

**Universidade do Minho**  
Escola de Engenharia

Maria Adriana da Cunha Cepa

**Consistência e Fiabilidade de aplicações  
informáticas em Neuroimagem**



**Universidade do Minho**

Escola de Engenharia

Maria Adriana da Cunha Cepa

## **Consistência e Fiabilidade de aplicações informáticas em Neuroimagem**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica

Trabalho realizado sob a orientação do  
**Professor Doutor Victor Manuel Rodrigues Alves**  
e coorientação do  
**Mestre José Miguel Montenegro Soares**

Dezembro de 2012

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

Universidade do Minho, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

# AGRADECIMENTOS

O término da presente dissertação e ciclo de estudos a ela associados imperam um agradecimento especial a todas as partes que, direta ou indiretamente, se envolveram com o trabalho efetuado.

Primeiramente gostaria de agradecer ao Professor Doutor Vítor Manuel Rodrigues Alves por ter aceitado orientar o meu trabalho, por toda a disponibilidade demonstrada e pelos bons conselhos fornecidos.

Ao José Miguel Soares pela oportunidade de aprendizagem, todo o acompanhamento, disponibilidade e aconselhamento sempre pertinentes.

À minha avó por me ter recebido tão bem durante o desenrolar deste ciclo de estudos.

Agradeço ao Carlos por ser sempre um bom amigo e por me ter acompanhado e incentivado constantemente. Também agradeço aos meus amigos pelas conversas enriquecedoras, pelo grande apoio e companheirismo demonstrado.

Um agradecimento especial aos meus pais pelo carinho e incentivo e a toda a família em geral por serem parte integrante daquilo que sou.

Gostaria de dedicar este trabalho ao meu irmão, Alexandre Cepa. Que consigamos concretizar todos os nossos objetivos.



# TÍTULO

Consistência e Fiabilidade de aplicações informáticas em Neuroimagem

## RESUMO

Com os avanços tecnológicos atuais foram sendo desenvolvidas ferramentas informáticas capazes de efetuar uma análise estrutural ou funcional dos dados neuroimagingológicos de ressonância magnética. As aplicações atuais fornecem aos seus utilizadores uma oportunidade única de análise e visualização sem precedentes. No entanto estas carecem de padronização, daí que muitos dos resultados obtidos numa aplicação não possam ser reproduzidos noutra. Esta falta de interoperabilidade nos resultados obtidos surge então como um problema de difícil resolução.

Com o objetivo de facilitar a seleção do *software* de análise ideal, foi feito um estudo comparativo entre ferramentas informáticas aplicadas a diversos casos de estudo tendo por base a segmentação cerebral e a análise funcional de neuroimagens. Além dos casos práticos analisados foi feito um levantamento bibliográfico relacionado com a ressonância magnética estrutural e funcional, assim como com as aplicações que lhes estão relacionadas.

Os resultados obtidos no estudo estrutural foram analisados segundo os parâmetros das médias, desvio-padrão e dispersão dos dados. Relativamente aos resultados da análise funcional, estes foram avaliados em termos de número de *clusters* ativos detetados, a localização dos mesmos na anatomia cerebral e a significância estatística dessas ativações, verificando-se que a aplicação mais indicada para segmentação cerebral é o FreeSurfer e para a análise funcional de neuroimagens o SPM.

A conclusão deste trabalho salienta a necessidade de padronizar as diferentes ferramentas e técnicas utilizadas em estudos funcionais e estruturais de neuroimagens de forma a aproveitar todas as potencialidades da técnica de ressonância magnética.



# TITLE

Consistency and reliability of neuroimaging applications

# ABSTRACT

With the current technological advances, tools capable of performing a structural or functional analysis of neuroimaging data from MRI have been developed. Current applications provide its users a unique opportunity of unprecedented visualization and analysis. However, there is a lack of standardization, so many of the results obtained in an application may not be reproduced in another. This lack of interoperability of obtained results then arises as a problem of difficult resolution.

