitativa

Apesar das várias técnicas de visualização dos dados de DTI, mesmo com técnicas tão intuitivas como os mapas de índices escalares e a tratografia, na maior parte dos casos, os resultados não são óbvios pela simples observação visual. Como tal, várias abordagens para quantificar analiticamente esses resultados foram introduzidas consoante as necessidades. Nas secções seguintes enunciam-se algumas dessas abordagens, nomeadamente, a abordagem por regiões de interesse (ROI), a abordagem VBM (*Voxel-Based Morphometry*), a tratografia quantitativa e ainda a análise TBSS (*Tract-Based Spatial Statistics*).

3.6.1 Abordagem por ROIs

As abordagens por ROIs são das abordagens mais populares em várias modalidades imagiológicas. Com efeito, frequentemente, o objetivo de um estudo envolve a análise de uma região anatómica conhecida.

Este tipo de abordagem segue esse princípio e consiste na delimitação de uma região cerebral específica sobre a qual incidirá a análise quantitativa. Posteriormente, vários tipos de métricas (FA e MD, por exemplo) podem ser extraídas como forma de caracterizar o processo de difusão nas regiões em estudo (Tournier et al., 2011).

A utilização desta análise é especialmente adequada nas situações em que se pretende testar uma hipótese, definida *à priori*, envolvendo uma região bem delimitada. Outra vantagem consiste no facto de não serem necessárias algumas etapas de pré-processamento (como normalização), que em termos computacionais são exigentes e podem introduzir erros.

Como qualquer outra abordagem, existem também algumas limitações inerentes a esta abordagem. A definição das ROIs é exigente em termos de dispêndio de tempo e requer um elevado nível de experiência e conhecimento de anatomia cerebral por parte do técnico ou investigador. Mesmo um investigador experiente corre o risco de incluir inadvertidamente vóxeis indesejáveis que podem provocar alterações significativas nos resultados. Para minimizar a ocorrência ou efeito destas limitações tomam-se medidas como a utilização de mapas de regiões cerebrais ou a definição de critérios específicos que permitam a delimitação clara e replicável das ROIs.

3.6.2 Voxel-Based Morphometry (VBM)

A abordagem *Voxel-Based Morphometry* segue um princípio oposto ao da abordagem por ROIs permitindo o estudo exploratório do volume cerebral como um todo através de uma análise baseada nos vóxeis (Ashburner & K J Friston, 2000). Não sendo necessárias hipóteses definidas *à priori*, tipicamente este tipo de análise envolve as seguintes etapas:

- normalização das imagens para um espaço comum de referência, para que análise não seja comprometida por variabilidade anatômica entre sujeitos;
- suavização espacial para que a informação de elevada frequência espacial não interfira na análise;
- segmentação (opcional mas geralmente utilizada) para produzir mapas independentes para a substância branca, substância cinzenta e fluido cerebrospinal (*Cerebrospinal Fluid* - CSF).

- análise estatística dos dados voxel-a-voxel.

Neste tipo de análise, as métricas mais utilizadas são os valores de FA e MD. O alinhamento espacial permite que um voxel de um grupo possa ser diretamente comparado com um voxel do outro grupo. Assim, as análises estatísticas de VBM podem envolver comparações de grupos, correlações entre voxels ou outro tipo de medida voxel-a-voxel.

As principais vantagens desta abordagem consistem no facto de incluírem na análise todo o volume cerebral permitindo a análise como um todo, sem ser necessária uma hipótese inicial. Além disso, tratando-se de uma metodologia automatizada, os erros devido à ação do técnico/investigador são reduzidos.

De salientar contudo que, no caso do processo de normalização não ser efetuado com precisão, os resultados podem ser comprometidos pela variabilidade entre sujeitos.

3.6.3 Tratografia Quantitativa

Traçar linhas a partir dos dados dos tensores com o intuito de representar os feixes de substância branca subjacentes pode ser útil. Essa utilidade advém do grau de coerência que é possível quantificar para esses feixes. Com este intuito, vários métodos foram desenvolvidos para analisar conjuntamente a informação geométrica contida na tratografia e as métricas escalares.

Das abordagens deste tipo, uma das mais comuns é a análise por feixes de interesse (*Tracts of Interest* - TOI). Neste tipo de análise a tratografia efetuada ao cérebro todo é segmentada em TOIs ou então são gerados TOIs a partir de *seeds* colocados em regiões específicas. À semelhança das abordagens por ROIs, esta metodologia pressupõe uma hipótese definida à priori, neste caso um feixe específico. Posteriormente à seleção do TOI, as métricas escalares podem então ser extraídas dos voxels que compõe esse TOI, permitindo descrever o processo de difusão nesse feixe. Outras métricas como a densidade e o comprimento das fibras podem ser utilizadas como informação complementar já que demonstram sensibilidade a alterações na substância branca (Correia et al., 2008).

O aspecto mais positivo desta técnica é o facto de permitir a seleção de feixes individuais que, através da utilização de escalares, seriam de difícil localização devido à sua geometria complexa. Por outro lado, tal como na seleção de ROIs, a seleção de TOIs requer alguém experiente para a isolar corretamente o feixe de interesse. Além disso, a tratografia é computacionalmente exigente e a seleção de TOIs pode ser temporalmente dispendiosa. Acresce também o facto de pequenos feixes poderem ser difíceis de localizar e levem muitas vezes a erros.

3.6.4 Tract-Based Spatial Statistics (TBSS)

Outro tipo de análise voxel-a-voxel que pode ser utilizado nos dados de DTI designa-se de *Tract-Based Spatial Statistics* (TBSS) e permite estudar feixes de grandes dimensões do cérebro humano em estudos de grupo (S M Smith et al., 2006).

O principal pressuposto para a utilização desta técnica é o de que o valor máximo de FA surge no centro dos feixes de matéria branca um e modelo de *skeleton*⁴ tridimensional pode ser construído a partir destes valores de FA. A etapa inicial da análise consiste num alinhamento não linear dos mapas de FA de cada indivíduo. É então criado um mapa de FA com a média dos outros valores de FA que é depois utilizado para gerar o *skeleton* referido. Posteriormente, os mapas cerebrais individuais são alinhados com o *skeleton* através de um alinhamento local dos valores máximos de FA dos feixes de cada sujeito com o *skeleton*. O mesmo processo se aplica-se a outros mapas escalares. Na Figura 3.10 pode observar-se um *skeleton* de FA criado para uma análise de grupos.

É o mapeamento de máximos locais com *skeletons* que torna a análise TBSS única, permitindo análises de grupo voxel-a-voxel e não sendo necessárias mais etapas de normalização espacial.

⁴ *Skeleton* (tradução literal de esqueleto) designa uma estrutura que serve de referência/suporte.

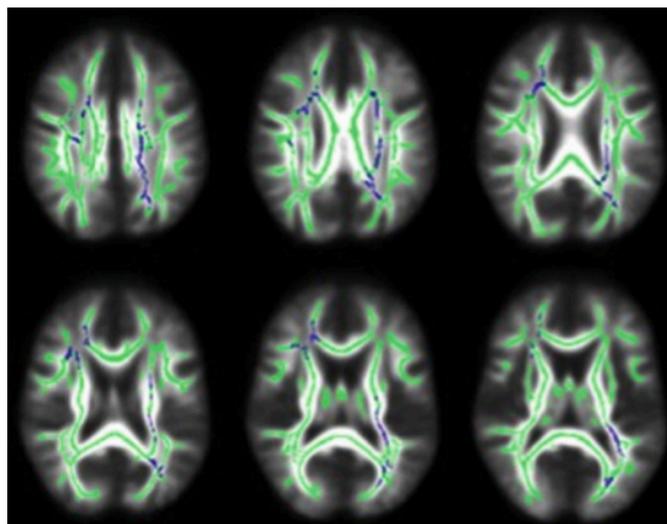


Figura 3.10. *Skeleton* de FA criado para uma análise TBSS (verde) sobreposto à média de FA (imagens em escala de cinzento) e diferenças significativas entre valores de MD de dois grupos (azul). Adaptado de (R. Cohen & Sweet, 2010).

3.7 Aplicações Clínicas

Uma vez que a modalidade de DTI permite obter informação acerca da orientação das estruturas fibrosas no interior do crânio, podem ser encontradas na literatura aplicações clínicas numa grande variedade de condições.

Em termos clínicos, uma das maiores aplicações desta modalidade consiste na identificação de derrames cerebrais. Com efeito, além de alterações nos valores de FA e MD, tem sido demonstrada uma elevada correlação entre feixes de fibras eloquentes e pequenos derrames. Com efeito, os resultados da tratografia apresentam uma correlação acentuada com os sintomas clínicos. Esta modalidade pode ainda ser utilizada como forma de prever a evolução clínica dos pacientes após o derrame (A. Kunitatsu et al., 2007).

A tratografia via DTI tem vindo a ser utilizada também no planeamento cirúrgico a tumores, permitindo evidenciar os feixes neuronais que podem ser postos em causa na remoção desses tumores. O trato piramidal é um dos feixes que tem recebido maior atenção devido à sua importância na atividade da vida quotidiana (Coenen et al., 2001).

Outras patologias associadas a alterações ou lesões na substância branca podem ser identificadas através da tratografia por se manifestarem em diferentes padrões de alteração da

substância branca. Estas patologias incluem a epilepsia, esclerose múltipla, doença de Parkinson, doença de Alzheimer, esquizofrenia, doença de Krable, dependência do álcool, entre outras (C. G. Filippi, Uluğ, Ryan, Ferrando, & van Gorp, 2001; Le Bihan et al., 2001; Sundgren et al., 2004).

As aplicações da tratografia não se limitam ao âmbito clínico e à identificação de patologias. De facto, esta técnica tem sido utilizada no estudo do envelhecimento saudável do cérebro humano (Michael Moseley, 2002). Nestes estudos, procuram-se identificar padrões de evolução no cérebro humano passíveis de serem identificados através de DTI, tais como a diminuição de FA e o aumento de MD ao longo do envelhecimento saudável. Isto só é possível uma vez que as fibras mielinizadas possuem maior anisotropia, ou seja, os valores de anisotropia variam com o desenvolvimento das fibras neuronais.

Capítulo 4

Fluxo de processamento de RMf e DTI

Ideias chave:

- Atualmente, o processamento dos dados de RMf e DTI é realizado recorrendo a software específico para cada modalidade.
- Uma característica comum a muitas das ferramentas utilizadas é a disponibilização de programas de linhas de comandos.
- O fluxo de processamento concebido inclui um conjunto de etapas de pré-processamento, a análise dos dados de cada modalidade e etapas de pós-processamento que permitem conjugar os resultados.
- Os procedimentos aplicados em cada etapa forma definidos tendo em conta os estudos de combinados de RMf e DTI cerebral mais relevantes.
- Foram definidos valores padrão para os parâmetros de cada etapa e foi selecionada uma ferramenta informática de licença gratuita para a sua implementação.

Os estudos de conectividade cerebral têm vindo a assumir um destaque crescente no seio da comunidade científica e também no âmbito clínico. Sendo esta uma área recente, muitos dos investigadores/profissionais que pretendem realizar este tipo de estudos deparam-se com diversas dificuldades iniciais, quer nas análises de RMf, quer em análises de DTI. É comum as imagens serem processadas de forma sequencial, i.e. são estabelecidos fluxos de trabalho ou processamento. Contudo, apesar de se ter efectuado uma busca exaustiva na literatura desta área não foi encontrada nenhuma referência concreta a um fluxo de trabalho relativamente ao processamento e análise conjunta das imagens de RMf e DTI, não se encontrando, além disso, padrões de processamento estabelecidos. Apesar de existirem alguns fluxos de trabalho implementados em software para o processamento individual de cada modalidade, em muitos casos a informação é escassa. A análise conjunta envolve sempre a utilização de software de diferentes proveniências, muitas vezes com problemas de interoperabilidade devido à adoção de formatos de dados diferentes. A estas dificuldades acresce o número de variáveis que são

disponibilizadas ao utilizador (e.g., funções de procura para alinhamentos, funções de interpolação, algoritmos específicos, matrizes de transformações espaciais) que, na ausência de conhecimentos muito técnicos e devido à falta de consensos sobre quais as melhores opções, só dificultam o trabalho de quem realiza a análise e introduz variabilidade nos resultados obtidos por diferentes utilizadores.

Esta falta de informação e de padronização despertou o interesse no estabelecimento de um fluxo de processamento que permitisse aos interessados neste tipo de análise intermodal, com um nível básico de conhecimentos técnicos, partirem dos dados que possuem e alcançarem os respectivos resultados. Pretende-se assim simplificar o processamento dos dados, estabelecer um fluxo de trabalho objetivo e que implemente os procedimentos processamento mais adequados.

Nas primeiras secções deste capítulo será apresentado o resultado da análise das ferramentas informáticas mais utilizadas neste tipo de análises, destacando as principais características de cada solução. Posteriormente será apresentado o fluxo de trabalho concebido no âmbito deste projeto de investigação, incluindo uma explicação detalhada das suas etapas, os procedimentos empregues a forma como serão implementadas.

4.1 Análise de Requisitos

Os fluxos de processamento são uma solução cada vez mais utilizada no processamento dos dados neuroimagiológicos. Contudo, como foi mencionado anteriormente, vários problemas podem ainda ser encontrados.

Com este trabalho pretendeu-se conceber um fluxo de processamento direcionado para a conjugação dos resultados de análises das modalidade neuroimagiológicas de RMf e DTI. Tendo como objetivo constituir uma solução estruturada e padronizada para o processamento dos dados, definiu-se o seguinte conjunto de requisitos:

- permitir o processamento dos dados e a conjugação dos resultados das análises de RMf e DTI;
- implementar as etapas consideradas mais importantes no processamento dos dados das duas modalidades;

- apresentar uma estrutura modular, isto é, cada etapa deverá ser implementada individualmente;
- os parâmetros utilizados nas etapas de processamento deverão ser otimizados e devem ser criteriosamente definidos valores padrão;
- utilizar apenas software de licença gratuita na implementação das etapas incluídas e minimizar o número de fornecedores diferentes;
- utilizar programas cuja execução possa ser posteriormente automatizada.

4.2 Software disponível para processamento de RMf e DTI

Existe atualmente um vasto leque de soluções de software disponíveis para o processamento e análise de dados de RMf e DTI.

Importa assim fazer um levantamento das soluções disponíveis para se poder optar por aquelas que melhor se adaptam às necessidades do fluxo de processamento proposto. É de referir que o objetivo desta descrição não é pôr em causa as capacidades de cada solução, nem discutir qual a melhor ferramenta, mas sim expor as suas principais características e potencialidades. Após esta análise é possível perceber quais as etapas que são passíveis de serem implementadas e em que condições.

O levantamento das aplicações/ferramentas apresentadas de seguida baseou-se na relevância demonstrada pelo número de publicações que referem a sua utilização. Uma vez que se tratam de duas modalidades de RM distintas, facilmente se distingue entre software específico para uma e outra modalidade. Algumas ferramentas mais completas permitem o processamento de dados de ambas as modalidades, embora não permitam relacionar os resultados obtidos.

4.2.1 Aplicações informáticas para RMf

4.2.1.1 AFNI

Um dos pacotes de software mais utilizado em análises de RMf é o AFNI (Analysis of Functional NeuroImages) (Michael Moseley, 2002). Trata-se de um conjunto de programas escritos na linguagem de programação C, distribuídos gratuitamente e especialmente desenvolvidos para o processamento, análise e visualização de imagens de RMf.

As versões existentes estão disponíveis para os sistemas operativos Linux e MacOS X, estando disponível o código fonte da maioria dos programas. Estes programas podem ser executados a partir das linhas de comando, sendo também disponibilizadas algumas interfaces gráficas que tornam a sua utilização mais intuitiva. Destacam-se, da variedade de funções disponibilizadas, a capacidade de alternar visualizações e análises de diferentes conjuntos de dados, os modos de visualização, visualização gráfica das séries temporais, transformações para o espaço de coordenadas de Talairach e análise GLM.

A variedade de programas e operações disponibilizados permite aplicar às imagens de RMf, pela combinação de vários comandos, as operações de processamento necessárias sem ser necessário recorrer a outro software. Para automatizar o processamento e as análises de RMf utilizando o AFNI é comum recorrer-se ao desenvolvimento de scripts⁵ personalizados.

4.2.1.2 BrainVoyager QX

O BrainVoyager QX é uma aplicação com custos de licença de utilização, especialmente desenvolvida para a análise e visualização de imagens funcionais e estruturais de RM (Goebel, 2011a). Esta aplicação é propriedade da Brain Innovation B.V. e encontra-se disponível para as principais plataformas computacionais como Windows, Linux e MacOS X. Trata-se de software desenvolvido com o intuito de facilitar e tornar mais intuitiva a manipulação dos

⁵ Programa constituído por uma sequência de comandos.

dados de RM. Como tal, possui variadas funcionalidades 3D e interfaces gráficas de fácil utilização cujo aspecto se mantém, independentemente do sistema operativo.

Tratando-se de um software especialmente concebido para o efeito, as suas funcionalidades encontram-se mais vocacionadas para o pré-processamento das imagens de RMf, análises GLM e para a visualização dos resultados em reconstruções tridimensionais.

Possui ainda uma grande variedade de funcionalidades adicionais das quais se destaca a análise de componentes independentes (Goebel & Esposito, 2010). Neste caso, é empregue uma análise espacial com recurso ao algoritmo FastICA.

4.2.1.3 FSL

O FSL (FMRIB Software Library) é uma biblioteca de programas especialmente desenvolvida para análise de dados de RM estrutural, RMf e DTI (FMRIB, n.d.). Este conjunto de programas é um dos mais utilizados em investigação e dos mais referidos em publicações científicas. É desenvolvido pelo grupo FMRIB de Oxford, distribuído gratuitamente e disponível para as plataformas Linux e MacOS X. Os programas que compõe esta biblioteca encontram-se todos disponíveis sob a forma de programas para linha de comandos, sendo também disponibilizadas algumas interfaces gráficas. Nas análises de RMf destacam-se dois módulos distintos: o FEAT (FMRI Expert Analysis Tool) e o MELODIC (Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components).

O primeiro permite efetuar análises GLM. Utilizando a interface gráfica deste módulo o utilizador pode ainda aplicar um conjunto de etapas de pré-processamento que incluem a correção de movimentos, extração da linha do crânio, normalização, suavização e filtragem de frequências.

O FSL-MELODIC possibilita efetuar análises de componentes independentes, neste caso também designada de análise de componentes independentes probabilística (PICA – Probabilistic ICA). Neste tipo de análise o programa deteta automaticamente o número de fontes de ruído e de sinal de interesse, criando um “modelo de ruído” que permite atribuir aos mapas resultantes valores de significância.

4.2.1.4 GIFT

O GIFT (Group ICA of fMRI Toolbox) é uma aplicação MATLAB concebida para efetuar inferências de grupo a partir dos dados de RMf, utilizando a análise de componentes independentes (MIALAB, n.d.). A licença de utilização é gratuita e, por ser desenvolvida para MATLAB, pode ser executada em qualquer plataforma que suporte MATLAB. Atualmente é uma das ferramentas mais utilizadas em análises ICA.

Criada com o apoio do NIH (*National Institute of Health*), além de permitir o cálculo das componentes independentes, disponibiliza outras funcionalidades como a ordenação automática das componentes segundo o grau de correlação com um mapa espacial ou com uma série temporal definida à priori. Apesar do seu principal propósito serem as análises de grupo, pode também ser utilizada para análises de apenas um sujeito e uma sessão.

4.2.1.5 REST

Yan e Zhang desenvolveram em conjunto uma nova ferramenta, designada de Resting-State fMRI Data Analysis Toolkit (REST), com o objetivo de permitir realizar análises de conectividade funcional através dos dados de RMf em repouso (Yan, 2011). Esta ferramenta simples não é mais do que uma *toolbox* para MATLAB que disponibiliza compatibilidade com o SPM (Statistical Parametric Mapping). Tal como a maioria das aplicações desenvolvidas para fins de investigação, a sua licença é gratuita e, enquanto *toolbox* para o MATLAB, pode ser executada nas plataformas Linux, Windows e MacOSX.

Além de análises de Conectividade Funcional, é também possível efetuar análises de Homogeneidade Regional (ReHo – *Regional Homogeneity*), Amplitude de Flutuação de Baixa Frequência (ALFF – *Amplitude of Low-Frequency Fluctuation*), ALFF fracional (fALFF – *fractional ALFF*), causalidade de Granger e análises estatísticas.

Inicialmente, a compatibilidade com o SPM servia para permitir o pré-processamento das imagens de RMf e para as análises estatísticas utilizando esta última ferramenta. Contudo, os mesmo investigadores desenvolveram uma nova *toolbox* MATLAB designada de Data Processing Assistant for Resting-State fMRI (DPARSF) que veio facilitar o pré-processamento

das imagens através da implementação de um fluxo de trabalho bem definido cujas etapas são implementadas com recurso às funções disponibilizadas pelo SPM (Yan & Zang, 2010).

4.2.1.6 SPM

O pacote de software SPM é um conjunto de programas para MATLAB que permite a análise de dados de imagiologia cerebral em geral, em que se inclui a RMf (Yan & Zang, 2010). Foi desenvolvido por um grupo de investigadores do Wellcome Department of Imaging Neuroscience do University College of London e, apesar de ter sido inicialmente desenvolvido para analisar imagens de PET, atualmente é o software mais utilizado em análises de RMf. Com efeito, a maioria das análises estatísticas são efetuadas utilizando o SPM e as suas funcionalidades e outputs tornaram-se como que um standard de referência na literatura. Encontra-se disponível gratuitamente para as arquiteturas UNIX (Linux e MacOS X) e Windows.

Na análise de RMf é utilizado um módulo próprio que permite realizar o pré-processamento das imagens, incluindo operações de correção de movimentos, correção de tempos de aquisição, normalização para MNI e suavização. Permite ainda efetuar análises GLM e calcular vários tipos de estatísticas para análises intra-sujeito e inter-sujeito. É também disponibilizado um visualizador e os resultados são apresentados de forma estruturada.

4.2.2 Aplicações informáticas para DTI

4.2.2.1 BrainVoyager QX

Apesar de ser uma aplicação especialmente concebida para análises de dados de RM estrutural e RMf, permite também realizar estudos de difusão (Goebel, 2011b). Com efeito, é possível utilizar esta aplicação para calcular os tensores a partir das imagens de difusão e visualizar os mapas de ADC e FA resultantes em reconstruções tridimensionais.

Além do cálculo dos tensores, é possível efetuar também dois tipos de tratografia com princípios distintos. No primeiro, designado de “tratografia interativa”, o processo de geração

de fibras é inicializado interativamente a partir de uma *seed* posicionada manualmente pelo utilizador. Por outro lado, a “tratografia a partir de regiões de interesse” utiliza regiões de interesse como volumes de *seeding* para a tratografia.