Aiming to facilitate the selection of the ideal analysis software, a comparative study between tools applied to several case studies based on brain segmentation and analysis of functional neuroimaging was made. In addition to the case studies analyzed, a bibliographical survey related to structural and functional magnetic resonance imaging was made, as well as with the applications that are related to them.

Regarding the results obtained in the study, these were analyzed according to the structural parameters of the averages, standard deviation and dispersion of the data. Relatively to the results of the functional analysis, these have been assessed in terms of the number of active clusters detected, their location in the brain anatomy and the statistical significance of these activations, verifying that the application best suited to brain segmentation is the FreeSurfer and to the analysis of functional neuroimaging is the SPM.

The conclusion of this work emphasizes the need to standardize the different tools and techniques used in functional and structural neuroimaging studies in order to take advantage of the full potential of MRI modalities.



# ÍNDICE

AGRADECIMENTOS .....	III
RESUMO .....	V
ABSTRACT .....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
LISTA DE TABELAS.....	XVII
NOTAÇÃO E TERMINOLOGIA.....	XIX
<b>1. CAPÍTULO 1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. ENQUADRAMENTO .....	3
1.2. OBJETIVOS .....	7
1.3. ORGANIZAÇÃO DO DOCUMENTO.....	7
<b>2. CAPÍTULO 2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA .....</b>	<b>9</b>
2.1. PRINCÍPIOS GERAIS DE RM .....	10
2.1.1. <i>Spin e magnetismo</i> .....	11
2.1.2. <i>Pulsos de Rádio frequência</i> .....	12
2.1.3. <i>Relaxação</i> .....	14
2.2. PROTOCOLOS DE RM .....	16
2.3. MODALIDADES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA .....	17
2.3.1. <i>Ressonância Magnética Estrutural</i> .....	17
2.3.2. <i>Ressonância Magnética funcional</i> .....	19
2.4. O EXAME DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	21
2.5. FERRAMENTAS PARA PROCESSAMENTO DE IMAGENS MÉDICAS DO CÉREBRO HUMANO .....	23
2.5.1. <i>Formato de ficheiros</i> .....	23
2.5.2. <i>Sistemas de coordenadas</i> .....	25
2.5.3. <i>Atlas e templates cerebrais</i> .....	26
<b>3. CAPÍTULO 3 ANÁLISE VOLUMÉTRICA CEREBRAL.....</b>	<b>29</b>
3.1. TÉCNICAS DE ANÁLISE VOLUMÉTRICA .....	30
3.1.1. <i>Volumes de Regiões de Interesse</i> .....	31
3.1.2. <i>Volume total do cérebro</i> .....	32
3.1.3. <i>Volumes Locais</i> .....	32
3.1.4. <i>Segmentação</i> .....	33
3.2. APLICAÇÕES INFORMÁTICAS PARA VOLUMETRIA CEREBRAL.....	34

3.2.1.	<i>FreeSurfer</i> .....	35
3.2.2.	<i>FSL</i> .....	36
3.2.3.	<i>SPM</i> .....	38
3.2.4.	<i>Ferramentas de conversão</i> .....	41
3.3.	METODOLOGIA .....	41
3.4.	APLICAÇÃO NOS CASOS DE ESTUDO .....	42
3.4.1.	<i>FreeSurfer</i> .....	43
3.4.2.	<i>FSL</i> .....	49
3.4.3.	<i>SPM</i> .....	62
4.	<b>CAPÍTULO 4 ANÁLISE FUNCIONAL</b> .....	67
4.1.	A IMAGEM DE RMF .....	68
4.2.	MAPEAMENTO FUNCIONAL .....	71
4.2.1.	<i>Paradigmas de estimulação</i> .....	71
4.2.2.	<i>Etapas de Pré-processamento</i> .....	74
4.3.	MÉTODOS DE ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	76
4.3.1.	<i>Modelo Linear Geral</i> .....	77
4.3.2.	<i>Resultados estatísticos</i> .....	80
4.3.3.	<i>Análise estatística de grupos</i> .....	81
4.4.	APLICAÇÕES INFORMÁTICAS PARA ANÁLISE FUNCIONAL .....	81
4.4.1.	<i>FSL - FEAT</i> .....	82
4.4.2.	<i>BrainVoyager</i> .....	84
4.4.3.	<i>SPM</i> .....	86
4.5.	METODOLOGIA .....	87
4.6.	APLICAÇÃO NOS CASOS DE ESTUDO .....	89
4.6.1.	<i>SPM</i> .....	91
4.6.2.	<i>FSL - FEAT</i> .....	97
4.6.3.	<i>BrainVoyager</i> .....	101
5.	<b>CAPÍTULO 5 RESULTADOS E CONCLUSÕES</b> .....	107
5.1.	AVALIAÇÃO GERAL DAS APLICAÇÕES .....	107
5.2.	SEGMENTAÇÃO CORTICAL.....	112
5.3.	SEGMENTAÇÃO SUBCORTICAL .....	117
5.4.	ANÁLISE FUNCIONAL .....	120
5.5.	SINOPSE .....	125
5.6.	CONCLUSÕES.....	127
5.7.	TRABALHO FUTURO.....	130
	REFERÊNCIAS .....	131