4.2.2.2 DTIStudio

O DTIStudio é um programa desenvolvido para sistemas Windows pelo Departamento de Radiologia da Universidade Johns Hopkins nos Estados Unidos para o processamento de dados de DTI (Laboratory Of Brain Anatomical MRI, 2011). Esta aplicação possui licença gratuita e é uma das mais utilizadas em análises de DTI.

Entre as funcionalidades que possui destaca-se a capacidade de importar imagens em vários formatos (e.g. DICOM e NIfTI), um visualizador, o cálculo dos tensores e mapas de índices escalares, tratografia determinística, visualização tridimensional dos resultados da tratografia e computação de estatísticas por ROIs e TOIs. O único algoritmo de propagação empregue é o FACT, sendo geradas *seeds* apenas no centro de cada vóxel.

De destacar ainda que, no módulo de visualização das imagens, este software facilita a inspeção da qualidade das imagens DWI através da apresentação das imagens da média e desvio padrão para cada aquisição.

4.2.2.3 FSL

Tratando-se de uma biblioteca de software bastante completa, o FSL inclui também programas para o processamento e análise de dados de DTI. Neste tipo de estudos destacam-se os módulos FDT (FMRIB Diffusion Toolbox) e TBSS (Tract Based Special Statistics) (FMRIB, n.d.; S M Smith et al., 2006).

O FDT foi originalmente criado com o intuito de suplantar um problema intrínseco da tratografia normal – a geração determinística de fibras. Como tal, desenvolveram um método que designaram de tratografia probabilística. Neste tipo de tratografia são gerados mapas estatísticos que quantificam até que ponto é provável que uma fibra exista numa determinada

localização. São disponibilizados ainda programas que permitem realizar algum pré-processamento às imagens de difusão, nomeadamente a correção de distorções causadas por correntes residuais.

O módulo TBSS implementa a técnica com o mesmo nome e permite efetuar estudos de grupo com base nos mapas de FA. Esta análise é única por se basear no alinhamento local dos valores máximos de FA dos feixes de cada sujeito com um *skeleton* de FA criado para o efeito. Este *skeleton* de FA é criado com base no alinhamento não linear dos mapas de FA de cada sujeito. Desta forma é possível realizar análises ao nível dos vóxeis devido ao facto dos dados originais não terem sofrido transformações não lineares nem suavizações espaciais.

Os princípios desta análise foram já descritos e é apenas disponibilizada pela biblioteca FSL.

4.2.2.4 MedINRIA

O MedINRIA é uma aplicação desenvolvida pelo grupo INRIA no âmbito do projeto ASCLEPIOS (FMRIB, n.d.; S M Smith et al., 2006). Esta aplicação reúne uma coleção de software concebido com objetivo de fornecer algoritmos para o processamento e visualização de imagens médicas. Trata-se de software de licença grátis para fins não comerciais e pode ser utilizado em sistemas Linux, Windows e MacOS X.

Apesar de não ter sido criado apenas para a realização de tratografia, esta é a sua maior funcionalidade. Apresenta, por isso, um módulo dedicado exclusivamente para este propósito. Este módulo permite levar a cabo as seguintes operações: reconstruções tridimensionais de imagens de RM, cálculo os tensores e vários mapas escalares, visualização dos tensores, tratografia, análises quantitativas por ROIs e TOIs. O algoritmo utilizado na tratografia utiliza o método de propagação Tensorline.

4.2.2.5 Slicer

O Slicer, também designado de 3D Slicer, é uma biblioteca de software que permite a visualização e análise de imagens médicas (BWH, 2011). Encontra-se disponível em versões

para várias plataformas como Windows, MacOS X e Linux e foi criado sob a forma de uma plataforma comunitária para análises individuais, permitindo a visualização de imagens de várias modalidades (e.g. RM e TC). A licença é grátis e trata-se de software *open source*, podendo por isso ser utilizado para desenvolvimento.

Esta solução apresenta uma estrutura modular, sendo que cada módulo permite a execução de uma tarefa específica. Desta forma, podem ser implementados fluxos de trabalho pela simples utilização sequencial de vários módulos.

Apesar de grande parte dos módulos existentes serem preferencialmente vocacionados para estudos anatómicos, vários módulos foram desenvolvidos por diferentes autores para estudos de difusão. Atualmente esses módulos permitem diminuir o nível de ruído nas imagens de difusão, calcular os tensores e mapas escalares e realizar a tratografia. Para a tratografia, existem módulos diferentes que implementam diferentes tipos de tratografia: tratografia a partir de áreas de Broadmann selecionadas, tratografia determinística a partir de pontos de referência definidos interativamente pelo utilizador e ainda tratografia probabilística.

4.2.2.6 TrackVis

O TrackVis é uma ferramenta informática especialmente concebida para visualizar e analisar os dados resultantes da tratografia (Ruopeng & Wedeen, 2010). É uma aplicação de licença gratuita para fins não comerciais e pode ser utilizada nas plataformas Windows, MacOS X e Linux. Além dos dados de DTI permite analisar dados de outras análises de RM de difusão.

A aplicação TrackVis propriamente dita serve apenas para a visualização dos resultados da tratografia. Desta forma permite observar e manipular todos os feixes de fibras gerados, alterar a forma de visualização e realizar análises quantitativas por ROIs e TOIs. Contudo, para efectuar o cálculo dos tensores e a tratografia propriamente dita, é necessário utilizar uma outra ferramenta – o Diffusion Toolkit – disponibilizada conjuntamente com o TrackVis. Esta segunda ferramenta fornece ao utilizador a oportunidade de calcular os tensores a partir dos dados originais, calcular vários índices escalares e ainda determinar o algoritmo de propagação a ser utilizado (FACT, propagação de streamlines com o método de Euler e Runge-Kutta de 2ª ordem e Tensorline).

Apesar das interfaces fornecidas, todas as funcionalidades do TrackVis e do Diffusion Toolkit encontram-se disponíveis sob a forma de programas de linha de comandos, o que facilita a sua integração em scripts personalizados para utilizadores mais experientes. Na realidade, o Diffusion Toolkit não é mais do que uma simples interface para facilitar a introdução dos parâmetros necessários à execução dos programas subjacentes.

4.3 Análise comparativa

Como o objetivo do fluxo desenvolvido passa por utilizar algumas das soluções de software existentes, interessa perceber quais as características e capacidades de cada solução. Assim, pretende-se comparar cada ferramenta com o único objetivo de facilitar as futuras escolhas para inclusão no fluxo de processamento. O objetivo desta comparação não passa por discutir a qualidade dos algoritmos implementados, nem sobrepor uma solução a qualquer outra.

Para a avaliação comparativa das soluções informáticas apresentadas anteriormente foi necessário determinar quais as características a serem avaliadas. Optou-se por fazer uma divisão entre características gerais, características únicas de software para análises funcionais e para análises de difusão.

A Figura 4.1 sintetiza os resultados da avaliação efetuada. A numeração atribuída a cada característica respeita a numeração identificada na enunciação das características analisadas. No que diz respeito às características gerais, foram incluídas as seguintes:

- I – URL – endereço da página do fornecedor do software;
- II – licença – o software pode apresentar uma licença comercial ou gratuita. As aplicações MATLAB foram assinaladas com (*) para lembrar que, apesar da sua licença ser gratuita é necessário o MATLAB cuja licença é paga;
- III – plataforma – os sistemas operativos para os quais o software é disponibilizado;
- IV – facilidade de utilização – avaliação do grau de facilidade de utilização do software;
- V – interface gráfica – avaliação do grau de interatividade e facilidade de utilização da interface disponível;
- VI – formato de dados – quais os formatos de imagem suportados (formatos de entrada (VI.a) e saída(VI.b));

- VII – pré-processamento – quais as operações de pré-processamento disponibilizadas.

Considerou-se que seria necessário avaliar, também, as seguintes características das soluções de software para RMf:

- VIII – tipo de análise – análise funcional implementada (GLM, SCA ou ICA).

Para as ferramentas de análise de DTI, determinou-se que seria pertinente incluir as seguintes características:

- IX.a) – índices escalares – mapas de índices escalares que podem ser calculados;
- IX.b) – tratografia – se são implementados algoritmos de tratografia determinística ou probabilística;
- IX.c) – importação de ROIs – se o software permite a inclusão de ROIs para análises quantitativas;
- IX.d) – opções de visualização – modo de visualização permitido.

Para algumas das características definidas foi utilizada uma escala de 5 níveis, em que 1 representa o valor mais baixo e 5 o valor mais alto, para permitir fornecer ao leitor do presente documento uma melhor distinção entre aplicações. Os valores atribuídos são resultado de um inquérito realizado a um grupo de 20 pessoas com pouca experiência na utilização das aplicações enunciadas.

Características	AFNI	GIFT	REST/DPARSF	SPM	BrainVoyager QX	FSL	DTI Studio	MedINRIA	Slicer	TrackVis
I.	http://afni.nimh.nih.gov	http://mialab.mm.org	http://restfmri.net	http://www.fil.ion.ucl.ac.uk	http://www.brainvoyager.com	http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl	https://www.dti-studio.com	http://med.inria.fr	http://www.slicer.org	http://trackvis.org
II.	Gratuita	Gratuita*	Gratuita*	Gratuita*	Comercial	Gratuita	Gratuita	Gratuita	Gratuita	Gratuita
III.	Linux, Mac OS X	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X	Windows	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X, Windows	Linux, Mac OS X, Windows
IV.	2	4	4	3	3	3	3	4	3	4
V.	3	3	3	3	4	3	3	4	4	5
VI. a)	Próprio	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	Analyze/NIFTI 3D	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	DICOM, Analyze, Philips REC	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	Analyze/NIFTI (3D e 4D), DICOM, REC, GE Sigma, NRRD	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	DICOM, NRRD	DICOM, Analyze/NIFTI (3D e 4D)
VI. b)	Próprio	Analyze/NIFTI 3D	Analyze/NIFTI 3D	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	Próprio	Analyze/NIFTI (3D e 4D)	Próprio	Analyze/NIFTI 3D	NRRD	Analyze/NIFTI (3D e 4D)
VII.	Conversão de formato, correção de tempos de aquisição, filtragem, suavização, normalização, operações variadas.	-	Conversão de formato, remoção de volumes, correção de tempos de aquisição, correção de movimentos, suavização, filtragem, remoção de tendência linear	Correção de tempos de aquisição, correção de movimentos, normalização, suavização	Ajuste de intensidade, correção de tempos de aquisição, correção de movimentos, suavização, filtragem	FSL-FEAT - remoção de volumes, correção de tempos de aquisição, correção de movimentos, extração do crânio, suavização, normalização, suavização, filtragem; FSL-FDT - correção de distorções.	Normalização	-	-	-
VIII. a)	GLM, SCA	ICA	SCA	GLM	GLM, ICA	GLM, ICA	GLM, ICA	GLM, ICA	GLM, ICA	GLM, ICA
IX. a)			ADC, FA	MD, FA, V1, V2, V3, L1, L2, L3, MO	ADC, FA	FA, RA, VR, L1, L2, L3, V1, V2, V3	FA, ADC, RA, VR, L1, L2, L3, V1, V2, V3	FA, ADC, RA, VR, L1, L2, L3, V1, V2, V3	FA, RA, MO, outros	FA, ADC, L1, L2, L3, V1, V2, V3
IX. b)			Determinística	Probabilística	Determinística	Probabilística	Determinística	Determinística	Determinística, Probabilística	Determinística
IX. c)			SIM	NÃO	NÃO	NÃO	Não	Sim	Não	Não
IX. d)			Glifos, fibras	Glifos, mapas probabilísticos	Glifos, fibras	Fibras	Glifos e fibras.	Glifos e fibras	Glifos e fibras	Fibras

Figura 4.1. Principais características das aplicações informáticas analisadas.

4.4 Fluxo de processamento

Para que os dados à saída do equipamento de RM possam conduzir a resultados interpretáveis, devem passar por um conjunto de três etapas distintas. Previamente à análise propriamente dita, as imagens são submetidas a um conjunto de etapas de pré-processamento com o objetivo de reduzir a quantidade de ruído nessas imagens e assim melhorar os resultados da análise. De seguida, realiza-se a análise com o objetivo de extrair dos dados algum tipo de informação relevante. Por fim, um conjunto de etapas de pós-processamento podem ser aplicadas com intuito de realizar algum tipo de inferência ou melhorar a apresentação dos resultados.

A análise constitui a etapa crucial de qualquer fluxo de processamento neuroimagiológico. Com efeito, as etapas de pré-processamento e pós-processamento podem ser, em parte, influenciadas pela análise que se pretende realizar. Assim, inicialmente foi definida qual a metodologia de análise que seria empregue aos dados de cada modalidade.

No que diz respeito à análise de conectividade funcional, destacam-se dois tipos de análise: as análises de correlação e as análises ICA. Apesar de permitirem estabelecer uma métrica direta de conectividade funcional entre uma região de interesse e os restantes vóxeis do cérebro, os resultados das análises de correlação são altamente dependentes da escolha da região de interesse que constitui a *seed* (Cole et al., 2010). Por outro lado, as análises ICA são a metodologia mais popular na identificação de padrões de conectividade funcional em RMf de repouso pelo facto de constituírem uma análise puramente exploratória dos dados, não dependendo diretamente da escolha prévia de uma região de interesse. Por estas razões esta última será a metodologia adotada no fluxo de processamento proposto.

Com os recentes avanços nas técnicas de DTI, cresceu o interesse no estudo dos feixes neuronais que se podem encontrar no cérebro humano. Neste âmbito, a tratografia quantitativa tem sido a metodologia empregue em maior escala. Além de permitir uma medida intuitiva do grau de conectividade estrutural pela visualização gráfica das fibras geradas, pode ser facilmente combinada com os resultados da análise de RMf (Greicius et al., 2009; van den Heuvel et al., 2009; van den Heuvel, René C W Mandl, Luigjes, & Hulshoff Pol, 2008).

Uma vez definidas as metodologias de análise tornou-se possível definir as etapas de processamento que permitem conjugar os resultados de ambas. Como foi evidenciado na introdução teórica da modalidade de RMf, as imagens que resultam deste tipo de aquisição devem ser sujeitas às seguintes operações de pré-processamento:

- conversão de formato;
- remoção dos volumes iniciais;
- correção dos tempos de aquisição;
- correção de movimentos;
- extração da linha do crânio;
- normalização;
- suavização ou filtragem espacial;
- filtragem temporal;

Analogamente, as imagens de difusão devem ser pré-processadas com a seguinte sequência de etapas:

- conversão de formato;
- correção de distorções e movimentos;
- extração da linha do crânio;

Terminado o pré-processamento, poderá proceder-se à análise de componentes independentes da aquisição funcional e ao cálculo dos tensores e da tractografia a partir da aquisição de difusão.

Para permitir que os resultados das duas análises sejam combinados, o pós-processamento inclui:

- extração de ROIs a partir dos mapas de ativação da análise ICA;
- conversão das ROIs para o espaço nativo;
- seleção dos feixes de interesse por ROIs;
- extração de estatísticas ;

A Figura 4.2 apresenta um resumo esquemático das etapas envolvidas no fluxo de trabalho proposto.

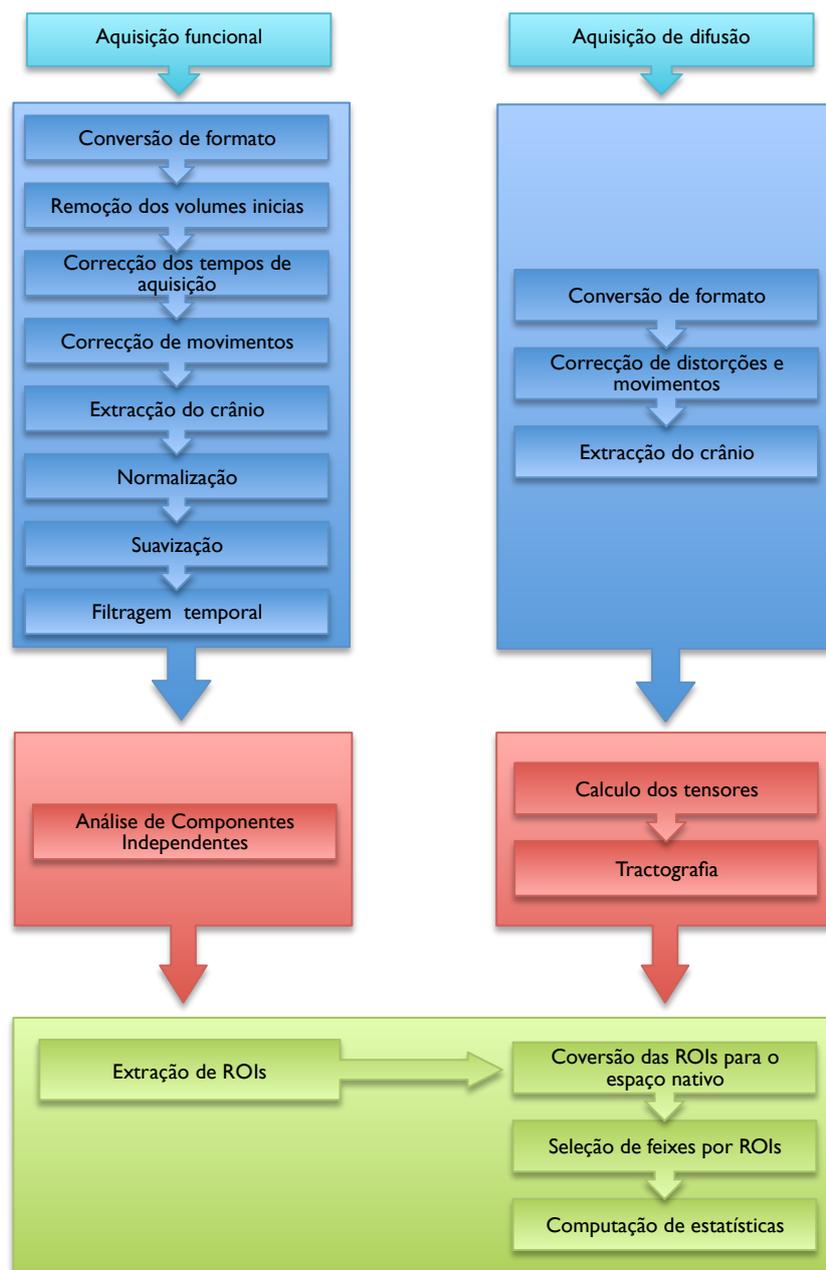


Figura 4.2. Esquema ilustrativo do encadeamento das etapas no fluxo de processamento concebido.

Nas secções seguintes serão descritas pormenorizadamente todas as etapas incluídas no fluxo de trabalho. Nessa descrição será explicitada a implementação de cada etapa e ainda os programas que serão utilizados nessa implementação. Os procedimentos aplicados foram definidos com base nos procedimentos utilizados em estudos combinados de RMf e DTI cuja relevância é amplamente reconhecida (Greicius et al., 2009; van den Heuvel et al., 2009; van den Heuvel et al., 2008). Na seleção dos programas deu-se prioridade a programas de linha

de comandos por permitirem um maior controlo da execução de cada etapa, além de possibilitarem criar a estrutura modular pretendida para o fluxo de processamento.

Note-se que, à exceção do programa utilizado na conversão de formato das imagens, todos os programas utilizados no pré-processamento das imagens são parte integrante da biblioteca FSL. Isto deve-se ao facto do único programa que cumpre os requisitos estabelecidos e que permite realizar a análise ICA também pertencer a esta biblioteca.

4.4.1 Pré-processamento de RMf

4.4.1.1 Conversão de formato

A primeira etapa do fluxo de processamento consiste em converter as imagens do formato DICOM para NIfTI. Tratando-se de uma simples conversão de formato, sem grandes possibilidades de ocorrerem erros, é conveniente utilizar um programa igualmente simples. Este é o caso do programa *dcm2nii*, disponibilizado em conjunto com o software de visualização MRICron (CABI, n.d.). Trata-se de um programa de simples utilização e cujas definições padrão permitem levar a cabo a operação pretendida. Estas definições incluem a conversão para o formato NIfTI 4D, quando aplicável, em que a quarta dimensão corresponde aos diferentes volumes da aquisição. Além disso, por defeito, as imagens são compactadas o que diminui o espaço ocupado pelos ficheiros resultantes.

4.4.1.2 Extração de volumes

Após a conversão de formato, os volumes iniciais da aquisição de RMf deverão ser descartados pelas razões enunciadas no Capítulo 2. Esta etapa deve seguir-se à conversão de formato para que não seja despendido tempo de processamento desnecessário com os volumes que não serão utilizados na análise.

Para a remoção dos volumes será utilizado o programa *fsroi* que permite remover o número de volumes especificado às imagens em 4D.

4.4.1.3 Correção de tempos de aquisição

A correção dos tempos de aquisição é levada a cabo através da deslocação no tempo dos sinais de cada corte por uma fração do TR equivalente à diferença entre os tempos de aquisição do corte em questão e um corte de referência. A deslocação dos sinais implica que, posteriormente, os valores de cada vóxel precisam de ser interpolados. O procedimento encontra-se ilustrado na Figura 4.3. Na Figura 4.3.A pode observar-se que, devido ao facto de terem sido captados em instantes de tempo diferentes, o sinal de um vóxel do corte em estudo (sinal de cima) apresenta um atraso relativamente ao sinal de um vóxel do corte de referência (sinal de baixo). Para alinhar os sinais, o sinal de cima precisa de ser deslocado para a esquerda (Figura 4.3.B). Devido à deslocação do sinal, em cada instante de tempo, os valores dos vóxeis do corte em estudo foram alterados e devem ser estimados por interpolação. Na Figura 4.3.C podem observar-se diferenças significativas entre o sinal original (a vermelho) e o sinal interpolado (a verde.)

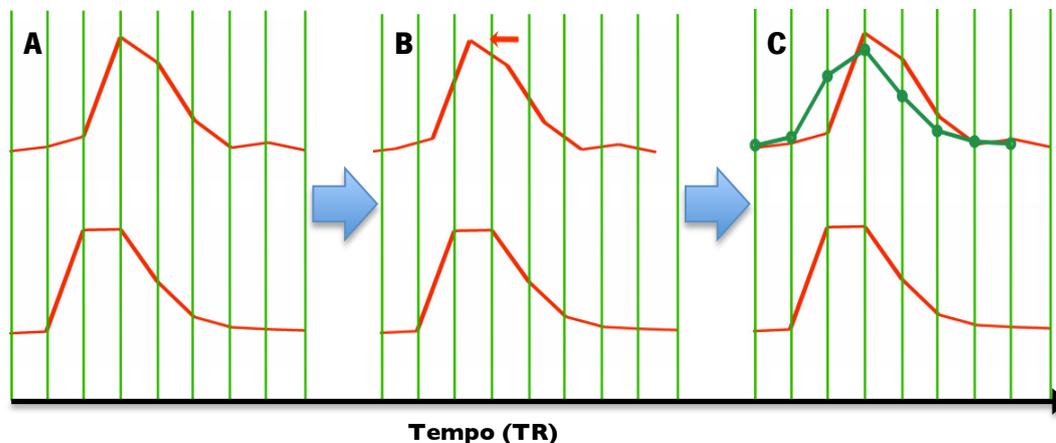


Figura 4.3. Efeitos da deslocação e interpolação da série temporal de um vóxel durante a correção dos tempos de aquisição.

No fluxo de processamento será utilizado como corte de referência o corte adquirido a meio do intervalo TR uma vez que, desta forma, as diferenças entre os tempos de aquisição deste corte e dos restantes cortes são minimizadas e, conseqüentemente, a extensão da interpolação é menor. Quanto menor a extensão da interpolação, menor será o grau de erro introduzido.

O programa *slicetimer* permite efetuar este tipo de correção e será a ferramenta informática utilizada. Uma vez que os tempos de aquisição de cada corte variam consoante a aquisição dos cortes seja intervalada ou sequencial, ascendente ou descendente, estes parâmetros, em conjunto com o TR da aquisição têm de ser introduzidos.

4.4.1.4 Correção de movimentos

A correção dos movimentos da cabeça pode ser conseguida com o alinhamento de cada volume da aquisição com um volume de referência. Uma vez que todos os volumes da mesma aquisição pertencem ao mesmo sujeito, o tamanho e proporções do cérebro mantêm-se inalterados ao longo desses volumes. Assim, um alinhamento rígido (rotações e translações das imagens) é suficiente. O volume de referência poderá ser um qualquer volume da mesma aquisição, contudo, a utilização da média da aquisição como referência minimiza a operação de procura do melhor alinhamento.

Esta etapa será implementada recorrendo ao programa *mcfliirt*. Este programa procura alinhar todos os volumes com o volume central da aquisição, utilizando para tal como função de custo o grau de correlação normalizado. As transformações espaciais calculadas não são aplicadas por defeito uma vez que envolvem interpolação pelo que terá de ser especificada essa opção. A função de interpolação padrão é a interpolação sinc por ser a que conduz aos melhores resultados, apesar de ser computacionalmente intensiva e lenta. Deverá ser também explicitada a utilização da média como imagem de referência uma vez que as definições padrão do *mcfliirt* levam ao alinhamento com o volume central da aquisição. A fim de se verificar a extensão dos movimentos, deverá assinalar-se também a opção que permite extrair os parâmetros dos mesmos.

Atualmente não existe um consenso generalizado em relação ao momento de aplicação da correção de movimentos (antes ou depois da correção dos tempos de aquisição). Na realidade, a corrente que gera um maior consentimento é a que defende que, para aquisições intervaladas, a correção de movimentos deve seguir-se à correção de tempos de aquisição. A ordem oposta aplica-se para aquisições sequenciais (Brett, 2007). Esta regra deverá ser tida em conta na aplicação do fluxo de processamento.

4.4.1.5 Extração do crânio

Em análises neuroimagiológicas, a região espacial da análise limita-se muitas vezes à região cerebral. O facto das imagens de RMf exibirem o crânio e outras estruturas não cerebrais, não só aumenta desnecessariamente o espaço ocupado pelos ficheiros das imagens, como aumenta a probabilidade de erros no processo de normalização.

A extração do crânio será implementada em dois passos distintos. No primeiro passo, o programa *BET* será utilizado para calcular uma máscara que inclua apenas as estruturas cerebrais a partir do volume da média da aquisição. As definições padrão deverão conduzir a bons resultados. Contudo, caso os resultados da extração não sejam satisfatórios, o programa deverá ser executado novamente com a opção que permite definir o limite de intensidade fracionário a ser utilizado na extração. O valor deste limite que conduz aos melhores resultados só poderá ser alcançado por tentativa erro e poderá diferir de sujeito para sujeito.

Uma vez calculada a máscara, esta deverá ser aplicada a todos os volumes da aquisição através do programa *fslmaths* e da opção correspondente que permite a aplicação de máscaras às imagens fornecidas como entrada.

4.4.1.6 Normalização

A normalização de estudos funcionais consiste normalmente em três etapas: alinhamento da média da aquisição funcional com a aquisição estrutural; alinhamento da aquisição estrutural com um *template* no espaço de referência; aplicação de ambas as transformações espaciais calculadas às imagens da aquisição funcional.

A normalização só deverá ser levada a cabo nas situações em que a extração do crânio aos volumes funcionais tenha sido efetuada previamente. Além disso, a extração do crânio à aquisição estrutural deverá também ser aplicada previamente. A não aplicação da extração do crânio a ambas as aquisições, ou a aplicação deficiente, poderá conduzir a transformações espaciais erróneas.

Para o cálculo da matriz de alinhamento do volume da média com a aquisição estrutural irá utilizar-se o programa *FLIRT*. Na sua utilização deverão ser especificadas as seguintes opções:

- utilização da função de rácio de correlação como função de custo (recomendada pelo fornecedor do programa como otimizada para alinhamentos inter-modais);
- 6 graus de liberdade permitidos (alinhamento rígido) uma vez que se trata de um alinhamento entre imagens do cérebro do mesmo sujeito, as proporções devem manter-se;
- ângulos de procura de 180° em cada sentido para maximizar o espaço de procura do melhor alinhamento.

Segue-se então o cálculo da matriz de alinhamento da aquisição estrutural com o espaço de referência. Optou-se por utilizar o espaço MNI como espaço de referência por ser um dos mais utilizados (a par com o espaço de Talairach) e por apenas este permitir que o alinhamento seja efetuado automaticamente. Assim, a imagem de referência deverá ser um *template* MNI de alta resolução de uma aquisição T1 (à semelhança da aquisição estrutural). Novamente o programa utilizado será o *FLIRT* e serão utilizadas as seguintes opções:

- utilização da função de correlação normalizada como função de custo (recomendada pelo fornecedor do programa como otimizada para alinhamentos intra-modais);
- 12 graus de liberdade permitidos (alinhamento não-rígido) uma vez que as dimensões e proporções do cérebro variam entre sujeitos.;
- ângulos de procura de 180° em cada sentido para maximizar o espaço de procura.

Calculadas as matrizes de alinhamento, o programa *convert_xfm* será utilizado para concatenar as duas transformações. A aplicação da transformação resultante permitirá colocar a aquisição funcional no espaço normalizado. A transformação inversa, que permite transformar as imagens novamente para o espaço nativo é também calculada. A transformação de normalização será aplicada através do programa *FLIRT*, uma vez que, além de permitir calcular transformações espaciais, este programa permite aplicar uma qualquer transformação espacial existente. Note-se que nesta situação a imagem de referência não necessita de ser a mesma que terá sido usada para o cálculo das transformações. Neste último procedimento, a imagem de referência define apenas as dimensões das imagens e o tamanho do voxel para a interpolação. Por esta razão será utilizado como referência o *template* MNI com voxel isotrópico de 2mm. Note-se também que apenas neste passo é

realizado o processo de interpolação. O tamanho de voxel de 2mm demonstrou ser um bom compromisso entre resolução espacial e o tempo de processamento necessário para aplicar a interpolação. Por defeito é aplicada a interpolação sinc.

Opcionalmente, o alinhamento da aquisição estrutural com o espaço de referência poderá ser realizado através de uma transformação não linear, ao contrário das transformações anteriormente descritas. Para tal poderá ser utilizado o programa *FNIRT*. A quantidade de parâmetros que necessitam de ser definidos é vasta. Contudo, é fornecido, em conjunto com o programa, um ficheiro de configuração otimizado para o alinhamento de aquisições T1 com o espaço MNI. Para a aplicação da transformação e interpolação, deverá ser utilizado o programa *wrapfield*. Este programa permite aplicar, de uma só vez, a transformação rígida de alinhamento com a aquisição estrutural e a transformação não linear de alinhamento com o espaço de referência.

A transformação não linear, apesar de, em geral, conduzir a um alinhamento mais rigoroso, é uma etapa exigente em termos de tempo de processamento pelo que a sua utilização será opcional, em função do rigor/disponibilidade de tempo pretendidos.

4.4.1.7 Suavização

O processo de suavização das imagens funcionais mais comum consiste na convolução das imagens com uma função Gaussiana tridimensional. Este processo faz com que o valor de um determinado voxel seja uma média pesada da intensidade desse voxel com os voxels vizinhos. A extensão desta função ou curva Gaussiana controla o grau de suavização aplicado. A extensão da função é geralmente expressa em termos de FWHM (*Full Width at Half Maximum*) que representa a extensão da função quando a sua curva atinge metade do valor máximo.

Para a suavização propõe-se a utilização do programa *fslmaths*, especificando a opção que permite a aplicação de um filtro Gaussiano deste tipo. O único parâmetro que é necessário definir é o valor de σ (em mm) do filtro a ser utilizado e que se relaciona com FWHM da seguinte forma:

$$\text{FWHM} = \sigma\sqrt{8\ln(2)} \qquad \text{Equação 4.1}$$

4.4.1.8 Filtragem

A filtragem temporal consiste na simples aplicação de um filtro passa-banda às séries temporais de cada vóxel da aquisição funcional. Para tal, o programa *fslmaths* será novamente utilizado. Especificando a devida opção, este programa permite combinar a aplicação de um filtro passa-alto não linear e um filtro passa-baixo linear Gaussiano. É apenas necessário introduzir os valores de σ dos filtros (em volumes). Na definição de σ (em volumes) deverá ser utilizada a expressão:

$$\sigma = (1/f)/(2TR) \quad \text{Equação 4.2}$$

em que f (em Hz) denota a frequência desejada e TR o intervalo TR da aquisição (em segundos).

4.4.2 Pré-processamento de DTI

4.4.2.1 Conversão de formato

À semelhança dos ficheiros de imagem da aquisição de RMf, também os ficheiro da aquisição de DTI deverão ser convertidos para o formato NIfTI. A conversão dá-se de forma idêntica para as duas aquisições. Contudo, neste caso, além do ficheiro NIfTI 4D, é também gerado um ficheiro com os vectores dos gradientes de difusão utilizados (ficheiro com extensão “.bvec”) e um outro ficheiro com os valores de b aplicados (ficheiro com extensão “.bval”).

4.4.2.2 Correção de movimentos e distorções

Tal como no caso das aquisições funcionais, as aquisições de difusão devem também ser corrigidas de forma a compensar os movimentos da cabeça. Contudo, a esta correção acresce a necessidade de corrigir também as distorções provocadas por correntes residuais.

A correção deste tipo de distorções pode ser levada a cabo pelo alinhamento não rígido dos volumes de difusão com um volume de referência. Uma vez que o volume b_0 não resulta da aplicação de um gradiente de difusão, não possui este tipo de distorções e, por isso, é normalmente utilizado como volume de referência. Simultaneamente este alinhamento permite corrigir também os movimentos da cabeça já que os procedimentos são equivalentes, possibilitando a realização das duas correções numa só etapa.

O programa *eddy_correct* da biblioteca FSL foi especialmente concebido para este efeito pelo que será o programa utilizado no fluxo concebido.

4.4.2.3 Remoção do crânio

Nas aquisições de difusão, a remoção das estruturas não cerebrais é tão importante como nas aquisições funcionais, pelas mesmas razões. Como tal, o processo de extração do crânio será implementado de forma semelhante mas com as seguintes alterações:

- o volume utilizado na criação da máscara das estruturas cerebrais não será a média mas antes o volume b_0 ;
- o limite de intensidade fracionário utilizado pelo programa *BET* deverá ser de 0.25. Este valor foi o que demonstrou melhores resultados uma vez que o valor definido por defeito demonstrou remover uma grande extensão do tecido cerebral do volume b_0 .

4.4.3 Processamento de RMf

4.4.3.1 Análise de Componentes Independentes

Terminado o pré-processamento das imagens funcionais, estão reunidas as condições para a realização da análise de componentes independentes. Como se pode observar na Figura 4.1, atualmente existem três conjuntos de software que permitem realizar análises ICA às aquisições de RMf. No entanto, apenas a biblioteca FSL, através do programa MELODIC, disponibiliza software de licença totalmente gratuita e capaz de ser utilizado via linha de

comandos. Assim, este é a única ferramenta que cumpre os requisitos estabelecidos, sendo, par com o GIFT, um dos programas mais utilizados neste tipo de análise.

O MELODIC permite ao utilizador realizar análises de primeiro nível (estudos individuais) e análises de segundo nível (estudos de grupo). Nas análises de segundo nível é possível optar pela identificação das componentes que demonstram uma maior dependência temporal ou espacial entre os sujeitos. Em estudos de ressonância magnética funcional de repouso, procuram-se encontrar os padrões espaciais mais comuns ao longo de todo o grupo, não existindo garantias de que a evolução temporal dos sinais de RM seja consistente entre os diferentes elementos do grupo. Assim, será utilizada a opção do MELODIC que permite aplicar a análise de componentes independentes temporal.

4.4.4 Processamento de DTI

4.4.4.1 Cálculo dos tensores

Pela análise da Figura 4.1 pode verificar-se que as únicas soluções de software de licença gratuita que permitem, além do cálculo dos tensores e da tratografia, importar regiões de interesse provenientes dos estudos de RMf são o MEDInria e o TrackVis. Contudo, o Diffusion Toolkit, disponibilizado em conjunto com o TrackVis, incorpora um conjunto de programas que lhe conferem maior flexibilidade comparativamente ao MEDInria permitindo, por exemplo, normalizar os resultados da tratografia, facilitando assim a realização de estudos de grupo. Esta maior flexibilidade, aliada à interface mais apelativa do TrackVis levaram à escolha destas soluções em detrimento das outras.

Para o cálculo dos tensores será utilizado o programa *dti_recon*, disponibilizado com o Diffusion Toolkit. Simultaneamente, este programa permite calcular vários mapas de índices escalares, nomeadamente mapas de FA e ADC. Para que esta operação seja possível, é necessário definir qual a tabela de gradientes que deve ser utilizada. Em conjunto com o Diffusion Toolkit é fornecido um conjunto de tabelas padrão para equipamentos Siemens pelo que, sempre que aplicável, deverão ser utilizadas estas tabelas de gradientes. O máximo valor de b e o número de volumes b_0 da aquisição devem também ser especificados. Alguns

protocolos Siemens, quando aplicam gradientes com ângulos oblíquos, não ajustam os vectores de gradientes de forma correta. Assim, nestas situações, deverá utilizar-se a função do programa *dti_recon* que permite a correção destes ângulos para que os tensores possam ser calculados corretamente.

4.4.4.2 Tratografia

Uma vez calculados os tensores, torna-se possível realizar a tratografia. O programa proposto para esta operação é o *dti_tracker*, também fornecido conjuntamente com o Difusion Toolkit. Este programa gera um ficheiro com os resultados da tratografia que pode posteriormente ser analisado com o visualizador TrackVis. Na utilização do *dti_tracker* deverão ser especificados os seguintes parâmetros:

- algoritmo de propagação – por defeito é utilizado o algoritmo FACT mas é possível utilizar também o algoritmo de geração de *streamlines* interpoladas com o método de Euler (comprimento de iteração fixo), com o método Runge-Kutta de 2ª ordem ou ainda o algoritmo *tensorline*.
- comprimento de iteração – comprimento, em vóxeis, entre iterações;
- limite de ângulo – ângulo acima do qual a geração de fibras deverá ser terminada;
- máscara de índices escalares – esta opção permite definir os valores limite de índices escalares que servem de critério de paragem à tratografia. A máscara de FA é a mais utilizada;
- *seeding* aleatório – por defeito é colocada uma *seed* no centro de cada vóxel. Esta opção permite que as *seeds* sejam colocadas numa posição aleatória no interior do vóxeis, podendo definir-se o número de *seeds* que devem ser colocadas em cada vóxel.

4.4.5 Pós-processamento

4.4.5.1 Extração de ROIs

Para a análise conjunta dos resultados de RMf e DTI, é necessário que as ativações resultantes da análise ICA sejam convertidas em ROIs para, posteriormente, serem utilizadas na seleção dos feixes da tratografia. Esta conversão das ativações para ROIs será realizada num conjunto de três operações: seleção da componente de interesse, definição do limite de significância estatística e conversão das ativações em ROIs individuais.

Das componentes geradas na análise ICA, apenas algumas correspondem às redes neuronais de interesse. Como tal, por cada rede neuronal a ser analisada, é necessário verificar qual a componente de interesse para a análise e separar essa componente das restantes (Figura 4.4.A). A análise visual das componentes será realizada com o programa *fsview*, o visualizador da biblioteca FSL. Com este programa, é possível verificar qual o índice do volume correspondente e extrair esse volume utilizando o programa *fsroi*.

Uma vez separada a componente de interesse, é necessário separar as ativações que se pretendem incluir na análise da tratografia. Para tal deverá ser utilizado o programa *clusters*. Da utilização deste programa resulta um volume com os *clusters* de vóxeis cujo valor de significância (z-score) ultrapassa o limite estabelecido. Neste volume, a cada *cluster* independente corresponde um valor de intensidade diferente (Figura 4.4.B).

Por fim, novamente por inspeção visual utilizando o programa *fsview*, serão identificadas as intensidades que correspondem aos *clusters* das ativações que se pretendem incluir na análise da tratografia. Posteriormente, cada ativação dará origem a uma ROI individual utilizando o programa *fsmaths* para filtrar os *clusters* por intensidade e para binarizar a imagem resultante (Figura 4.4.C e Figura 4.4.D).

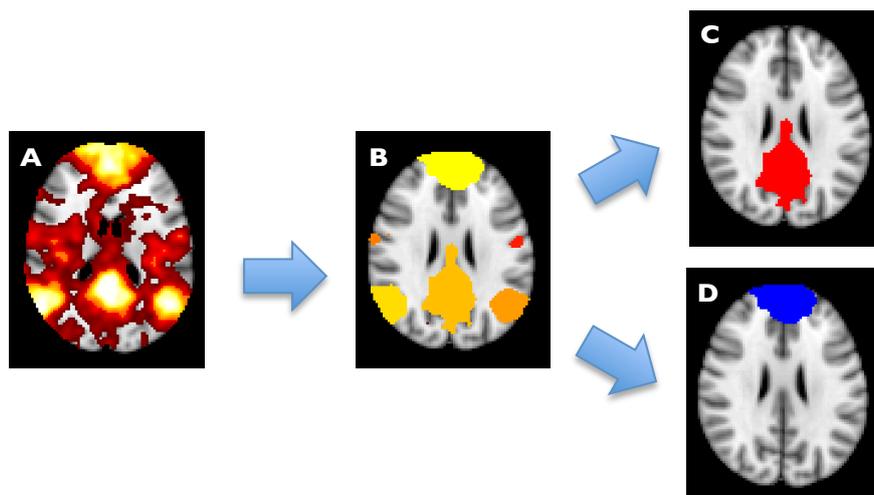


Figura 4.4. A aplicação do programa *clusters* a um mapa da DMN obtido por ICA (A) resulta na separação das diferentes regiões que compõem a DMN por atribuição de diferentes intensidades (B). Regiões como o PCC (C) ou o MPFC podem (D) ser convertidos em ROIs filtrando o mapa de *clusters* por intensidades.

As ativações cerebrais encontram-se maioritariamente confinadas à substância cinzenta enquanto os feixes neuronais são mais consistentes na substância branca. Como tal, existe a possibilidade das ROIs extraídas não se intersetarem com os feixes da tratografia. Caso se verifique que esta é uma possibilidade plausível as ROIs geradas deverão ser expandidas. Novamente, o programa *flsmaths* permite este tipo de operação mediante a especificação da extensão, em mm, que se pretende aplicar.

4.4.5.2 Conversão de ROIs para o espaço nativo

Contrastando com os estudos funcionais, as análises de DTI são maioritariamente realizadas no espaço nativo de cada indivíduo. Como tal, o cálculo dos tensores e a tratografia deverão ser efetuados no espaço nativo da aquisição. Este aspecto deve-se ao facto da informação da modalidade de DTI, contida em cada vóxel, ser multidireccional e o processo de interpolação, necessário à normalização, não permitir preservar essa informação. Os mapas de MD ou FA, bem como os resultados da tratografia poderiam ser afetados no processo de normalização. Isto faz com que a análise quantitativa tenha que ser realizada no espaço nativo.

As ROIs, extraídas a partir das ativações da análise funcional, encontram-se no espaço normalizado, ou seja, precisam de ser convertidas para o espaço nativo da aquisição de difusão. O processo mais simples para realizar esta transformação consiste em aplicar às ROIs a transformação inversa da normalização da aquisição de difusão.

Para se calcular os parâmetros de normalização das imagens de DTI será utilizado um procedimento semelhante ao cálculo da transformação de normalização das imagens funcionais. A diferença reside apenas na imagem que é utilizada no alinhamento que será novamente o volume b0 e não a média. Uma vez que o volume b0 não possui ponderação de difusão, o contraste utilizado é um contraste T2, tal como na aquisição funcional, pelo que as mesmas funções de custo podem ser utilizadas. Além disso, caso já se tenha realizado o alinhamento da aquisição estrutural com o espaço de referência, é apenas necessário calcular a matriz de transformação do alinhamento do volume b0 com a aquisição estrutural.

A partir da matriz de normalização, é também calculada a matriz inversa que permite transformar as imagens no espaço padrão para o espaço nativo. Esta última transformação deve ser aplicada às ROIs extraídas através do programa *FLIRT* em que a imagem de referência deverá ser a imagem b0.

4.4.5.3 Seleção de feixes de fibras

Com as ROIs da análise ICA no espaço nativo é então possível combinar os resultados das duas análises. Para tal será utilizado o software TrackVis. Tratando-se de um visualizador para os resultados da tratografia, a sua utilização requer interatividade com o utilizador. Após iniciar o software, o utilizador deverá começar por importar o ficheiro com os resultados da tratografia (Figura 4.5.A). Posteriormente, é possível importar as ROIs geradas a partir dos resultados da análise ICA.

O procedimento implementado na seleção de feixes será semelhante ao procedimento utilizado por van den Heuvel (van den Heuvel et al., 2009; van den Heuvel et al., 2008). Numa primeira fase, para uma combinação de duas ROIs, será conjugada uma (Figura 4.5.B) com a tratografia a todo o cérebro, permitindo filtrar as fibras que se intersectam com essa ROI (Figura 4.5.C). Partindo desse conjunto de fibras, poderá seleccionar-se uma outra ROI (Figura

4.5.D) filtrando novamente as fibras que se intersectam com esta. Deste modo obtém-se apenas o conjunto de fibras que se intersectam com ambas as regiões de interesse (Figura 4.5.E). Este procedimento será repetido para todas as combinações de ROIs que se pretendam analisar.