APÊNDICE A	PACOTES DE APLICAÇÕES DISPONÍVEIS PARA RM .....	137
APÊNDICE B	RESULTADOS SUBCORTICAIS.....	143
APÊNDICE C	ATIVAÇÕES OBTIDAS DA ANÁLISE RMF.....	145



# LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 2.1. Imagens estruturais obtidas a partir de um scanner de RM de 1.5 Tesla</i>	10
<i>Figura 2.2. Núcleo em rotação com carga positiva produz um momento magnético orientado paralelo ao eixo de rotação</i>	11
<i>Figura 2.3. Movimento de precessão de um núcleo de hidrogénio</i>	12
<i>Figura 2.4. Vetor de magnetização e todos os seus componentes. Adaptado de (Kowkabzadeh, 2012).</i>	13
<i>Figura 2.5. Comparação dos sinais de T2* e T2 para o mesmo tecido com homogeneidades diferentes. Adaptado de (McRobbie, et al., 2006).</i>	14
<i>Figura 2.6. Curva de recuperação de T1. Adaptado de (Westbrook, 2002).</i>	15
<i>Figura 2.7. Scanner de RM Magnetom Avanto 1.5T da Siemens. Adaptado de (Siemens Corporation, 2012).</i>	21
<i>Figura 2.8. Imagens funcionais obtidas num scanner de RM de 1.5T.</i>	22
<i>Figura 2.9. Representação dos três eixos principais utilizados no espaço de coordenadas padrão para RM</i>	25
<i>Figura 2.10. Figura esquemática da localização da CA e CP. Adaptado de (Rorden, 2002).</i>	27
<i>Figura 3.1. Esquema com as principais medições que podem ser feitas pelos métodos de morfometria</i>	30
<i>Figura 3.2. Segmentação cerebral de uma imagem RM ponderada por T1. Esquerdo: Imagem cerebral sem o crânio. Direito: Imagem segmentada com a SB a branco, SC a cinzento e CSF a vermelho</i>	34
<i>Figura 3.3. Módulos existentes na aplicação de neuroimagem FSL</i>	37
<i>Figura 3.4. Layout do menu principal da aplicação FSL</i>	38
<i>Figura 3.5. Layout do programa SPM8</i>	39
<i>Figura 3.6. Sobreposição entre as imagens "brainmask.mgz" e "aseg.mgz"</i>	46
<i>Figura 3.7. Superfícies de SB, pial e parcellação cortical</i>	47
<i>Figura 3.8. Substância branca e cinzenta no "ribbon.mgz" nos planos sagital (a) e coronal (b)</i>	47
<i>Figura 3.9. Substância branca do "aseg.mgz" (cima) e substancia cinzenta do "aparc.a2009s+aseg.mgz" (baixo) nos planos sagital (a), coronal (b) e transversal (c)</i>	48
<i>Figura 3.10. Interface gráfica da ferramenta BET do FSL</i>	50