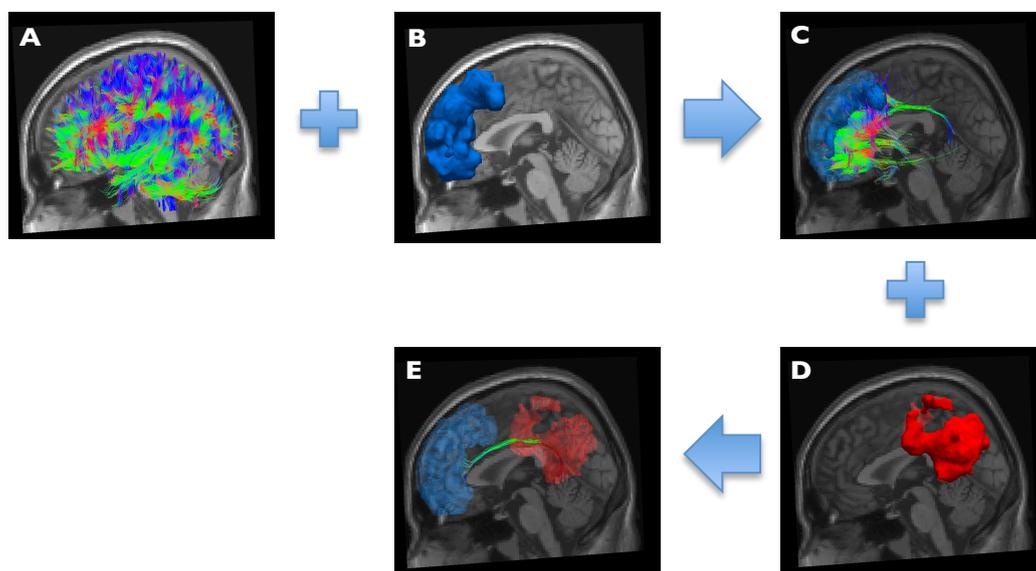


Figura 4.5. Etapas do processo de seleção de feixes de fibras por ROIs.

Note-se que, por cada indivíduo de um estudo, será calculada uma tratografia e, como tal, o processo anterior deverá ser repetido para cada indivíduo que faça parte do estudo.

No final desta etapa, deverão ter sido filtrados $n \cdot k$ feixes de fibras, em que n designa o número de indivíduos do estudo e k o número de combinações de ROIs analisadas.

4.4.5.4 Computação de estatísticas

Tal como já foi referido, os tensores e os mapas de índices escalares resultantes não devem ser normalizados para que não se perca parte da informação altamente localizada e multidireccional que possuem. Deste modo, é comum realizar-se a extração de estatísticas relativas aos valores de MD e FA no espaço nativo de cada caso. Para tal deverá ser utilizado novamente o visualizador TackVis que permite efetuar este tipo de operação. Será necessário importar os feixes extraídos na etapa anterior bem como os mapas de índices escalares sobre

os quais se pretendem retirar dados estatísticos. O visualizador sobrepõe automaticamente os feixes aos mapas importados, permitindo extrair, por exemplo, o valor médio de FA e de ADC ao longo dos vóxeis que são intersectados pelas fibras do feixe em análise. Repetindo este procedimento ao longo de todos os casos, o utilizador pode, por fim, calcular a média e o desvio padrão dos valores de FA e ADC do total de fibras obtidas para o estudo.

Atualmente não existe uma metodologia que permita analisar a consistência estatística dos resultados de grupo da tratografia. Alternativamente, é prática comum conjugar os resultados individuais dos casos que compõe o estudo (Greicius et al., 2009; van den Heuvel et al., 2009; van den Heuvel et al., 2008). Por cada combinação de ROIs, os feixes de fibras dos indivíduos são somados, resultando num único feixe composto pelo somatório dos feixes individuais. Estes feixes servem então de referência à extração de métrica para o grupo do estudo.

Contudo, os feixes extraídos encontram-se no espaço nativo de cada caso, ou seja, para que possam ser combinados deverão ser transformados no espaço padrão. Este procedimento será realizado aplicando as matrizes de normalização calculadas anteriormente aos feixes de cada caso. O programa *track_transform*, disponibilizado em conjunto com o software Diffusion Toolkit permite aplicar uma matriz de transformação gerada pelo programa FLIRT aos dados da tratografia e será utilizado nesta operação.

A conjugação dos feixes de todos os sujeitos será realizada com recurso ao programa *track_merge*, também parte do software Diffusion Toolkit. Este programa tem a vantagem de manter no ficheiro resultante da combinação dos feixes um índice que permite identificar os feixes individuais que lhe deram origem. Após este processo, obtêm-se k feixes, um por cada combinação de ROIs, que representam os resultados do grupo. Com estes feixes importados novamente para o visualizador, podem extrair-se estatísticas como o comprimento médio das fibras ou o número total de fibras que interligam cada par de ROIs, permitindo assim obter uma métrica do grau de conectividade estrutural subjacente às ativações em questão.

Capítulo 5

BrainCAT

Ideias chave:

- BrainCAT é a denominação adoptada para a aplicação desenvolvida com o intuito de implementar o fluxo de processamento concebido de forma automatizada, sugerindo valores optimizados para cada parâmetro do processamento.
- O principal módulo do BrainCAT encontra-se dividido em três separadores com funcionalidades distintas.
- O separador Pré-processamento permite parametrizar e realizar numa só ação todas as etapas de pré-processamento.
- O separador Análise de Componente Independentes permite realizar a análise ICA e isolar regiões de interesse para as ativações obtidas.
- O separador Tratografia permite calcular os tensores e realizar a tratografia.
- Foi desenvolvido um painel de ajuda à utilização do TrackVis para auxiliar o utilizador na seleção dos feixes e na extração de estatísticas.
- Os resultados obtidos na aplicação a um caso de estudo vão de encontro a estudos anteriores e o BrainCAT, além de constituir uma ferramenta de fácil utilização, permitiu reduzir o tempo despendido em cada estudo.

O fluxo de processamento apresentado no Capítulo 4 fornece aos interessados na realização de análises conjuntas de conectividade funcional e estrutural uma forma estruturada de processarem os dados que possuem. Este fluxo de processamento apresenta uma elevada complexidade de processamento e operabilidade tornando-se difícil para o utilizador. Na utilização de cada programa o utilizador terá que definir manualmente quais as imagens que servirão e ainda todos os parâmetros necessários. Esta situação, além de ser contra-produtiva devido ao tempo gasto desnecessariamente, aumenta consideravelmente a probabilidade de se cometerem erros inadvertidos na implementação das etapas. Estes erros podem comprometer os resultados obtidos e são muitas vezes difíceis de detectar por inspeção visual.

Um outro problema prende-se com a variedade de ferramentas utilizadas. Antes de poder utilizar cada ferramenta, o utilizador terá de aprender a utilizá-la da melhor forma. Além disso, a maioria ou não possui uma interface gráfica ou então a interface disponibilizada é pouco intuitiva, rudimentar e não permite aceder a todas as funcionalidades necessárias.

Uma característica comum das ferramentas cuja utilização foi proposta é o facto de poderem ser utilizadas via linha de comandos. A primeira dificuldade poderia, então, ser facilmente ultrapassada pela criação de um script para linha de comandos que encadeasse as diferentes etapas e assegurasse que os resultados de uma etapa fossem utilizados como entradas para a etapa seguinte.

No entanto, a utilização da linha de comandos não resolve o segundo problema identificado anteriormente. Tendo em conta estas condicionantes, desenvolveu-se uma aplicação para implementar de forma automatizada o fluxo de processamento concebido, disponibilizando ao utilizador uma interface amigável, de simples utilização e que minimiza o tempo despendido pelo utilizador na definição dos parâmetros necessários. À aplicação desenvolvida atribuiu-se a designação BrainCAT (*Brain Connectivity Analysis Tool*) e será descrita ao longo do presente capítulo.

5.1 Análise de requisitos

Com o BrainCAT deseja-se simultaneamente otimizar e automatizar a utilização do fluxo de processamento proposto no capítulo anterior e facilitar a sua utilização mediante a apresentação de uma interface gráfica. Tendo em conta estes objetivos, a aplicação deverá:

- ser uma aplicação *plug-and-play*, i.e. o utilizador não deverá ter que fazer nenhum tipo de configuração para poder utilizá-la;
- permitir estruturar os resultados das etapas implementadas no fluxo de processamento de modo a que o utilizador possa localizar e identificar facilmente os resultados de cada etapa;
- apresentar uma interface amigável, de simples utilização e que minimize a necessidade de interacção com o utilizador;
- permitir o processamento simultâneo de vários casos, quer se trate de uma análise de grupo ou várias análises individuais;
- encadear todas as etapas do fluxo de forma totalmente transparente ao utilizador;
- diminuir o tempo gasto pelo utilizador na definição dos parâmetros de processamento.

5.2 Base tecnológica

Para o desenvolvimento da aplicação informática impunha-se definir qual a plataforma para a qual a aplicação seria desenvolvida. Tendo em conta o software utilizado nas diferentes etapas do fluxo de processamento, verificou-se que apenas os utilizadores das plataformas Linux e MacOS X poderiam utilizar todas as soluções informáticas propostas. Assim, a escolha da plataforma para desenvolvimento recairia necessariamente por uma destas duas. Optou-se por desenvolver a aplicação para as plataformas MacOS X devido ao facto destas permitirem criar interfaces gráficas mais apelativas e, por isso, mais amigáveis. Além disso, o número de utilizadores deste tipo de plataformas tem crescido consideravelmente nos últimos anos (Refsnes, 2011) e é comum serem utilizadas por grupos de neuroimagem.

A *framework* de desenvolvimento para MacOS X denomina-se Cocoa e é composta pelas APIs e bibliotecas disponíveis para todos os sistemas MacOS X. As aplicações desenvolvidas em Cocoa assumem o comportamento e a aparência das aplicações características dos sistemas MacOS X. A linguagem de programação utilizada na implementação desta *framework* designa-se de Objective-C. Trata-se de uma linguagem de programação orientada aos objetos que constitui, tal como a linguagem C++, uma extensão do C. Assim, o compilador de Objective-C compila também programas em C, podendo ser utilizadas as duas linguagens simultaneamente na mesma aplicação. Uma das principais características do Cocoa diz respeito à facilidade de alocar memória dinamicamente (Apple Inc., 2011).

As aplicações desenvolvidas em Cocoa adotam o padrão de desenvolvimento Modelo-Visualização-Controlador (*Model-View-Controller* – MVC). Segundo este padrão o Modelo é responsável por manter o estado lógico da aplicação e a persistência dos dados, respondendo a pedidos de informação sobre o estado dos dados ou a instruções para alterar esse estado. A Visualização é responsável por exibir e permitir ao utilizador editar os dados de forma a permitir interação. Por fim, o Controlador é o objeto responsável por processar as entradas da Visualização, decidir sobre as instruções a dar ao Modelo e atualizar a Visualização com o novo estado dos dados. De uma forma simplificada, o Controlador media a lógica entre a Visualização e o Modelo.

Assim, entendeu-se que a aplicação desenvolvida deveria respeitar a base tecnológica das restantes aplicações da plataforma MacOS X. Foi então utilizada a *framework* Cocoa, adotado o modelo MVC e utilizado o ambiente de desenvolvimento Xcode.

5.3 Considerações de utilização

O fluxo de processamento criado foi definido tendo em conta a otimização dos resultados das análises conjuntas de conectividade funcional e estrutural. Contudo, a implementação rígida desse fluxo seria um entrave à sua utilização por vários investigadores ou profissionais de saúde. A sua flexibilização contribuiria para o alargamento do espectro de utilizadores pelo que foram consideradas algumas situações para que tal fosse possível.

As análises conjuntas de conectividade funcional e estrutural podem resumir-se à conjugação dos resultados de ambas. Com efeito, as análises propriamente ditas são independentes. Uma vez que o fluxo de processamento implementa ambas as análises, seria desejável que a aplicação desenvolvida permitisse também realizar análises de conectividade funcional e estrutural isoladamente.

Um outro aspecto diz respeito ao pré-processamento dos dados de ambas as modalidades. Apesar de terem sido incluídas as etapas de pré-processamento mais importante, não existe ainda um consenso generalizado quanto à utilização de algumas dessas etapas. Alguns utilizadores podem inclusivamente considerar que essas etapas não serão necessárias para os seus estudos. Assim, deverá ser possível optar pela exclusão das etapas que se considerarem desnecessárias.

Ainda relativamente ao pré-processamento, por forma a diminuir o número de interações necessárias por parte do utilizador, este deverá poder ser realizado de uma só vez. Desta forma, uma vez que algumas etapas são demoradas, o utilizador fica livre para realizar outro tipo de tarefas. Contudo, frequentemente, existe a necessidade de voltar a pré-processar os dados, alterando uma das etapas de pré-processamento. Para que, nesta situação, o utilizador não tenha de pré-processar as imagens desde o início, seria importante que o pudesse fazer apenas a partir da etapa desejada.

Tratando-se de estudos exigentes em termos de tempo de processamento, é comum que a análise de um estudo composto por vários casos não possa ser iniciada e terminada num só dia. Como tal, a aplicação deverá permitir ainda guardar o estado de um estudo, para que possa ser retomado mais tarde.

5.4 Arquitetura

Tendo em conta que o modelo de *design* recomendado para a *framework* Cocoa é o modelo MVC, considerou-se que a arquitetura da aplicação desenvolvida deveria respeitar esse modelo. Como tal, BrainCAT é constituído por três elementos chave que estabelecem uma correspondência com o modelo MVC.

Para o Modelo foi desenvolvida a classe *Estudo*. Uma vez que o modelo é o componente responsável pela lógica do programa, os objetos da classe *Estudo* contêm os dados necessários à implementação do fluxo de processamento e permitem aplicar as etapas que o compõem. Cada etapa do fluxo de processamento corresponde a um método distinto desta classe. Esta estruturação modular permite que cada etapa possa ser executada independentemente, oferecendo uma maior flexibilidade. Além disso, etapas compostas por mais do que um passo (e.g. normalização) são implementadas num só método, servindo assim como uma primeira camada de abstração aos procedimentos implementados em cada etapa. Note-se que, em estudos com mais do que um caso, cada método aplica a respectiva etapa de processamento a todos os casos. Isto significa que uma etapa é aplicada a todos os casos do estudo antes de ser possível passar à etapa seguinte.

A Visualização é composta por uma interface gráfica desenvolvida com recurso ao Interface Builder. Esta interface será convenientemente explicada numa secção posterior.

Para que as seleções e parâmetros definidos pelo utilizador através da interface possam ser refletidos em alterações no estado dos objetos da classe *Estudo* e vice-versa, foi necessário criar um Controlador. A classe responsável por este comportamento denominou-se de *ConnectivityController*.

Além dos elementos já enunciados foi também criada uma classe adicional – a classe *Comando*. A maioria dos programas utilizados no fluxo de trabalho foram desenvolvidos para

serem executados como comandos da `bash`⁶, sendo fundamental poderem aceder às suas variáveis de ambiente. A classe *Comando* foi desenvolvida para que os programas necessários pudessem ser executados desta forma. Apesar da *framework* Cocoa incluir uma classe própria designada de `NSTask` que permite a um processo invocar a execução de um outro programa independente, esta classe foi especialmente concebida para executar programas de forma assíncrona. Contudo, na implementação do fluxo de processamento, uma etapa só deve ser iniciada após a etapa anterior ter sido concluída. Isto equivale à execução de forma síncrona dos programas a serem invocados. Apesar da classe `NSTask` possuir um método próprio para execuções síncronas, este método leva muitas vezes a uma situação de *deadlock*. A classe *Comando* foi desenvolvida de forma a contornar esse problema, permitindo aos objetos da classe *Estudo* executar os comandos necessários à implementação de cada etapa do fluxo de trabalho.

5.5 Interface do utilizador

O objetivo primordial de uma interface gráfica é tornar a interação de um programa com o utilizador o mais simples e eficiente possível, melhorando a capacidade do utilizador para alcançar os objetivos pretendidos. Além de todos os princípios básicos que devem ser tidos em conta, foi dada especial atenção à implementação de um design simples e minimalista, especialmente focado nas funções a que se destina.

O principal objetivo da aplicação desenvolvida é implementar de forma eficiente e automatizada o fluxo de processamento proposto. Como tal, não deverá ser incluída na interface informação que não seja necessária à implementação do fluxo de processamento. O número de parâmetros a serem definidos pelo utilizador deve ser minimizado, facilitando a execução de todas as etapas do fluxo de processamento.

Ao desenvolver a interface do BrainCAT, optou-se por uma divisão lógica da mesma, consoante a utilidade pretendida para cada elemento e o grau de interatividade com o utilizador. A interface criada apresenta-se na Figura 5.1 e a sua divisão encontra-se refletida na Figura 5.2.

⁶ O interpretador de linhas de comandos mais utilizado nos sistemas Linux e MacOS X é designado de `bash`.

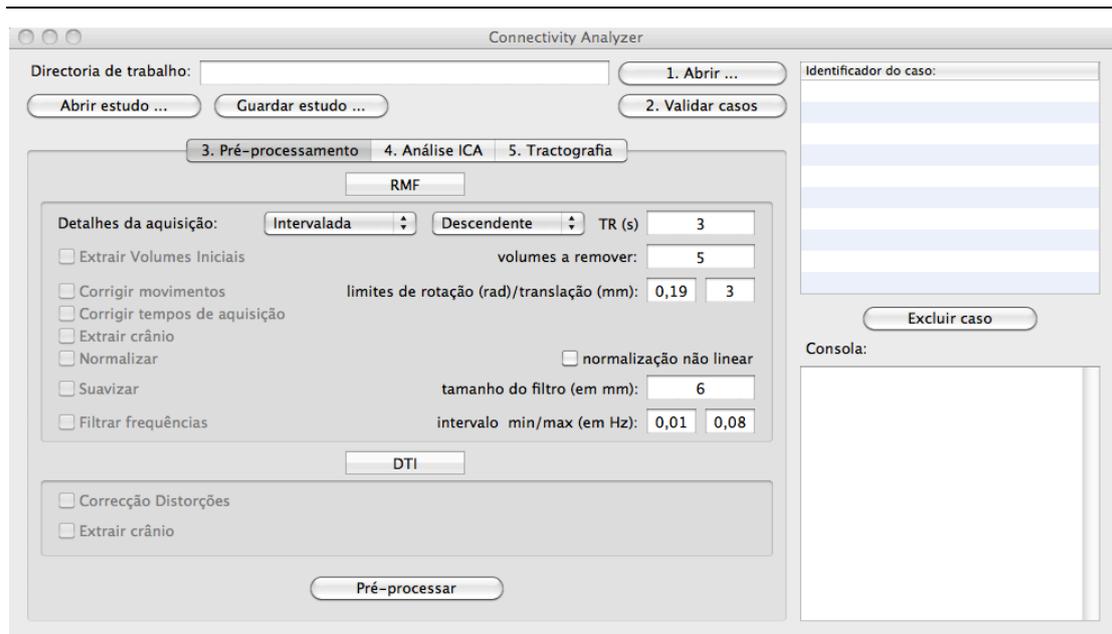


Figura 5.1. Aspecto geral da interface desenvolvida.

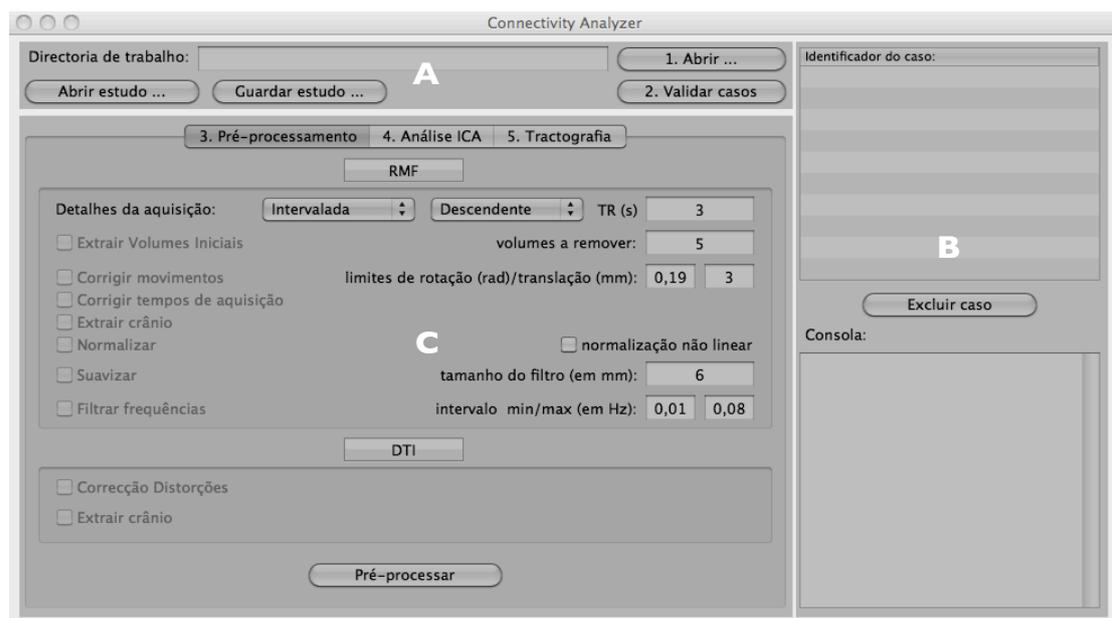


Figura 5.2. Divisão lógica da interface do BrainCAT.

No topo da janela da aplicação (Figura 5.2.A) foram colocados os elementos que permitem ao utilizador realizar operações de entrada e saída. Estas incluem a seleção de uma diretoria de trabalho, bem como os elementos que permitem guardar um estudo ou abrir um já existente.

Para o lado direito da janela da aplicação foram relegados os elementos informativos (Figura 5.2.B). Assim, neste lado e em cima foi introduzida uma tabela para permitir ao utilizador

verificar, em qualquer momento, quais os casos que fazem parte do estudo. Por baixo da tabela foi introduzida uma consola com o objetivo de fornecer ao utilizador todo o tipo de informação adicional, incluindo várias indicações sobre a forma como decorre o processamento das imagens.

O restante espaço da janela da aplicação (Figura 5.2.C) foi ocupado com os elementos da interface que permitem ao utilizador controlar as etapas do fluxo de processamento (à exceção da conversão de formato, como será posteriormente explicitado). Esta é a secção que ocupa a maioria da área da janela de forma a transmitir que este é o principal elemento da aplicação. Uma vez que o fluxo de processamento é constituído por um número considerável de etapas, optou-se por colocar nesta área uma vista por separadores, evitando assim concentrar todos os elementos necessários no mesmo elemento visual. Assim, esta vista foi dividida em 3 separadores: “Pré-processamento”, “Análise ICA” e “Tratografia”.

Os restantes elementos visuais e a sua disposição na interface do BrainCAT serão analisados com maior pormenor à medida que forem explicitadas as principais funcionalidades da aplicação. Foi ainda desenhado um ícone para facilitar a identificação do BrainCAT, que se apresenta na Figura 5.3 e cuja aparência remete para a temática da conectividade cerebral.

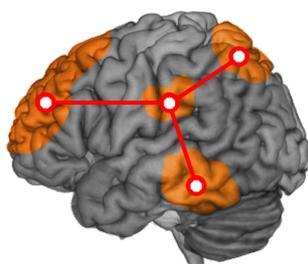


Figura 5.3. Ícone do BrainCAT.

5.6 Principais funcionalidades

A utilidade de uma aplicação e a forma como permite ao utilizador atingir os seus objetivos encontra-se diretamente relacionada com as funcionalidades que a aplicação implementa. No caso do BrainCAT, as funcionalidades implementadas refletem em grande parte a estrutura do fluxo de processamento subjacente.

Nesta secção serão descritas pormenorizadamente cada uma dessas funcionalidades, destacando as soluções encontradas para a sua implementação.

5.6.1 Criar um estudo

Um estudo neuroimagiológico de conectividade funcional ou estrutural é tipicamente composto por vários casos. Por cada caso são necessárias aquisições de diferentes modalidades, sendo que cada aquisição é composta por vários ficheiros de imagem. Daqui resulta não só um grande volume de dados mas também um elevado número de ficheiros. Como tal, é conveniente e prática comum organizar os dados de um estudo neste tipo de hierarquia sob uma diretoria de trabalho.

A aplicação desenvolvida não só tem em conta esta organização como tira partido dela. Para que se possa iniciar um novo estudo de conectividade cerebral, os ficheiros necessários devem ser dispostos em pastas segundo a hierarquia esquematizada na Figura 5.4. Esta disposição consiste em criar uma diretoria de trabalho sob a qual deve ser criada uma nova diretoria por cada caso. O nome destas diretorias deverá ser um identificador para o caso. Este identificador será incluído nos ficheiros resultantes da análise de cada caso, permitindo identificar o indivíduo a que dizem respeito. Sob a diretoria de cada caso deverão ser criadas três outras diretorias designadas de “Difusao”, “Estrutural” e “Funcional” onde serão colocadas as imagens DICOM ou NIfTI (caso a conversão de formato de dados já tenha sido realizada) das aquisições de difusão, estrutural e funcional, respectivamente.

Uma vez organizados devidamente todos os ficheiros de imagem necessários, o utilizador poderá dar início ao processamento das imagens com o BrainCAT. O primeiro passo consiste apenas em selecionar a diretoria de trabalho que será utilizada. Posteriormente a aplicação verificará a hierarquia de diretorias a partir da diretoria de trabalho e regista o *path* da primeira imagem de cada aquisição e o identificador dos casos cuja organização respeita os critérios definidos. Os identificadores são mostrados ao utilizador na respectiva tabela para que este se possa certificar que todos os casos pretendidos foram incluídos.

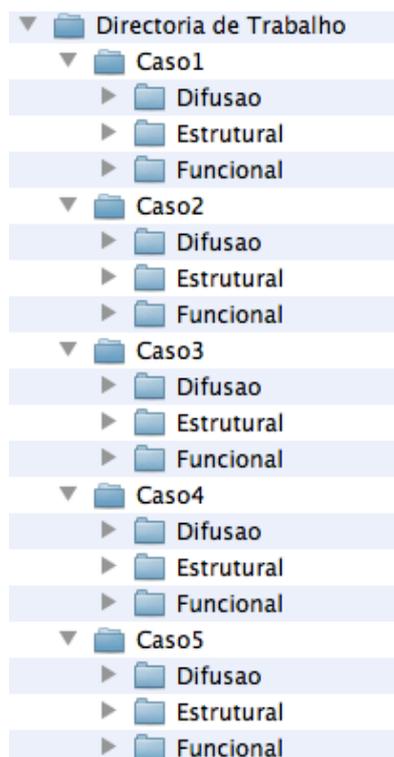


Figura 5.4. Organização da diretoria de trabalho necessária para a criação de um estudo de conectividade cerebral através do BrainCAT.

Antes de prosseguir, é permitido ao utilizador excluir os casos que, embora se encontrem na mesma diretoria de trabalho, não se pretendam incluir no estudo.

Para passar ao processamento propriamente dito, os casos identificados devem ser validados. Neste procedimento a aplicação cria um novo objeto da classe *Estudo* com os dados de cada caso procedendo do seguinte modo:

- em primeiro lugar é verificada a extensão dos ficheiros de imagem de cada caso. Nas situações em que as imagens se encontrem no formato DICOM são convertidas para o formato NIFTI.
- posteriormente é verificado se resultou da conversão um ficheiro de imagem para cada tipo de aquisição bem como um ficheiro com os vectores de gradiente e outro com os valores de b para cada direção da aquisição de difusão. Relativamente à aquisição de difusão é ainda verificado se a aquisição é a mesma para todos os casos através dos valores de b .
- o nome dos ficheiros é então alterado para um formato padrão constituído pelo identificador do caso, seguido de um conjunto de caracteres que identifica o tipo de

aquisição e, por fim, a extensão. A título de exemplo, o nome ficheiro da aquisição estrutural de um caso com o identificador “Caso1” deverá ser “Caso1_str.nii.gz”;

- por fim, os *paths* dos ficheiros NIfTI, os valores de *b* e os vectores dos gradientes são guardados sob a forma de atributos do objeto da classe *Estudo*.

Caso a criação do estudo tenha decorrido com sucesso, o utilizador passa a poder aplicar as restantes etapas do fluxo de processamento.

5.6.2 Pré-processamento

Uma vez validados os casos e inicializado um estudo, é apresentado ao utilizador o separador que lhe permite realizar o pré-processamento das imagens. Neste separador, o utilizador pode optar pela aplicação do pré-processamento separadamente às imagens de RMf, às imagens de DTI ou a ambas de uma só vez utilizando os botões “RMF” e “DTI” que ativam/desativam essas funcionalidades. Sob cada botão encontra-se um conjunto de *checkboxes* (Figura 5.5), uma para cada etapa de pré-processamento de cada modalidade, que permitem ao utilizador decidir quais as etapas que pretende aplicar. Por defeito, quando o utilizador pressiona um destes botões, todas as *checkboxes* são seleccionadas, ou seja, o fluxo de processamento padrão é aplicado.

Na Figura 5.5 pode-se também observar que todos os campos para os parâmetros do pré-processamento se encontram preenchidos automaticamente pela aplicação. Os valores apresentados são otimizados para as análises combinadas de RMf e DTI. Contudo, o utilizador deverá verificar se estes valores se adequam ao estudo que pretende realizar, especialmente no que diz respeito aos parâmetros da aquisição funcional (TR, aquisição ascendente/descendente, sequencial/intervalada), uma vez que variam de aquisição para aquisição.

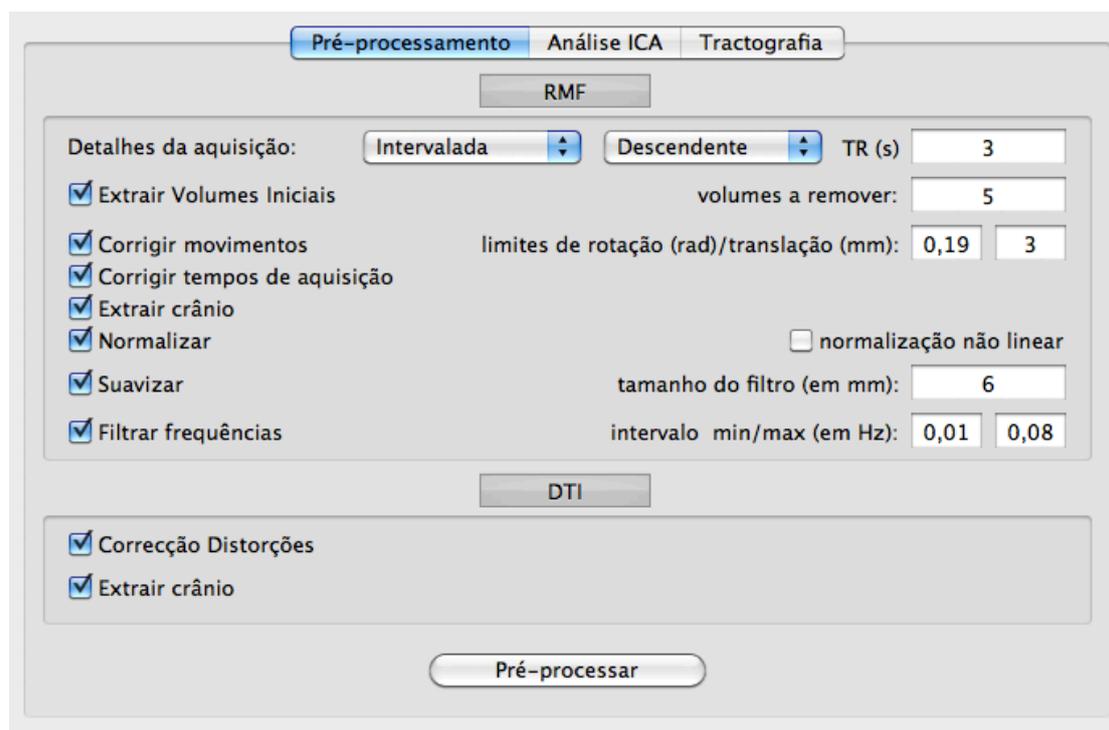


Figura 5.5. Aspecto geral do separador “Pré-processamento” quando se pretende aplicar o fluxo de processamento padrão.

Uma vez ajustados os parâmetros necessários pode-se dar início ao pré-processamento das imagens através do botão “Pré-processar”. A primeira operação desencadeada por este evento consiste em criar uma diretoria denominada “Pre-processamento” sob a diretoria de cada caso pertencente ao estudo. Todos os resultados das operações de pré-processamento serão colocados nesta diretoria. Para ser possível iniciar o pré-processamento, as imagens NIfTI das aquisições são copiadas para a diretoria criada e os atributos da classe *Estudo* com os *paths* das imagens pré-processadas são inicializados com os *paths* das cópias criadas.

Seguidamente, são executadas sequencialmente as etapas de pré-processamento cujas *checkboxes* se encontram seleccionadas. A execução das etapas de pré-processamento é realizada de forma simples. Em cada etapa, os *paths* das imagens de entrada são os *paths* das imagens de saída da última etapa de pré-processamento efetuada e que podem ser encontrados no respectivo atributo da classe *Estudo*. Finalizada a etapa, os ficheiros de imagem resultantes possuem um nome idêntico ao nome dos ficheiros de entrada com o acrescento de um sufixo que identifica a operação realizada. Os sufixos utilizados podem ser verificados no Apêndice A. No final de cada etapa, os atributos com os *paths* das imagens pré-processadas são atualizados, acrescentando-lhes o respectivo sufixo e o ciclo repete-se para

as restantes etapas. Desta forma, as imagens que servem de input a uma etapa são sempre as que resultaram da aplicação da etapa anterior, tal como se deseja para a aplicação de um fluxo de processamento.

A atribuição de prefixos por cada etapa de pré-processamento, permite identificar, pela simples leitura do nome dos ficheiros de imagem, quais as etapas de pré-processamento que já foram aplicadas a essas imagens.

Por fim, é de referir, que a ordem pela qual as etapas se encontram dispostas no separador, reflete a ordem pela qual serão realizadas. Contudo, quando se tratar de uma aquisição funcional com cortes intervalados, essa ordem será automaticamente alterada, realizando-se a correção dos tempos de aquisição antes da correção de movimentos. As razões para esta inversão foram já enunciadas no Capítulo 4.

5.6.3 Análise ICA

Terminado o pré-processamento das imagens, é apresentado o separador intitulado “Análise ICA”, apresentado na Figura 5.6. Este separador disponibiliza ao utilizador os meios necessários para realizar a análise de componentes independentes, bem como as etapas de pós-processamento que se seguem. Entendeu-se que o começo da análise deveria ser indicado pelo utilizador, e não automaticamente. Várias etapas do pré-processamento, embora esporadicamente, podem levar a que as imagens resultantes necessitem de algumas correções adicionais. Os principais problemas encontrados poderão dever-se a uma extração do crânio deficiente ou uma normalização insatisfatória. Assim, as análises deverão ser iniciadas apenas quando o utilizador se tiver certificado que o pré-processamento das imagens foi satisfatório. A escolha da realização da análise de componentes independentes previamente à tratografia deveu-se ao facto de se considerar que seria desejável que, no momento em que a aplicação tiver finalizado a tratografia, as ROIs das ativações estejam já disponíveis para a seleção dos feixes. Desta forma, nenhuma das análises é interrompida.

Pré-processamento **Análise ICA** Tractografia

ICA de grupo
 Definir nº de componentes

Calcular Componentes

Componente(s) de interesse (ex:5;6;2;9):
 Inverter componentes dos sujeitos (ex 1;4;6):
Limite de significância das activações (z score):

Calcular Clusters

Índices dos ROIs de interesse (ex:12 45; 32 67):
 Expandir ROIs (em mm):

Extrair ROIs

Figura 5.6. Aspecto geral do separador “Análise ICA” durante uma análise de grupo.

Tal como no pré-processamento, é desejável que as etapas que vão desde a análise ICA à extração das ROIs possam ser realizadas sequencialmente e sem interrupções. Contudo, não existem métodos totalmente automatizados que permitam a seleção da componente de interesse e das ativações a serem extraídas, pelo que, nestas etapas, será necessária a intervenção do utilizador. Como tal este conjunto de operações foi dividido em três momentos que correspondem a três ações distintas: cálculo das componentes, separação das ativações e extração de ROIs.

Cálculo das componentes

Com esta ação o utilizador dá início à análise propriamente dita. É disponibilizada ao utilizador a opção de realizar a análise de grupo (selecionada por defeito) ou, em alternativa, realizar a análise individual a todos os casos. O utilizador pode também optar por especificar o número de componentes que deve ser calculado ou deixar o software estimar esse número. Quando pretender iniciar a análise poderá fazê-lo através do botão “Calcular componentes”.

Da análise de grupo resulta a criação de uma diretoria denominada “ICADeGrupo”, sob a diretoria de trabalho, com os respectivos resultados. Se o utilizador tiver optado pela análise individual, será criada a diretoria “ICA” sob a diretoria de cada caso com os resultados da análise a esse caso. Em ambas as situações, a diretoria criada deverá conter um ficheiro de imagem NIFTI 4D, denominado “melodic_IC.nii.gz”, em que cada volume corresponde ao mapa de ativação de uma das componentes obtidas.

Por fim, a aplicação desenvolvida inicia o visualizador FSLView com o ficheiro de imagem anteriormente referido. Nas análises de grupo apenas um ficheiro é carregado. Nas análises individuais são carregados os ficheiros de cada caso. Uma vez que todos possuem a mesma designação, são listados por ordem alfabética do caso a que pertencem e que corresponde à ordem pela qual são apresentados na aplicação desenvolvida. Esta correspondência encontra-se ilustrada na Figura 5.7.



Figura 5.7. Correspondência entre a listagem dos casos na aplicação (imagem à esquerda) e a listagem dos ficheiros com as componentes no FSLView (imagem à direita), para as análises individuais.

Separação das ativações

Esta ação permite ao utilizador separar as diferentes ativações observadas com base num limite de significância estatístico. Em primeiro lugar o utilizador deverá, utilizando o visualizador aberto em resultado da ação anterior, identificar o índice da componente de interesse. Esse índice deverá ser introduzido na respectiva caixa de texto. Nos estudos individuais, deverão ser introduzidos tantos índices quantos os casos da análise.

É possível que o mapa de ativação da componente de interesse apresente valores de significância invertidos, ou seja, as ativações de interesse apresentam valores de significância estatística negativos. Como tal, é disponibilizada ao utilizador uma opção que lhe permite

inverter novamente essa componente. Para tal, é apenas necessário assinalar a respectiva “checkbox” e indicar o índice dos casos cujas componentes devem ser invertidas. Para que se possam separar espacialmente as diferentes ativações, é necessário especificar também o limite de significância que deve ser utilizado para as isolar. De salientar que é gerado ainda um ficheiro designado “clusters.txt” com os valores de intensidade, o valor máximo de z e as coordenadas do centróide de cada *cluster* identificado.

Definidos os parâmetros, o botão “Separar Ativações” permite iniciar o processo. Deste conjunto de eventos resulta a criação de um ficheiro de imagem apenas com a componente de interesse designado “componente.nii.gz” e um ficheiro com as ativações isoladas e identificadas com diferentes intensidades denominado “componente_cls.nii.gz”. Ambos os ficheiros serão gerados na mesma diretoria onde se encontra o ficheiro de imagem com as componentes da análise ICA. De seguida, o visualizador FSLView é novamente aberto, desta vez, com o mapa de ativações resultante.

Extração das ROIs

Esta é a ação que permite ao utilizador separar em diferentes ROIs as ativações de interesse. Previamente o utilizador deverá utilizar o FSLView para identificar quais as intensidades que correspondem às ativações que se pretendem transformar em ROIs. Esses valores de intensidade deverão ser introduzidos na respectiva caixa de texto separados por “ ” e separando por “;” as ativações pertencentes a diferentes sujeitos. O utilizador poderá também optar por expandir essas ROIs. Ao utilizar esta ação, por cada ativação é criado um ficheiro de imagem em que o sufixo “_cls” da designação do mapa de clusters é substituído pelo sufixo “_roi_” seguido do valor de intensidade da ativação (e.g. “componente_roi_45.nii.gz” para uma ativação com intensidade 45).

5.6.4 Tratografia

Para levar a cabo a análise da tratografia, o utilizador deverá utilizar o terceiro separador, denominado “Tratografia” (Figura 5.8). Caso a análise ICA tenha sido realizada previamente,

este separador é automaticamente mostrado ao utilizador. No entanto, o utilizador pode seleccioná-lo manualmente quando lhe convier. Devido à interação necessária com o visualizador TrackVis para a tratografia, a análise foi subdividida em três momentos distintos mas sequenciais: cálculo da tratografia, extração de feixes e computação de estatísticas.

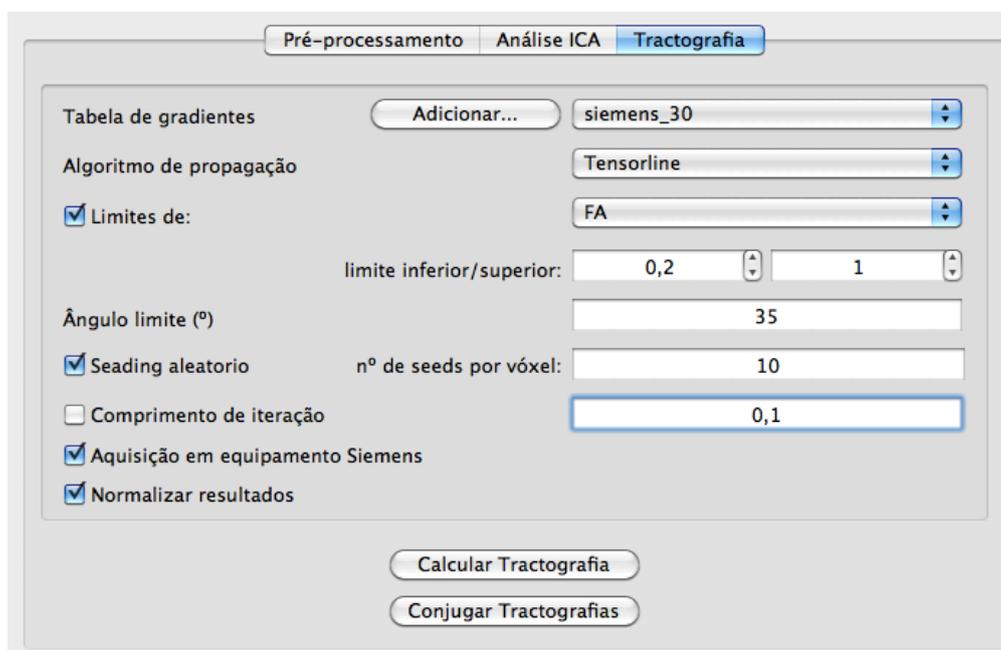


Figura 5.8. Aspecto do separador “Tratografia”.

Cálculo da Tratografia

A principal funcionalidade permitida por este separador consiste em calcular a tratografia para cada caso do estudo. Tal é possível através do botão “Calcular Tratografia”.

Para tal, o utilizador deverá definir, obrigatoriamente, a tabela de gradientes a ser utilizada e o algoritmo de propagação. Por defeito, o ângulo limite permitido para a curvatura das fibras é de 35°. Os restantes parâmetros são opcionais, o que significa que, quando utilizador não seleccionar a devida “checkbox” serão utilizados os parâmetros padrão referidos na descrição do fluxo de processamento. É de notar que é disponibilizada ao utilizador a opção de adicionar às tabelas de gradientes existentes, uma nova tabela personalizada. Esta tabela deverá apresentar a estrutura padrão das tabelas utilizadas pelo Diffusion Toolkit e encontrar-se num ficheiro de texto comum. Ao importar a tabela do ficheiro, aplicação copia-a para o ficheiro

com todas as tabelas do Diffusion Toolkit pelo que passa a encontrar-se disponível para futuras utilizações. O aspecto típico de uma tabela de gradientes no formato necessário pode ser consultado no Apêndice B.

Desta ação resulta a criação de uma diretoria designada de "Tratografia" sob a diretoria de cada caso, onde são colocados os resultados da tratografia. Caso a opção "Selecionar feixes com resultados da análise ICA" seja selecionada, é criada uma diretoria denominada "ROIsNativo". Sob esta são criadas diretorias designadas de acordo com o identificador de cada caso que compõe o estudo onde são colocadas as ROIs resultantes da análise ICA no espaço nativo de cada caso.

Extração de feixes e computação de estatísticas

Terminado o cálculo da tratografia, poderá dar-se início à extração dos feixes. Contudo, esta operação requer a interação do utilizador com o visualizador TrackVis. A impossibilidade de controlar as operações do visualizador através da aplicação levou a que fosse criado um painel de ajuda à sua utilização. O painel desenvolvido possui o aspecto demonstrado na Figura 5.9 e é automaticamente aberto quando o cálculo da tratografia termina. Para facilitar o acompanhamento do utilizador, a informação a ser apresentada foi dividida em passos e estes são apresentados ao utilizador de forma sequencial. Dois botões permitem ao utilizador passar de um passo para o seguinte quando entender e voltar ao passo anterior, se necessário.