<i>Figura 3.11. Comparação entre a imagem original e a imagem após o processamento com o BET nos cortes coronal (A), sagital (B) e transversal (C)</i>	51
<i>Figura 3.12. Interface gráfica para o FAST</i>	53
<i>Figura 3.13. Resultado da segmentação da SB (lado esquerdo) e SC (lado direito) nas vistas coronal (A), sagital (B) e transversal (C) obtidos através do MRICron</i>	54
<i>Figura 3.14. Resultados da segmentação obtidos pelo FAST com sobreposição das substâncias branca e cinzenta nos planos coronal (A), sagital (B) e transversal (C) obtidos a partir do FSLview</i>	54
<i>Figura 3.15. Diferentes volumes das estruturas subcorticais com o MRICron</i>	56
<i>Figura 3.16. Meshes de superfície das diferentes estruturas subcorticais obtidas a partir do Paraview na vista coronal</i>	56
<i>Figura 3.17. Resultado da verificação de registo com o FSL</i>	59
<i>Figura 3.18. Resultado da verificação segmentação utilizando o FSL</i>	59
<i>Figura 3.19. Interface gráfica do FLIRT</i>	60
<i>Figura 3.20. Layout da segmentação no SPM</i>	62
<i>Figura 3.21. Resultado da segmentação cortical utilizando o SPM</i>	66
<i>Figura 4.1. Função de resposta hemodinâmica (FRH) com divisão em sete fases. Adaptado de (Mazzola, 2009)</i>	70
<i>Figura 4.2. Esquema dos procedimentos gerais para a obtenção de mapas funcionais do cérebro humano</i>	71
<i>Figura 4.3. Esquema exemplificativo de um paradigma em blocos (A) e de um paradigma baseado em eventos (B). Adaptado de (Pastorello, 2011).</i>	73
<i>Figura 4.4. Etapas padrão para pré-processamento de dados de RMf. Adaptado de (Poldrack, et al., 2011)</i>	75
<i>Figura 4.5. Esquema exemplificativo de uma análise de GLM</i>	79
<i>Figura 4.6. Protocolo estimulação auxiliar à análise GLM. A zona IE corresponde ao intervalo de tempo em que o sujeito observa uma imagem estática. A zona IM corresponde à apresentação de uma imagem dinâmica. Adaptado de (Góis, 2007).</i>	79
<i>Figura 4.7. Esquema das séries temporais do sinal, preditores e erro para um vóxel que responde ao movimento. Adaptado de (Goebel, 2012).</i>	80
<i>Figura 4.8. Layout da ferramenta FEAT do FSL</i>	83
<i>Figura 4.9. Layout da aplicação BrainVoyager QX</i>	85
<i>Figura 4.10. Transformações dos dados de RMf no SPM</i>	86