Uma vez que a computação de estatísticas é implementada diretamente pelo visualizador TrackVis, este painel é também utilizado para auxiliar o utilizador nesse processo. As informações fornecidas através deste painel encontram-se descritas no Apêndice C e foram divididas nos seguintes passos:

- 1 – Importar a tratografia do primeiro caso;
- 2 – Importar as ROIs;
- 3 – Selecionar feixes por ROIs;
- 4 – Exportar feixes;
- 5 – Importar mapas de FA e ADC;

- 6 – Extrair estatísticas individuais;
- 7 – Repetir passos 1-6 para os restantes casos;
- 8 – Combinar feixes;
- 9 – Extrair estatísticas;

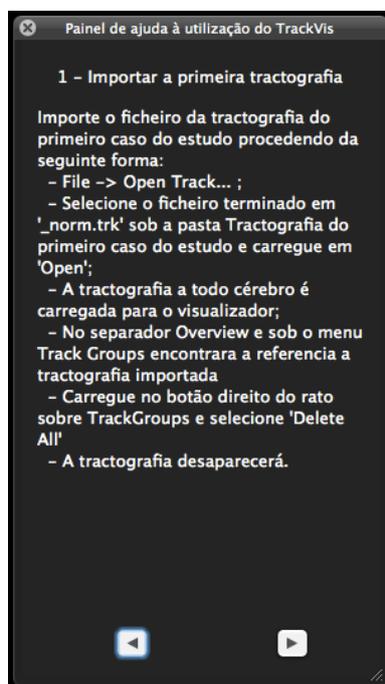


Figura 5.9. Painel de ajuda à utilização do TrackVis.

O 8º passo consiste na combinação dos feixes individuais num só. O TrackVis não permite esta operação pelo que foi acrescentada à aplicação a funcionalidade que se descreve de seguida.

Combinação de feixes

Esta ação permite ao utilizador combinar num só ficheiro de tractografia os feixes de fibras de cada caso do estudo. Só deve ser realizada quando o utilizador tiver terminado a seleção dos feixes de interesse segundo as indicações constantes no painel de ajuda à utilização do TrackVis.

Da seleção de feixes resulta, para cada caso do estudo, a criação de um ficheiro por cada feixe de fibras na diretoria “Tratografia” do respectivo caso. Se tiverem sido seguidas as indicações sugeridas, feixes de fibras que resultam da mesma combinação de ROIs possuem a mesma designação. Assim, aplicação combina todos os ficheiros com nomes iguais num único ficheiro que é colocado numa nova diretoria denominada “TratografiaDeGrupo”, sob a diretoria de trabalho. Pelas razões enunciadas na descrição do fluxo de processamento, este ficheiro é posteriormente transformado para o espaço nativo de cada indivíduo para as análises de índices escalares. O ficheiro com os feixes concatenados e no espaço nativo é colocado novamente na diretoria “Tratografia” do respectivo caso tendo sido acrescentado o sufixo “_grupo”.

5.6.5 Outras funcionalidades

Com o objetivo de melhorar vários aspectos da usabilidade da aplicação desenvolvida considerou-se que seria importante acrescentar algumas funcionalidades adicionais, tornando o BrainCAT mais amigável para o utilizador. Destas funcionalidades destacam-se a capacidade de poder guardar e abrir um estudo, várias mensagens de aviso, um indicador de progresso e várias mensagens auxiliares.

A informação crucial para um estudo encontra-se representada nos atributos do respectivo objeto da classe *Estudo*. A forma mais simples de guardar essa informação poderia passar por colocá-la num ficheiro de texto com um formato padrão. Contudo, a *framework* Cocoa fornece uma classe própria que permite guardar toda a informação que caracteriza um objeto num ficheiro de uma forma estruturada. Uma outra classe permite interpretar a informação desse ficheiro e reconstituir o respectivo objeto. Esta implementação tem a vantagem de guardar o objeto sob a forma de uma “property list” que permite consultar, mesmo sem utilizar a aplicação desenvolvida, os dados que compõem o estudo.

Para auxiliar utilizador, as operações de abrir e guardar apresentam painéis que permitem ao utilizador especificar os respectivos ficheiros de forma interativa.

Sempre que o utilizador tenta realizar uma operação que não deve ser permitida, essa operação é abortada e é apresentada ao utilizador uma mensagem de aviso que o informa

sobre a causa que motivou essa interrupção. A título de exemplo, para se iniciar o pré-processamento das imagens, é necessário que o objeto da classe *Estudo* já tenha sido inicializado, ou seja, os casos têm que ter sido validados. Assim, quando o utilizador tenta pré-processar as imagens sem que os casos tenham sido validados, a mensagem de aviso apresentada na Figura 5.10 é exibida e o pré-processamento é abortado.

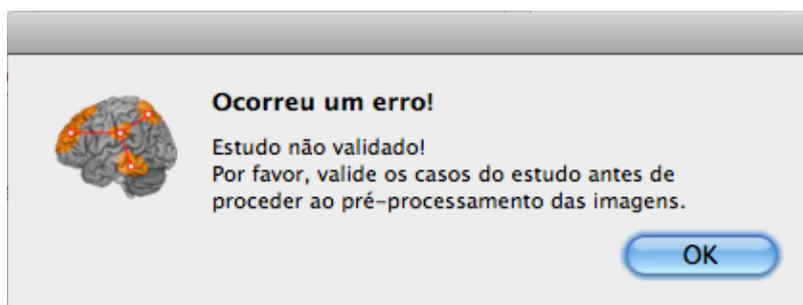


Figura 5.10. Mensagem de aviso mostrada quando se tenta iniciar o pré-processamento das imagens sem que os casos tenham sido validados.

Muitas das etapas de pré-processamento que compõe o fluxo de trabalho proposto são muito demoradas e implicam que a aplicação permaneça inutilizável por longos períodos de tempo. Esta situação é semelhante à que se verifica quando uma aplicação bloqueia e deixa de responder.

Para distinguir entre estas situações inclui-se um indicador de progresso (Figura 5.11) que é mostrado sempre que uma operação de processamento é iniciada e ocultado quando termina. Durante o processamento, o indicador exibe uma animação que permite ao utilizador perceber que o processamento decorre normalmente.

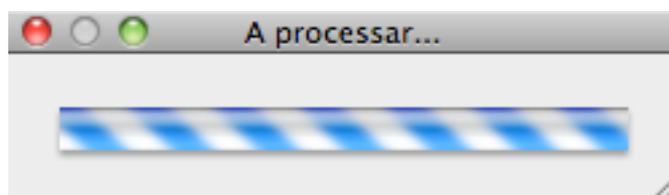


Figura 5.11. Indicador de progresso mostrado durante as etapas de processamento.

A capacidade que uma aplicação tem de comunicar com o utilizador é extremamente importante para melhorar a sua usabilidade. Como tal, várias mensagens auxiliares são exibidas ao utilizador através de uma consola criada para o efeito. Estas mensagens incluem

indicar quando cada etapa é iniciada ou terminada, bem como várias mensagens de confirmação de sucesso.

5.7 Testes e resultados

A aceitação e adoção das tecnologias é influenciada por duas dimensões: a utilidade e a facilidade de utilização (Davis, 1989). Para que o trabalho desenvolvido pudesse ser convenientemente avaliado em termos destas duas dimensões, foi proposto um conjunto de testes cujos resultados serão apresentados nas secções seguintes. Para comprovar a sua utilidade, a aplicação desenvolvida foi utilizada no processamento dos dados de um conjunto de casos. Posteriormente, afim de verificar a facilidade de utilização, foram realizados alguns testes complementares junto dos utilizadores.

5.7.1 Teste de utilidade

O fluxo de processamento foi aplicado a um estudo constituído por exames de 15 indivíduos jovens, recrutados após uma publicitação informal do estudo. Todos os indivíduos eram saudáveis e não possuíam qualquer historial de doenças neurológicas ou lesões cerebrais. As aquisições funcionais, estruturais e de difusão foram todas realizadas numa única sessão, no mesmo dia e num equipamento Siemens Magnetom Avanto 1.5T aprovado clinicamente e instalado no Hospital de São Marcos em Braga. O estudo foi aprovado pelo comité de ética do hospital. Além disso, as aquisições foram realizadas após terem sido dadas aos indivíduos explicações relativas ao estudo e mediante o devido consentimento por escrito.

A Tabela 5.I apresenta os parâmetros utilizados em cada aquisição. De referir que se tratou de uma aquisição RMf de repouso em que os indivíduos foram instruídos a permanecer imóveis, com os olhos fechados e tentando não pensar em nada em particular. Os cortes da aquisição de difusão foram captados intervaladamente e de forma ascendente.

Tabela 5.I. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas para os casos do estudo.

Parâmetro/Aquisição	Estrutural	Funcional	Difusão
Resolução no plano	1,2 x 1,2 mm	3,4 x 3,4 mm	2 x 2 mm
Espessura de corte	1,2 mm	5 mm	2 mm
Matriz de aquisição	192 x 192 x 160	64 x 64 x 30	120 x 120 x 61
FOV	256 mm	192 mm	240 mm
TE	3,62 ms	50 ms	99 ms
TR	2,4 s	3 s	8,8 s
Nº de DWIs	-	-	30
Nº de b0	-	-	1
Nº de repetições	-	-	1
b máximo	-	-	1000 s/mm ²

Todo o processamento (pré-processamento, análise e pós-processamento) foi realizado com recurso à aplicação desenvolvida. Durante o pré-processamento, os primeiros 5 volumes da aquisição funcional foram descartados e aos restantes foi aplicada a correção de movimentos, correção dos tempos de aquisição, extração do crânio, normalização linear, suavização com um filtro FWHM de 6 mm e filtragem das frequências compreendidas no intervalo de 0,01-0,08 Hz. À aquisição de difusão foi aplicada a correção de distorções e movimentos à qual se seguiu a extração do crânio. Seguiu-se a análise de componentes independentes em que foi selecionada a componente com as ativações características da DMN. Foram então convertidos em ROIs os *clusters* correspondentes ao MPFC e PCC, após ter sido aplicado um limite de significância de $z > 3,09$ ($p < 0,001$). Por fim foi realizada a análise aos dados de DTI. Após o cálculos dos tensores, a tratografia foi realizada com recurso ao algoritmo “Streamline”. Em cada vóxel foram colocadas 10 *seeds* dispersas aleatoriamente. A propagação das fibras foi terminada nas situações em que o valor de FA foi inferior a 0,2 ou o ângulo de curvatura ultrapassou os 35°. No final, foram selecionados os feixes que interligavam as ROIs do MPFC e do PCC e os feixes resultantes foram combinados num único ficheiro.

O mapa de conectividade funcional da DMN obtido encontra-se representado na Figura 5.12. Por observação visual do mapa em conjunto com a análise dos resultados da Tabela 5.II, constatou-se a existência de um elevado grau de conectividade funcional entre as regiões que compõe o MPFC, o PCC e o IPL esquerdo e direito.

Tabela 5.II. Valores de intensidade, valor máximo de z e respectivas coordenadas MNI obtidos para o MPFC, PCC, IPL esquerdo e IPL direito.

	intensidade	z-score máximo	z (mm)	z (mm)	Z (mm)
MPFC	22	9,87	-2	56	8
PCC	21	14,4	0	-48	30
IPL esquerdo	20	8,65	56	-64	24
IPL Direito	19	9,74	-48	-60	30

Da análise de conectividade estrutural entre o MPFC e o PCC obteve-se um conjunto de fibras (Figura 5.13) cuja disposição se assemelha a um feixe neuronal muito conhecido – o feixe do cíngulo. O feixe obtido era composto por 336 fibras no total de todos os indivíduos. O comprimento médio das fibras era de $104,65 \pm 9,43$ mm, com a menor fibra gerada a medir 50,49 mm e a mais comprida 163,46 mm. Relativamente aos índices escalares observou-se um valor médio de FA de $0,51 \pm 0,04$ e de MD de $0,7 \times 10^{-3} \pm 0,03 \times 10^{-3}$. Estes resultados replicam os resultados obtidos nos estudos combinados de RMf e DTI mais credenciados (Greicius et al., 2009; van den Heuvel et al., 2009; van den Heuvel et al., 2008).

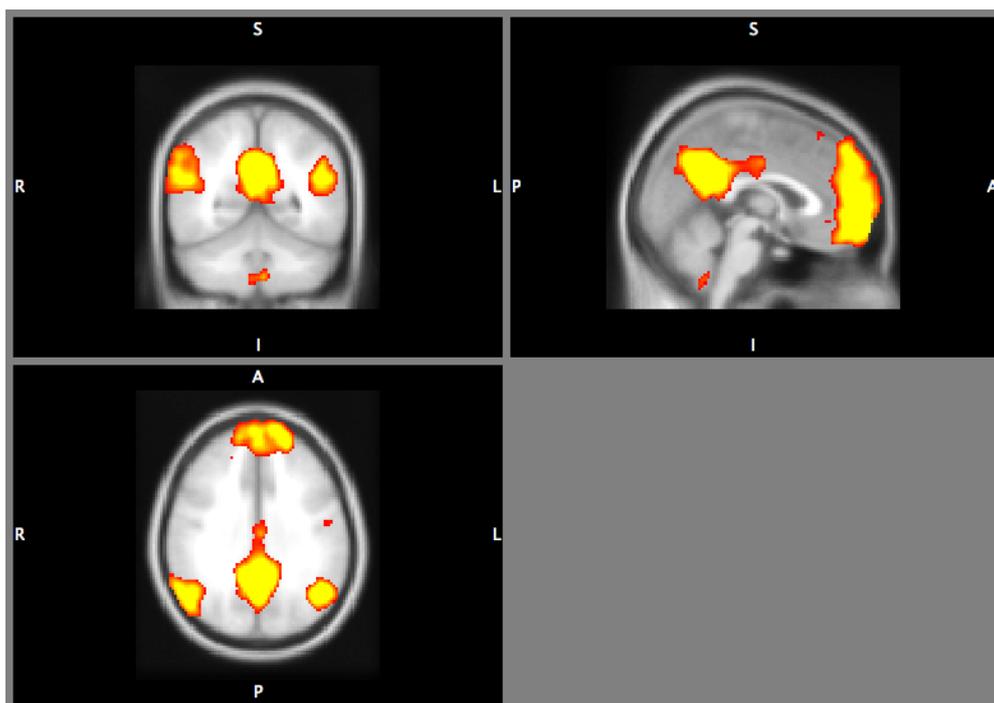


Figura 5.12. Mapa de ativação da componente da DMN onde se observa um elevado nível de conectividade funcional entre o MPFC, PCC e IPL.

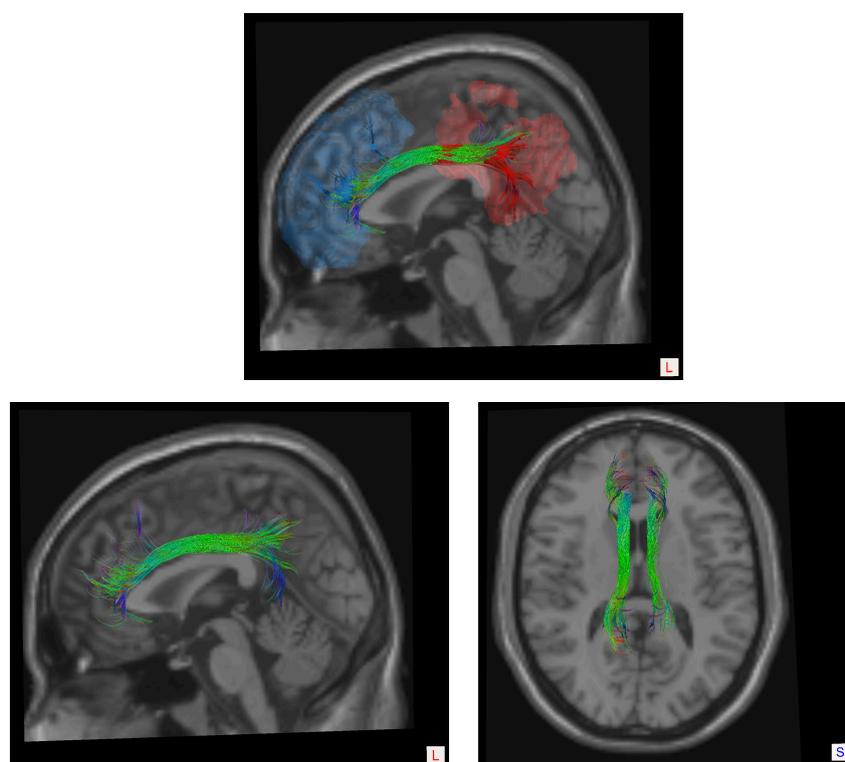


Figura 5.13. Fibras resultantes da combinação dos feixes selecionados para todos os casos do estudo.

5.7.2 Testes de facilidade de utilização

A utilização da aplicação num caso de estudo permitiu comprovar a sua utilidade no que se refere à obtenção de resultados válidos. Estes resultados vão de encontro aos objetivos estabelecidos para o fluxo de processamento mas não comprovam as melhorias em termos de facilidade de utilização que advêm da aplicação criada. Não existe atualmente uma forma definida de medir a facilidade de utilização, contudo é comum aceitar-se que se encontra estritamente relacionada com as expectativas por parte do utilizador de que o software deve permitir realizar as tarefas necessárias com o menor esforço possível.

Numa tentativa de verificar se aplicação é mais fácil de utilizar do que as soluções existentes, foram definidos três aspectos que se consideraram influenciar o esforço do utilizador, nomeadamente: a facilidade de aprendizagem, o tempo gasto na definição dos parâmetros das etapas de processamento e os erros introduzidos inadvertidamente. Para se obter uma medida destes fatores realizou-se um simples teste que consistiu em pedir a um conjunto de 3 utilizadores, com experiência no processamento de dados de RMf e DTI, que processassem os dados de 3 dos 15 casos utilizados no estudo anterior. Esse processamento foi realizado em duas condições distintas:

1. Na primeira foi pedido aos utilizadores que realizassem todas as operações que compõem o fluxo de processamento proposto, utilizando as soluções de software indicadas no Capítulo 4 e, quando possível, as respectivas interfaces gráficas;
2. A segunda condição impunha que os utilizadores realizassem o mesmo processamento utilizando para tal a aplicação desenvolvida.

Durante o processamento foi registado o tempo que decorreu desde o início do processamento (incluindo a organização dos casos) até à obtenção dos dados estatísticos. Foi ainda registado o número de utilizadores que obtiveram resultados errados.

Como foi referido, a facilidade de utilização (FU) foi definida em função da facilidade de aprendizagem (FA), tempo de definição de parâmetros (T_{in}) e do número de erros (N_{err}) podendo-se representar pela expressão:

$$FU = f(FA, T_{in}, N_{err}) \quad \text{Equação 5.1}$$

Por sua vez, o tempo gasto no processamento dos dados (T) resulta da soma do tempo que cada operação ($i = 1 \dots n$) leva a ser executada pela aplicação (T_{ex}) com o tempo gasto na definição de parâmetros:

$$T = \sum_{i=1}^n T_{ex_i} + T_{in_i} \quad \text{Equação 5.2}$$

Por outro lado, uma vez que, nas duas condições testadas, foram utilizadas as mesmas operações e as mesmas ferramentas na sua implementação, o tempo de execução das operações será equivalente em ambos os casos e as diferenças nos tempos de processamento devem-se apenas a diferenças nos tempos de definição dos parâmetros:

$$T1 - T2 = T1_{in} - T2_{in} \quad \text{Equação 5.3}$$

Após a realização dos testes, verifica-se que, em média, os utilizadores demoraram 205,5 minutos a realizar o processamento dos dados sem recurso à aplicação desenvolvida. Por outro lado, com a aplicação, o processamento levou 131,5 minutos em média. Estes valores indicam que a aplicação desenvolvida permite poupar uma quantidade de tempo significativa, reduzindo a necessidade do utilizador interagir com a aplicação na definição dos parâmetros e, conseqüentemente, potenciando um aumento de produtividade.

No que diz respeito aos erros involuntários, é de referir que, nos testes da primeira condição, 1/3 dos utilizadores obteve resultados incorretos enquanto que, com a utilização da aplicação todos obtiveram sucesso. Os erros registados deveram-se a transformações espaciais incorretas que, por sua vez, foram consequência da introdução errada das imagens que deveriam ser utilizadas. Este tipo de situação não se verifica utilizando a solução desenvolvida uma vez que as localizações dos ficheiros de entrada são automaticamente definidos pela aplicação.

No que diz respeito à facilidade de aprendizagem, não foi realizada uma análise concreta uma vez que não seria possível realizar uma análise rigorosa deste tipo num espaço de tempo tão curto quanto o disponível. Contudo, é de registar que, no momento de realizar o teste da primeira condição, os utilizadores inquiridos demonstraram grande apreensão devido à complexidade das operações necessárias, ao número de aplicações que teriam de utilizar e à dificuldade em utilizar essas aplicações. Este tipo de situação não se verificou no teste da segunda condição.

Capítulo 6

Conclusões e trabalho futuro

Ideias chave:

- Com o trabalho realizado pretendeu-se definir, implementar e automatizar um fluxo de processamento para a conjugação dos resultados das análises de RMf e DTI.
- O fluxo de processamento criado permite obter resultados consistentes com estudos anteriores, o que valida os resultados obtidos
- A aplicação desenvolvida é simples, de fácil utilização e reduz significativamente o tempo de duração dos estudos combinados de RMf e DTI.
- As contribuições deste trabalho constituem um importante contributo para na simplificação e conseqüente disseminação dos estudos multimodais de conectividade cerebral.

O advento das Tecnologias da Informação e da Informática Médica veio revolucionar o modo como os cuidados de saúde são prestados e a forma como novos problemas são encarados. Os avanços em neuroimagem são muitas vezes indissociáveis do desenvolvimento de novas soluções informáticas colocadas ao dispor dos profissionais de saúde. Este facto torna-se mais evidente quando se constata que as ferramentas informáticas fazem parte de todas as etapas neuroimagingológicas, indo desde a captação do sinal à visualização dos resultados obtidos.

Apesar das vantagens que a utilização de ferramentas informáticas trouxe a esta área, a maior parte dessas ferramentas foram desenvolvidas por cientistas/investigadores com o intuito de responder a necessidades particulares. Isto resultou num vasto conjunto de soluções de software disponíveis atualmente que, como tal, não são tão robustas, úteis para uso geral e fáceis de utilizar como poderiam ser.

Este problema é particularmente notório quando, através da combinação das modalidades de RMf e DTI, se pretendem estabelecer relações entre a conectividade funcional e estrutural do cérebro humano, permitindo aceder à designada conectividade cerebral. Apesar da reconhecida

relevância destes estudos intermodais, a falta de padrões ou normas de processamento, aliados aos procedimentos técnicos morosos e complexos constitui uma dificuldade acrescida.

Com a presente dissertação pretendeu-se propor um fluxo de processamento estruturado que pudesse servir de referência para futuros estudos combinados de RMf e DTI, utilizando para tal os procedimentos mais disseminados em ambas as modalidades e soluções de software de licença gratuita e já existentes. Propôs-se ainda a criação de uma aplicação de simples utilização que permitisse automatizar a implementação do fluxo de trabalho proposto, diminuindo assim muito do tempo despendido pelo utilizador.

Com o intuito de definir o fluxo de processamento, foi efetuado um estudo exaustivo das soluções de software mais utilizadas no processamento dos dados das modalidades de RMf e DTI. Tendo resultado numa análise comparativa das soluções de software estudadas evidenciando as principais características de cada solução. Foi concebido um fluxo de processamento para a conjugação dos resultados da análise de componentes independentes às aquisições de RMf com os resultados da tratografia quantitativa dos dados de DTI. Cada etapa que compõe o fluxo foi estudada de modo a permitir a sua automatização.

O trabalho culminou com o desenvolvimento de uma aplicação para as plataformas MacOS X. Esta aplicação apresenta uma interface de aspecto compacto e simples para implementar o fluxo de processamento concebido, permitindo realizar estudos de grupo ou vários estudos individuais, simultaneamente e de forma automatizada. Além disso, são permitidas análises isoladas de cada modalidade. Embora os testes realizados não tenham sido muitos, devido às limitações de tempo, os resultados obtidos foram francamente positivos. Alcançou-se uma melhoria de produtividade significativa, tendo-se passado de uma duração média de 206 minutos para 132 minutos. É de referir que, durante os testes, os utilizadores consideraram que a ferramenta criada é de fácil utilização, simplificando consideravelmente o processamento dos dados. Os testes realizados indicam que solução desenvolvida responde de forma satisfatória aos objetivos propostos. Na aplicação a um caso de estudo foi possível obter resultantes consistentes com os resultados obtidos por alguns dos investigadores mais reconhecidos na realização deste tipo de análise intermodal.

Os resultados deste trabalho têm especial importância como contributo na disseminação e simplificação das análises de conectividade cerebral, com todos os benefícios que daí possam advir.

6.1 Trabalho futuro

Terminado o trabalho da presente dissertação, após um período refletivo sobre tudo o que foi conseguido, fica a ideia de que este trabalho poderá vir a constituir um importante passo rumo a novas metas. Durante todo o desenvolvimento, novas ideias e possíveis melhoramentos foram surgindo e cuja implementação seria extremamente positiva para futuros desenvolvimentos. De seguida são expostas as principais ideias identificadas.

Ambas as modalidades de RM expostas são modalidades recentes e caracterizadas pela falta de padronização de procedimentos. Devem ser tomadas medidas no sentido de uma maior padronização desses procedimentos e que possa conduzir a consensos no seio da comunidade científica. Além disso, as soluções de software disponíveis deverão ser melhoradas no sentido de simplificar o trabalho do utilizador, com interfaces mais intuitivas e interativas.

Com a utilização da aplicação desenvolvida, foram obtidos melhoramentos significativos na análise intermodal, permitindo conjugar os resultados de ambas as análises. A integração de outro tipo de análises, outras modalidades de RM ou modalidades neuroimagiológicas como TC poderão ser desenvolvimentos com elevada relevância. Para potenciar as análises de conectividade cerebral poderão ser implementadas funcionalidades que permitam calcular diretamente graus de conectividade funcional entre as diferentes áreas identificadas via ICA. Além disso, a introdução da análise de grafos poderá ser extremamente benéfica na análise dos resultados de ambas as modalidades. A integração dos resultados de conectividade funcional e estrutural com estudos volumétricos seria também pertinente.

Com a aplicação desenvolvida pretende-se alertar para os claros benefícios da utilização de soluções informáticas integradas e automatizadas no processamento dos dados das modalidades neuroimagiológicas de RM e que permitem conjugar resultados intermodais. Este tipo de soluções constituem ferramentas extremamente úteis, facilitando a realização de estudos neuroimagiológicos. Este aspecto conduz à disseminação deste estudos neuroimagiológicos, potenciando o surgimento de importantes desenvolvimentos em investigação científica e na prática clínica cujos benefícios se repercutem em melhores cuidados de saúde.

Referências

- Apple Inc. (2011). Cocoa - Mac OS X Technology Overview - Apple Developer. Retrieved December 7, 2011, from <http://developer.apple.com/technologies/mac/cocoa.html>
- Asclepios Research Project. (2010). Asclepios Research Project - INRIA Sophia Antipolis. Retrieved December 5, 2011, from <http://www-sop.inria.fr/asclepios/software/MedINRIA/>
- Ashburner, J., & Friston, K. J. (2000). Voxel-based morphometry—the methods. *NeuroImage*, *11*(6 Pt 1), 805-821. doi:10.1006/nimg.2000.0582
- Ashby, F. G. (2011). *Statistical Analysis of FMRI Data*. MIT Press.
- Bandettini, P. (2007). Functional MRI today. *International Journal of Psychophysiology*, *63*(2), 138-145. doi:10.1016/j.ijpsycho.2006.03.016
- Barker, G. J., & Amaro, E. (2006). Study design in fMRI : Basic principles. *Brain and Cognition*, *60*, 220-232. doi:10.1016/j.bandc.2005.11.009
- Basser, P. J., Pajevic, S., Pierpaoli, C., Duda, J., & Aldroubi, A. (2000). In vivo fiber tractography using DT-MRI data. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *44*(4), 625-632.
- Basser, P. J., Mattiello, J., Turner, R., & Le Bihan, D. (1993). Diffusion tensor echo-planar imaging of human brain. *Proceedings of the SMRM*, 584.
- Battery, R. O. (2010). Human Connectome Project Awards \$40 Million. *Journal of Investigative Medicine*, *58*(8), 929.
- Beckmann, C. F., DeLuca, M., Devlin, J. T., & Smith, S. M. (2005). Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *360*(1457), 1001-1013. doi:10.1098/rstb.2005.1634

- Behrens, T. E. J., Woolrich, M. W., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Nunes, R. G., Clare, S., Matthews, P. M., et al. (2003). Characterization and propagation of uncertainty in diffusion-weighted MR imaging. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *50*(5), 1077-1088. doi:10.1002/mrm.10609
- Bell, A. J., & Sejnowski, T. J. (1995). An information-maximization approach to blind separation and blind deconvolution. *NEURAL COMPUTATION*, *7*, 1129–1159.
- Birn, R. M., Diamond, J. B., Smith, M. A., & Bandettini, P. A. (2006). Separating respiratory-variation-related fluctuations from neuronal-activity-related fluctuations in fMRI. *NeuroImage*, *31*(4), 1536-1548. doi:10.1016/j.neuroimage.2006.02.048
- Biswal, B., Yetkin, F. Z., Haughton, V. M., & Hyde, J. S. (1995). Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *34*(4), 537-541.
- Biswal, B. B., Van Kylen, J., & Hyde, J. S. (1997). Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps. *NMR in Biomedicine*, *10*(4-5), 165-170.
- Brett, M. (2007). SliceTiming - MRC CBU Imaging Wiki. Retrieved December 7, 2011, from <http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/SliceTiming>
- Buckner, R. L., Andrews-Hanna, J. R., & Schacter, D. L. (2008). The brain's default network: anatomy, function, and relevance to disease. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1124*, 1-38. doi:10.1196/annals.1440.011
- Buckner, R. L., Snyder, A. Z., Shannon, B. J., LaRossa, G., Sachs, R., Fotenos, A. F., Sheline, Y. I., et al. (2005). Molecular, structural, and functional characterization of Alzheimer's disease: evidence for a relationship between default activity, amyloid, and memory. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *25*(34), 7709-7717. doi:10.1523/JNEUROSCI.2177-05.2005
- BWH. (2011). 3D Slicer. Retrieved December 5, 2011, from <http://www.slicer.org/>
- CABI. (n.d.). dcm2nii DICOM to NIFTI conversion. Retrieved December 5, 2011, from <http://www.cabiatl.com/micro/mricron/dcm2nii.html>

- Calhoun, V. D., & Adali, T. (2006). Unmixing fMRI with independent component analysis. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine: The Quarterly Magazine of the Engineering in Medicine & Biology Society*, 25(2), 79-90.
- Calhoun, V. D., Adali, T., Pearlson, G. D., & Pekar, J. J. (2001). A method for making group inferences from functional MRI data using independent component analysis. *Human Brain Mapping*, 14(3), 140-151.
- Castellanos, F. X., Margulies, D. S., Kelly, C., Uddin, L. Q., Ghaffari, M., Kirsch, A., Shaw, D., et al. (2008). Cingulate-precuneus interactions: a new locus of dysfunction in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biological Psychiatry*, 63(3), 332-337. doi:10.1016/j.biopsych.2007.06.025
- Castelo-Branco, M., Formisano, E., Backes, W., Zanella, F., Neuenschwander, S., Singer, W., & Goebel, R. (2002). Activity patterns in human motion-sensitive areas depend on the interpretation of global motion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(21), 13914-13919. doi:10.1073/pnas.202049999
- Coenen, V. A., Krings, T., Mayfrank, L., Polin, R. S., Reinges, M. H., Thron, A., & Gilsbach, J. M. (2001). Three-dimensional visualization of the pyramidal tract in a neuronavigation system during brain tumor surgery: first experiences and technical note. *Neurosurgery*, 49(1), 86-92; discussion 92-93.
- Cohen, R., & Sweet, L. (2010). *Brain Imaging in Behavioral Medicine and Clinical Neuroscience*. Springer.
- Cole, D. M., Smith, S. M., & Beckmann, C. F. (2010). Advances and pitfalls in the analysis and interpretation of resting-state FMRI data. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 4, 8. doi:10.3389/fnsys.2010.00008
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., McKinstry, R. C., et al. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(18), 10422 -10427. doi:10.1073/pnas.96.18.10422
- Cordes, D., Haughton, V., Carew, J. D., Arfanakis, K., & Maravilla, K. (2002). Hierarchical clustering to measure connectivity in fMRI resting-state data. *Magnetic Resonance Imaging*, 20(4), 305-317.

- Cordes, D., Haughton, V. M., Arfanakis, K., Wendt, G. J., Turski, P. A., Moritz, C. H., Quigley, M. A., et al. (2000). Mapping Functionally Related Regions of Brain with Functional Connectivity MR Imaging. *American Journal of Neuroradiology*, *21*(9), 1636 -1644.
- Correia, S., Lee, S. Y., Voorn, T., Tate, D. F., Paul, R. H., Zhang, S., Salloway, S. P., et al. (2008). Quantitative tractography metrics of white matter integrity in diffusion-tensor MRI. *NeuroImage*, *42*(2), 568-581. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.05.022
- Damoiseaux, J. S., Rombouts, S. A. R. B., Barkhof, F., Scheltens, P., Stam, C. J., Smith, S. M., & Beckmann, C. F. (2006). Consistent resting-state networks across healthy subjects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(37), 13848 -13853. doi:10.1073/pnas.0601417103
- Davis, F. D. (1989). Perceived Usefulness, Perceived Ease of Use, and User Acceptance of Information Technology (MISQ 89). *Management Information Systems Quarterly*, *13*, 319-339.
- Faro, S. H., Mohamed, F. B., Law, M., & Ulmer, J. T. (2011). *Functional Neuroradiology: Principles and Clinical Applications* (1st ed.). Springer.
- FIL. (2011). SPM - Statistical Parametric Mapping. Retrieved December 5, 2011, from <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>
- Filippi, C. G., Uluğ, A. M., Ryan, E., Ferrando, S. J., & van Gorp, W. (2001). Diffusion Tensor Imaging of Patients with HIV and Normal-appearing White Matter on MR Images of the Brain. *American Journal of Neuroradiology*, *22*(2), 277 -283.
- Filippi, M. (2009). *fMRI Techniques and Protocols* (1st ed.). Humana Press.
- FMRIB. (n.d.). FSL. Retrieved December 5, 2011, from <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>
- Fox, M. D., & Raichle, M. E. (2007). Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*, *8*(9), 700-711. doi:10.1038/nrn2201
- Fox, M. D., Snyder, A. Z., Vincent, J. L., Corbetta, M., Van Essen, D. C., & Raichle, M. E. (2005). The human brain is intrinsically organized into dynamic, anticorrelated functional networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(27), 9673 -9678. doi:10.1073/pnas.0504136102

- Frank, L. R. (2001). Anisotropy in high angular resolution diffusion-weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 45(6), 935-939.
- Friston, K. J., Frith, C. D., Liddle, P. F., & Frackowiak, R. S. (1993). Functional connectivity: the principal-component analysis of large (PET) data sets. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 13(1), 5-14. doi:10.1038/jcbfm.1993.4
- Friston, K. (2002). BEYOND PHRENOLOGY: What Can Neuroimaging Tell Us About Distributed Circuitry? *Annual Review of Neuroscience*, 25(1), 221-250. doi:10.1146/annurev.neuro.25.112701.142846
- Friston, K. J. (2007). *Statistical parametric mapping: the analysis of functional brain images*. Academic Press.
- Friston, K., Holmes, A., Worsley, K., Poline, J., Frith, C., & Frackowiak, R. (1994). Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach. *Hum. Brain Mapp.*, 2(4), 189-210.
- Gilbert, S. J., Dumontheil, I., Simons, J. S., Frith, C. D., & Burgess, P. W. (2007). Comment on "Wandering Minds: The Default Network and Stimulus-Independent Thought". *Science*, 317(5834), 43. doi:10.1126/science.1140801
- Gillard, J. H., Waldman, A. D., & Barker, P. B. (2005). *Clinical MR neuroimaging: diffusion, perfusion, and spectroscopy*. Cambridge University Press.
- Goebel, R. (2011a). Brain Innovation - Products - BrainVoyager QX. Retrieved December 5, 2011, from <http://www.brainvoyager.com/products/brainvoyagerqx.html>
- Goebel, R. (2011b). Diffusion Tensor Imaging. Retrieved December 5, 2011, from http://www.brainvoyager.com/bvqx/doc/UsersGuide/WebHelp/Content/DTITools/Diffusion_Tensor_Imaging.htm
- Goebel, R., & Esposito, F. (2010). Users Guide - Independent Component Analysis (ICA). Retrieved December 5, 2011, from <http://support.brainvoyager.com/functional-analysis-statistics/39-independent-component-analysis/84-users-guide-independent-component-analysis-ica.html>

- Greicius, M. D., Kiviniemi, V., Tervonen, O., Vainionpää, V., Alahuhta, S., Reiss, A. L., & Menon, V. (2008). Persistent default-mode network connectivity during light sedation. *Human Brain Mapping, 29*(7), 839-847. doi:10.1002/hbm.20537
- Greicius, M. D., & Menon, V. (2004). Default-mode activity during a passive sensory task: uncoupled from deactivation but impacting activation. *Journal of Cognitive Neuroscience, 16*(9), 1484-1492. doi:10.1162/0898929042568532
- Greicius, M. D., Srivastava, G., Reiss, A. L., & Menon, V. (2004). Default-mode network activity distinguishes Alzheimer's disease from healthy aging: evidence from functional MRI. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101*(13), 4637-4642. doi:10.1073/pnas.0308627101
- Greicius, M. D., Flores, B. H., Menon, V., Glover, G. H., Solvason, H. B., Kenna, H., Reiss, A. L., et al. (2007). Resting-State Functional Connectivity in Major Depression: Abnormally Increased Contributions from Subgenual Cingulate Cortex and Thalamus. *Biological psychiatry, 62*(5), 429-437. doi:10.1016/j.biopsych.2006.09.020
- Greicius, M. D., Krasnow, B., Reiss, A. L., & Menon, V. (2003). Functional connectivity in the resting brain: A network analysis of the default mode hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 100*(1), 253 -258. doi:10.1073/pnas.0135058100
- Greicius, M. D., Supekar, K., Menon, V., & Dougherty, R. F. (2009). Resting-State Functional Connectivity Reflects Structural Connectivity in the Default Mode Network. *Cerebral Cortex, 19*(1), 72 -78. doi:10.1093/cercor/bhn059
- Gusnard, D. A., & Raichle, M. E. (2001). Searching for a baseline: functional imaging and the resting human brain. *Nature Reviews. Neuroscience, 2*(10), 685-694. doi:10.1038/35094500
- Hasan, K. M., Walimuni, I. S., Abid, H., & Hahn, K. R. (2010a). A review of diffusion tensor magnetic resonance imaging computational methods and software tools. *Computers in Biology and Medicine. doi:10.1016/j.combiomed.2010.10.008*
- Hasan, K. M., Walimuni, I. S., Abid, H., & Hahn, K. R. (2010b). A review of diffusion tensor magnetic resonance imaging computational methods and software tools. *Computers in Biology and Medicine. doi:10.1016/j.combiomed.2010.10.008*
- van den Heuvel, M., Mandl, R., & Hulshoff Pol, H. (2008). Normalized Cut Group Clustering of

- Resting-State fMRI Data. *PLoS ONE*, 3(4), e2001. doi:10.1371/journal.pone.0002001
- van den Heuvel, M. P., & Hulshoff Pol, H. E. (2010). Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 20(8), 519-534. doi:10.1016/j.euroneuro.2010.03.008
- van den Heuvel, M. P., Mandl, R. C. W., Kahn, R. S., & Hulshoff Pol, H. E. (2009). Functionally linked resting-state networks reflect the underlying structural connectivity architecture of the human brain. *Human Brain Mapping*, 30(10), 3127-3141. doi:10.1002/hbm.20737
- van den Heuvel, M. P., Mandl, R. C. W., Luigjes, J., & Hulshoff Pol, H. E. (2008). Microstructural Organization of the Cingulum Tract and the Level of Default Mode Functional Connectivity. *The Journal of Neuroscience*, 28(43), 10844 -10851. doi:10.1523/JNEUROSCI.2964-08.2008
- Huettel, S. A., Song, A. W., & McCarthy, G. (2009). *Functional magnetic resonance imaging*. Sinauer Associates.
- Hyvärinen, A., & Oja, E. (1997). A Fast Fixed-Point Algorithm for Independent Component Analysis. *NEURAL COMPUTATION*, 9, 1483-1492.
- Ingvar, D. (1975). Patterns of brain activity revealed by measurements of regional cerebral blood flow. *Brain work*, 397-413.
- Jones, D. K., Simmons, A., Williams, S. C., & Horsfield, M. A. (1999). Non-invasive assessment of axonal fiber connectivity in the human brain via diffusion tensor MRI. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 42(1), 37-41.
- Jones, D. K. (2004). The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI: a Monte Carlo study. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 51(4), 807-815. doi:10.1002/mrm.20033
- Kennedy, D. P., & Courchesne, E. (2008). The intrinsic functional organization of the brain is altered in autism. *NeuroImage*, 39(4), 1877-1885. doi:10.1016/j.neuroimage.2007.10.052

- Kindlmann, G. (2004). Superquadratic Tensor Glyphs. In *Proceedings of IEEE TVCG/EG Symposium on Visualization 2004* (Vol. 147).
- Kleiser, R., Staempfli, P., Valavanis, A., Boesiger, P., & Kollias, S. (2009). Impact of fMRI-guided advanced DTI fiber tracking techniques on their clinical applications in patients with brain tumors. *Neuroradiology*, *52*(1), 37-46. doi:10.1007/s00234-009-0539-2
- Kunimatsu, A., Itoh, D., Nakata, Y., Kunimatsu, N., Aoki, S., Masutani, Y., Abe, O., et al. (2007). Utilization of diffusion tensor tractography in combination with spatial normalization to assess involvement of the corticospinal tract in capsular/pericapsular stroke: Feasibility and clinical implications. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI*, *26*(6), 1399-1404. doi:10.1002/jmri.20945
- Laboratory Of Brain Anatomical MRI. (2011). DTI software/data/atlas brain human/animal. Retrieved December 5, 2011, from <http://cmrm.med.jhmi.edu/>
- Laidlaw, D., Ahrens, E., Kremers, D., Avalos, M., Jacobs, R., & Readhead, C. (1998). Visualizing diffusion tensor images of the mouse spinal cord. In *VIS '98: Proceedings of the conference on Visualization '98* (pp. 127-134). Research Triangle Park, North Carolina, United States: IEEE Computer Society Press. Retrieved from <http://portal.acm.org/citation.cfm?id=288234>
- Lazar, M., Weinstein, D. M., Tsuruda, J. S., Hasan, K. M., Arfanakis, K., Meyerand, M. E., Badie, B., et al. (2003). White matter tractography using diffusion tensor deflection. *Human Brain Mapping*, *18*(4), 306-321. doi:10.1002/hbm.10102
- Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poupon, C., Clark, C. A., Pappata, S., Molko, N., & Chabriat, H. (2001). Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI*, *13*(4), 534-546.
- Lindquist, M. A. (2008). The Statistical Analysis of fMRI Data. *Statistical Science*, *23*(4), 439-464. doi:10.1214/09-STS282
- Lowe, M. J., Mock, B. J., & Sorenson, J. A. (1998). Functional connectivity in single and multislice echoplanar imaging using resting-state fluctuations. *NeuroImage*, *7*(2), 119-132. doi:10.1006/nimg.1997.0315
- Lowe, M., Dzemidzic, M., Lurito, J., Mathews, V., & Phillips, M. (2000). Correlations in Low-Frequency BOLD Fluctuations Reflect Cortico-Cortical Connections. *NeuroImage*, *12*(5),

582-587.

- Lucas, B. C., Bogovic, J. A., Carass, A., Bazin, P., Prince, J. L., Pham, D., & Landman, B. A. (2010). The Java Image Science Toolkit (JIST) for Rapid Prototyping and Publishing of Neuroimaging Software. *Neuroinformatics*, *8*(1), 5-17. doi:10.1007/s12021-009-9061-2
- Lui, S., Ouyang, L., Chen, Q., Huang, X., Tang, H., Chen, H., Zhou, D., et al. (2008). Differential interictal activity of the precuneus/posterior cingulate cortex revealed by resting state functional MRI at 3T in generalized vs. partial seizure. *Journal of Magnetic Resonance Imaging: JMRI*, *27*(6), 1214-1220. doi:10.1002/jmri.21370
- Malloy, P., Correia, S., Stebbins, G., & Laidlaw, D. H. (2007). Neuroimaging of white matter in aging and dementia. *The Clinical Neuropsychologist*, *21*(1), 73-109. doi:10.1080/13854040500263583
- Mantini, D., Perrucci, M. G., Del Gratta, C., Romani, G. L., & Corbetta, M. (2007). Electrophysiological signatures of resting state networks in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*(32), 13170 -13175. doi:10.1073/pnas.0700668104
- Mary Ann Liebert, Inc. (2010). New Brain Connectivity Journal Captures Latest Advances in Neuroscience Research. Retrieved January 12, 2011, from <http://www.prlog.org/11032945-new-brain-connectivity-journal-captures-latest-advances-in-neuroscience-research.html>
- Matthews, P. M., Honey, G. D., & Bullmore, E. T. (2006). Applications of fMRI in translational medicine and clinical practice. *Nat Rev Neurosci*, *7*(9), 732-744. doi:10.1038/nrn1929
- Mazoyer, B., Zago, L., Mellet, E., Bricogne, S., Etard, O., Houdé, O., Crivello, F., et al. (2001). Cortical networks for working memory and executive functions sustain the conscious resting state in man. *Brain Research Bulletin*, *54*(3), 287-298.
- MIALAB. (n.d.). GIFT Software. Retrieved December 5, 2011, from <http://mialab.mrn.org/software/gift/>
- Montreal Neurological Institute and Hospital. (2011). . Retrieved December 3, 2011, from <http://www.mni.mcgill.ca/>

- Mori, S., Crain, B. J., Chacko, V. P., & van Zijl, P. C. (1999). Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Annals of Neurology*, *45*(2), 265-269.
- Moseley, M. E., Kucharczyk, J., Asgari, H. S., & Norman, D. (1991). Anisotropy in diffusion-weighted MRI. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *19*(2), 321-326.
- Moseley, M. (2002). Diffusion tensor imaging and aging - a review. *NMR in Biomedicine*, *15*(7-8), 553-560. doi:10.1002/nbm.785
- Mukherjee, P., Chung, S. W., Berman, J. I., Hess, C. P., & Henry, R. G. (2008). Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations. *AJNR. American Journal of Neuroradiology*, *29*(5), 843-852. doi:10.3174/ajnr.A1052
- Mukherjee, P., Berman, J., Chung, S., Hess, C., & Henry, R. (2008). Diffusion Tensor MR Imaging and Fiber Tractography: Theoretic Underpinnings. *AJNR Am J Neuroradiol*, *29*(4), 632-641. doi:10.3174/ajnr.A1051
- Mulert, C., & Lemieux, L. (2009). *EEG - fMRI: Physiological Basis, Technique, and Applications* (1st ed.). Springer.
- Newton, H. B., & Jolesz, F. A. (2007). *Handbook of neuro-oncology neuroimaging*. Academic Press.
- Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R., & Tank, D. W. (1990). Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *87*(24), 9868 -9872.
- Pajevic, S., & Pierpaoli, C. (1999). Color schemes to represent the orientation of anisotropic tissues from diffusion tensor data: application to white matter fiber tract mapping in the human brain. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *42*(3), 526-540.
- Parker, G. J. M., Haroon, H. A., & Wheeler-Kingshott, C. A. M. (2003). A framework for a streamline-based probabilistic index of connectivity (PICO) using a structural interpretation of MRI diffusion measurements. *Journal of Magnetic Resonance*

- Imaging: JMRI*, 18(2), 242-254. doi:10.1002/jmri.10350
- Pierpaoli, C., & Basser, P. J. (1996). Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magnetic Resonance in Medicine: Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 36(6), 893-906.
- Pierpaoli, C., Jezzard, P., Basser, P. J., Barnett, A., & Di Chiro, G. (1996). Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology*, 201(3), 637-648.
- Pittman, B. (2008). AFNI Main Page – AFNI and NIfTI Server for NIMH/NIH/PHS/DHHS/USA/Earth. Document, . Retrieved December 5, 2011, from <http://afni.nimh.nih.gov/afni>
- Raichle, M. E., MacLeod, A. M., Snyder, A. Z., Powers, W. J., Gusnard, D. A., & Shulman, G. L. (2001). A default mode of brain function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(2), 676 -682.
- Refsnes. (2011). OS Statistics. Retrieved December 7, 2011, from http://www.w3schools.com/browsers/browsers_os.asp
- Reis, A. M., Pereira, S., Mascarenhas, L., Vaz, A. R., & Pereira, J. R. (2003). Clinical application of functional MR. Evaluation of motor functions and verbal fluency. *Acta Médica Portuguesa*, 16(3), 125-130.
- Rex, D. E., Ma, J. Q., & Toga, A. W. (2003). The LONI Pipeline Processing Environment. *NeuroImage*, 19(3), 1033-1048.
- Richter, R. W., & Richter, B. Z. (2004). *Alzheimer's disease: a physician's guide to practical management*. Humana Press.
- Rombouts, S. A. R. B., Barkhof, F., Goekoop, R., Stam, C. J., & Scheltens, P. (2005). Altered resting state networks in mild cognitive impairment and mild Alzheimer's disease: an fMRI study. *Human Brain Mapping*, 26(4), 231-239. doi:10.1002/hbm.20160
- Rose, S. E., Chen, F., Chalk, J. B., Zelaya, F. O., Strugnell, W. E., Benson, M., Semple, J., et al. (2000). Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 69(4), 528 -530. doi:10.1136/jnnp.69.4.528
- Ruopeng, W., & Wedeen, V. J. (2010). TrackVis. Retrieved December 5, 2011, from

<http://www.trackvis.org/>

- Sabsevitz, D., Swanson, S., Hammeke, T. A., Spanaki, M. V., Possing, E. T., Morris, G. L., Mueller, W. M., et al. (2003). Use of preoperative functional neuroimaging to predict language deficits from epilepsy surgery. *Neurology*, *60*(11), 1788 -1792. doi:10.1212/01.WNL.0000068022.05644.01
- Sarty, G. E. (2007). *Computing brain activity maps from fMRI time-series images*. Cambridge University Press.
- Saxe, R., Carey, S., & Kanwisher, N. (2004). Understanding other minds: linking developmental psychology and functional neuroimaging. *Annual Review of Psychology*, *55*, 87-124. doi:10.1146/annurev.psych.55.090902.142044
- Schacter, D. L., Addis, D. R., & Buckner, R. L. (2007). Remembering the past to imagine the future: the prospective brain. *Nature Reviews. Neuroscience*, *8*(9), 657-661. doi:10.1038/nrn2213
- Shannon, B. (2006). *Functional anatomic studies of memory retrieval and the default mode*.
- Shehzad, Z., Kelly, A. M. C., Reiss, P. T., Gee, D. G., Gotimer, K., Uddin, L. Q., Lee, S. H., et al. (2009). The resting brain: unconstrained yet reliable. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *19*(10), 2209-2229. doi:10.1093/cercor/bhn256
- Shortliffe, E. H. (1984). The science of biomedical computing. *Informatics for Health and Social Care*, *9*(3-4), 185-193.
- Shulman, G. L., Corbetta, M., Buckner, R. L., Fiez, J. A., Miezin, F. M., Raichle, M. E., & Petersen, S. E. (1997). Common Blood Flow Changes across Visual Tasks: I. Increases in Subcortical Structures and Cerebellum but Not in Nonvisual Cortex. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*(5), 624-647. doi:10.1162/jocn.1997.9.5.624
- Shulman, G. L., Fiez, J. A., Corbetta, M., Buckner, R. L., Miezin, F. M., Raichle, M. E., & Petersen, S. E. (1997). Common Blood Flow Changes across Visual Tasks: II. Decreases in Cerebral Cortex. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*(5), 648-663. doi:10.1162/jocn.1997.9.5.648
- Smith, S. M., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Rueckert, D., Nichols, T. E., Mackay, C. E., Watkins, K. E., et al. (2006). Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-

- subject diffusion data. *NeuroImage*, 31(4), 1487-1505.
doi:10.1016/j.neuroimage.2006.02.024
- Soares, J., & Alves, V. (2009). Functional Magnetic Resonance Imaging Data Manipulation - A new approach. In *World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, September 7 - 12, 2009, Munich, Germany*, IFMBE Proceedings (Vol. 25, pp. 36-39). Springer Berlin Heidelberg.
- Sokoloff, L., Mangold, R., Wechsler, R. L., Kennedy, C., & Kety, S. S. (1955). THE EFFECT OF MENTAL ARITHMETIC ON CEREBRAL CIRCULATION AND METABOLISM. *Journal of Clinical Investigation*, 34(7 Pt 1), 1101-1108.
- Sporns, O. (2010). *Networks of the Brain*. MIT Press.
- Sporns, O., Tononi, G., & Kötter, R. (2005). The human connectome: A structural description of the human brain. *PLoS Computational Biology*, 1(4), e42.
doi:10.1371/journal.pcbi.0010042
- Stejskal, E., & Tanner, J. (1965). Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient. *The Journal of Chemical Physics*, 42(1), 288-292.
- Stippich, C., Blatow, M., & Delmaire, C. (2007). *Clinical Functional MRI: Presurgical Functional Neuroimaging*. Springer.
- Sundgren, P. C., Dong, Q., Gomez-Hassan, D., Mukherji, S. K., Maly, P., & Welsh, R. (2004). Diffusion tensor imaging of the brain: review of clinical applications. *Neuroradiology*, 46(5), 339-350. doi:10.1007/s00234-003-1114-x
- Talairach, J., & Tournoux, P. (1988). *Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system : an approach to cerebral imaging*. Thieme.
- Tournier, J., Mori, S., & Leemans, A. (2011). Diffusion tensor imaging and beyond. *Magnetic Resonance in Medicine*, 65(6), 1532-1556. doi:10.1002/mrm.22924
- Tseytlin, E., Cunningham, D., Iyer, K., Carter, C., Schneider, W., Cohen, J., & Fissell, K. (2003). Fiswidgets: a graphical computing environment for neuroimaging analysis. *Neuroinformatics*, 1(1).
- Vasconcelos, J., Rocha, A., & Gomes, R. (2004). Sistemas de Informação de Apoio à Decisão Clínica: Estudo de um caso de uma Instituição de Saúde (pp. 3-5). Presented at the 5^a

- Conferência da Associação Portuguesa de Sistemas de Informação, Lisboa. Portugal.
- Vilanova, A., Zhang, S., Kindlmann, G., & Laidlaw, D. (2006). An Introduction to Visualization of Diffusion Tensor Imaging and Its Applications. In *Visualization and Processing of Tensor Fields* (pp. 121-153). Retrieved from http://dx.doi.org/10.1007/3-540-31272-2_7
- Wang, L., Zang, Y., He, Y., Liang, M., Zhang, X., Tian, L., Wu, T., et al. (2006). Changes in hippocampal connectivity in the early stages of Alzheimer's disease: Evidence from resting state fMRI. *NeuroImage*, *31*(2), 496-504. doi:16/j.neuroimage.2005.12.033
- Weinstein, D. M., Kindlmann, G. L., & Lundberg, E. C. (1999). Tensorlines: Advection-Diffusion based Propagation through Diffusion Tensor Fields. In *Visualization Conference, IEEE* (Vol. 0, p. 40). Los Alamitos, CA, USA: IEEE Computer Society. doi:<http://doi.ieeecomputersociety.org/10.1109/VISUAL.1999.809894>
- Worsley, K. J., Liao, C. H., Aston, J., Petre, V., Duncan, G. H., Morales, F., & Evans, A. C. (2002). A general statistical analysis for fMRI data. *NeuroImage*, *15*(1), 1-15. doi:10.1006/nimg.2001.0933
- Yan, C. (2011). Forum of resting-state fMRI. Retrieved December 5, 2011, from <http://restfmri.net/>
- Yan, C., & Zang, Y. (2010). DPARSF: A MATLAB Toolbox for "Pipeline" Data Analysis of Resting-State fMRI. *Frontiers in Systems Neuroscience*, *4*, 13. doi:10.3389/fnsys.2010.00013
- Zhou, Y., Liang, M., Tian, L., Wang, K., Hao, Y., Liu, H., Liu, Z., et al. (2007). Functional disintegration in paranoid schizophrenia using resting-state fMRI. *Schizophrenia Research*, *97*(1-3), 194-205. doi:10.1016/j.schres.2007.05.029

Apêndices

Apêndice A – Lista de sufixos

Da utilização da aplicação desenvolvida resultam vários ficheiros cujos nomes foram definidos acrescentando sufixos ao nome do ficheiro original. Nas Tabela A.I, Tabela A.II e Tabela A.III apresentam-se todos os sufixos utilizados e respectivos significados.

Tabela A.I. Prefixos utilizados nas etapas de pré-processamento.

Sufixo	Significado
_diff.nii.gz	Imagens de difusão
_str.nii.gz	Imagens estruturais
_fnc.nii.gz	Imagens funcionais
_vol.nii.gz	Imagens sem os volumes iniciais
_stime.nii.gz	Imagens com correção dos tempos de aquisição
_mcf.nii.gz	Imagens com correção de movimentos
_bet.nii.gz	Imagens com crânio removido
_mni.nii.gz	Imagens no espaço MNI
_flt.nii.gz	Imagens com filtragem de frequências
_smt.nii.gz	Imagens suavizadas
_warp.nii.gz	Transformação não linear
_2mni.mat	Matriz de normalização
_2str.mat	Matriz de co-registo
_eddy.nii.gz	Imagens com correção de distorções de <i>eddy currents</i>
_b0.nii.gz	Imagem b0
_mask.nii.gz	Máscara
_media.nii.gz	Imagem da média

Apêndices

_rot.png	Gráfico de rotações dos movimentos da cabeça
_trans.png	Gráfico de translações dos movimentos da cabeça

Tabela A.II. Prefixos utilizados nas etapas de processamento de RMf

Prefixo	Significado
_cls.nii.gz	Imagem com os <i>clusters</i> das ativações
roi(num).nii.gz	Imagem com a ROI cuja intensidade no mapa de <i>clusters</i> é (num)

Tabela A.III. Prefixos utilizados nas etapas de processamento de DTI.

Prefixo	Significado
_dti.trk	Ficheiro com os dados da tratografia
_adc.nii.gz	Imagem com o mapa de ADC
_fa.nii.gz	Imagem com o mapa de FA
_fa_color.nii.gz	Imagem com o mapa de FA colorido
_b0.nii.gz	Imagem b0
_dwi.nii.gz	Máscara de difusão
_e1.nii.gz	Imagem com o mapa de E1
_e2.nii.gz	Imagem com o mapa de E2
_e3.nii.gz	Imagem com o mapa de E3
_tensor.nii.gz	Imagens do tensor
_v1.nii.gz	Imagem com o mapa de V1
_v2.nii.gz	Imagem com o mapa de V2
_v3.nii.gz	Imagem com o mapa de V3

Apêndice B – Tabela de gradientes personalizada

Nas situações em que as tabelas padrão existentes não se encontram de acordo com a tabela de gradientes utilizada na aquisição, o utilizador pode definir uma tabela personalizada. O ficheiro da tabela deverá possuir a estrutura apresentada na Figura B.1.

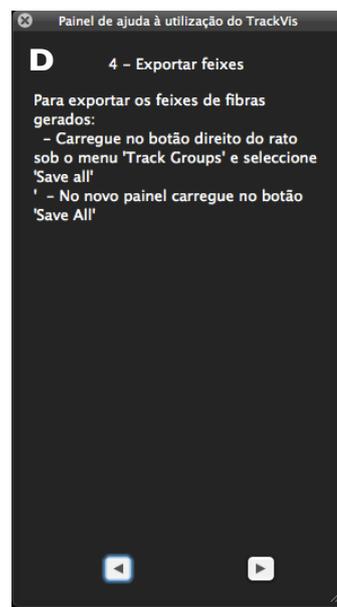
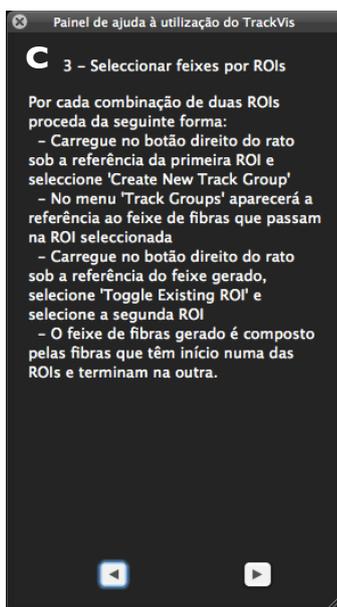
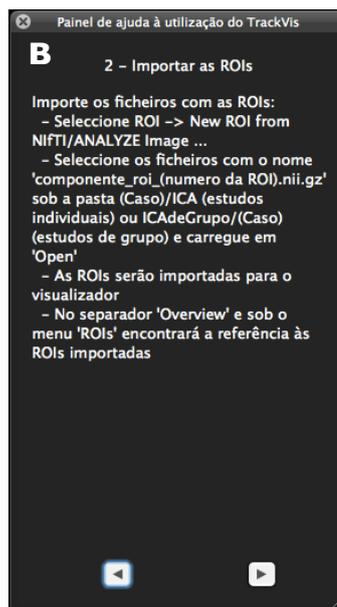
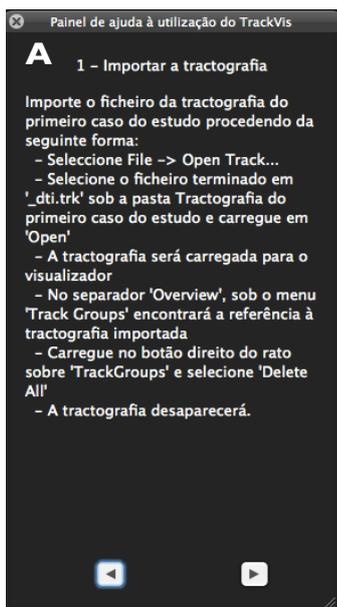
```
#name=siemens_30
-0.208098, 0.525514, 0.850005
0.202387, 0.526131, 0.851002
0.409956, 0.175267, 0.918257
-0.412630, 0.742620, 0.565889
-0.207127, 0.959492, 0.280092
-0.872713, 0.525505, 0.064764
-0.746815, 0.526129, 0.455449
-0.415238, 0.175473, 0.915841
-0.746636, 0.175268, 0.673642
-0.665701, 0.742619, -0.217574
-0.330391, 0.959489, -0.110458
-0.331275, 0.525513, -0.809983
-0.663936, 0.526130, -0.569521
-0.999332, 0.175474, -0.111904
-0.871398, 0.175267, -0.501922
0.001214, 0.742616, -0.700356
0.002949, 0.959483, -0.348370
0.667975, 0.525509, -0.565356
0.336490, 0.526126, -0.807431
0.202383, -0.175470, 0.985002
0.208094, 0.175265, -0.983848
0.666452, 0.742619, -0.215262
0.332212, 0.959489, -0.104850
0.205064, 0.958364, 0.285421
0.412630, 0.742620, 0.565889
0.746093, 0.175315, 0.674232
0.744110, 0.525505, 0.460568
0.871894, 0.526125, 0.070507
0.874264, 0.175471, -0.496841
1.000000, 0.175267, -0.106112
```

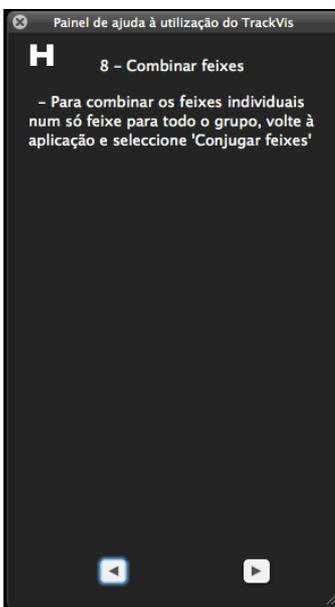
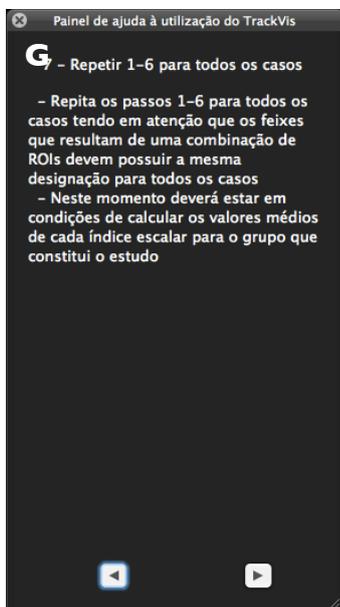
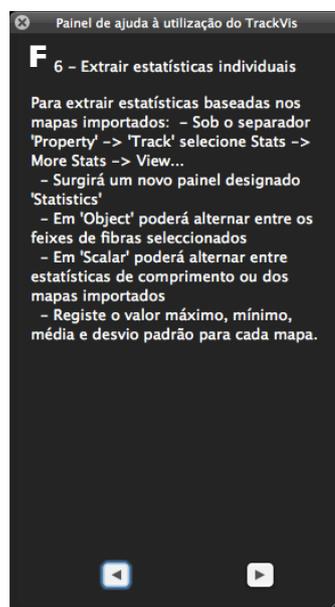
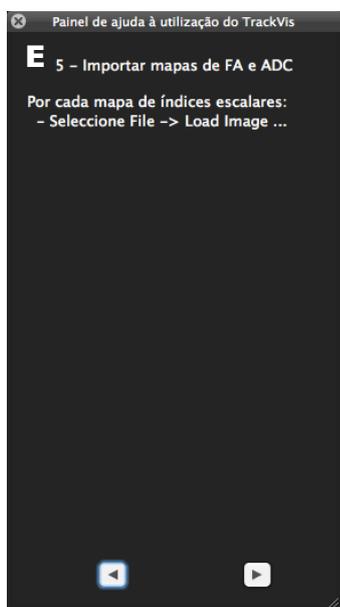
Figura B.1. Aspecto de uma tabela de gradientes capaz de ser importada pela aplicação.

Na primeira linha deverá constar a referência “#name=” seguida da designação que se pretende atribuir à tabela. No exemplo apresentado, a tabela personalizada será designada de “siemens_30”. Posteriormente, em cada linha deverá ser colocado um vector de gradiente normalizado, na ordem em que foram utilizados na aquisição, com as coordenadas de cada eixo (x, y e z) separadas por “,”. Na pode observar-se que a tabela possui 30 gradientes de direção diferentes.

Apêndice C – Mensagens de ajuda à utilização do TrackVis

O painel de ajuda à utilização do TrackVis apresenta ao utilizador um conjunto de mensagens com o intuito de o auxiliar no processo de seleção de feixes de fibras por ROIs e na extração de estatísticas. Na **Error! Reference source not found.** podem observar-se as mensagens que são apresentadas ao utilizador.





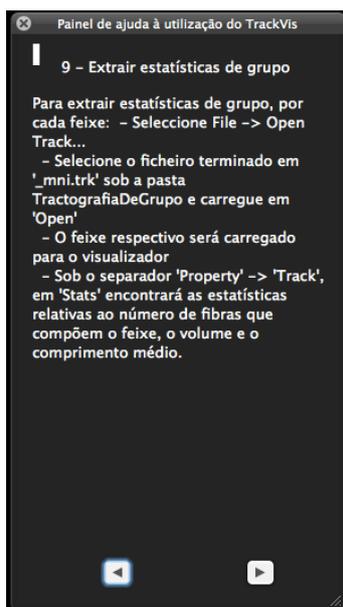


Figura C.1 Mensagens apresentadas ao utilizador através do painel de ajuda à utilização do TrackVis (A-I).