<i>Figura 4.11. Método de análise genérico dos dados de RMf nas aplicações SPM, FSL e BrainVoyager</i>	87
<i>Figura 4.12. Exemplo do paradigma aplicado ao voluntário da tarefa de memória</i>	90
<i>Figura 4.13. Resultado do co-registo entre volumes funcionais e estruturais no SPM</i>	92
<i>Figura 4.14. Verificação da normalização</i>	93
<i>Figura 4.15. Matriz design para análise individual obtida no SPM</i>	94
<i>Figura 4.16. Interface para seleção de contrastes no SPM</i>	96
<i>Figura 4.17. Visualização dos resultados no SPM para o estudo de grupo</i>	96
<i>Figura 4.18. Modelo dos regressores e dos contrastes definidos no FSL</i>	99
<i>Figura 4.19. Modelo GLM para One-Sample T-test utilizando o FSL</i>	100
<i>Figura 4.20. Resultado da análise de grupo para o contraste "dois&gt; repouso" com <math>p &lt; 0.001</math> uncorrected</i>	101
<i>Figura 4.21. Protocolo de estimulação do BrainVoyager QX</i>	102
<i>Figura 4.22. Gráfico resultante da aplicação da correção de movimentos aos dados funcionais</i>	102
<i>Figura 4.23. Resultado visual do co-registo no BrainVoyager QX</i>	103
<i>Figura 4.24. Grelha de Talairach utilizado no BrainVoyager QX</i>	104
<i>Figura 4.25. Mapa de ativações obtidas na aplicação BrainVoyager QX para um <math>p &lt; 0.001</math></i>	105
<i>Figura 5.1. Box-plot para a distribuição de dados da substância branca</i>	115
<i>Figura 5.2. Box-plot para a distribuição de dados da substância cinzenta</i>	116
<i>Figura 5.3. Box-plot para a distribuição dos dados obtidos na segmentação do tálamo</i>	119
<i>Figura 5.4. Box-plot para a distribuição dos dados obtidos na segmentação do hipocampo</i>	119
<i>Figura 5.5. Box-plot para a distribuição dos dados obtidos na segmentação da amígdala</i>	120
<i>Figura 5.6. Regiões ativas pelo contraste "dois&gt; repouso" com <math>p &lt; 0.001</math> uncorrected nas aplicações FSL (A), SPM (B) e BrainVoyager (C).</i>	122
<i>Figura 5.7. Regiões ativas pelo contraste "um&gt; repouso" com <math>p &lt; 0.001</math> uncorrected nas aplicações FSL (A), SPM (B) e BrainVoyager (C).</i>	123
<i>Figura 5.8. Regiões ativas pelo contraste "zero&gt; repouso" com <math>p &lt; 0.06</math> uncorrected na aplicação BrainVoyager.</i>	124
<i>Figura 5.9. Regiões ativas pelo contraste "zero&gt; repouso" com <math>p &lt; 0.0001</math> uncorrected na aplicação SPM (A) e FSL (B).</i>	125
<i>Figura B.1. Box-plot do tronco cerebral</i>	143
<i>Figura B.2. Box-plot do núcleo caudado</i>	143

*Figura B.3. Box-plot da Área accumbens* \_\_\_\_\_ 144

*Figura B.4. Box-plot do putâmen* \_\_\_\_\_ 144

*Figura B.5. Box-plot do pálido* \_\_\_\_\_ 144

# LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 2.1. Tempos de relaxação T1 e T2, em ms, para diferentes tecidos do cérebro humano. Adaptado de (Kowkabzadeh, 2012).</i> .....	15
<i>Tabela 2.2. Representação de alguns formatos de imagem médica</i> .....	23
<i>Tabela 3.1. Sumário das capacidades das aplicações informáticas para segmentação cerebral</i> .....	35
<i>Tabela 3.2. Sumário das principais diferenças entre os métodos de segmentação utilizados pelo SPM, FSL e FreeSurfer</i> .....	40
<i>Tabela 3.3. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas nos casos do estudo</i> .....	43
<i>Tabela 3.4. Diferentes estágios da segmentação de tecidos utilizando o FreeSurfer</i> .....	44
<i>Tabela 3.5. Códigos de nomes e intensidades das diferentes estruturas extraídas utilizando o FreeSurfer</i> .....	45
<i>Tabela 3.6. Sumário das opções disponíveis no BET</i> .....	51
<i>Tabela 3.7. Valores de threshold utilizados durante a extração do cérebro dos 10 sujeitos</i> ..	52
<i>Tabela 3.8. Sumário das opções disponíveis no FAST</i> .....	53
<i>Tabela 3.9. Códigos e nomes das estruturas subcorticais segmentadas pelo FIRST</i> .....	57
<i>Tabela 3.10. Principais opções a manipular na segmentação no SPM8</i> .....	63
<i>Tabela 4.1. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas nos casos do estudo funcional</i> .....	89
<i>Tabela 5.1. Resumo dos principais critérios aplicados na análise comparativa geral das aplicações</i> .....	109
<i>Tabela 5.2. Média e desvio padrão (mm<sup>3</sup>) dos resultados volumétricos com distinção entre géneros</i> .....	112
<i>Tabela 5.3. Volume ocupado pelas substância branca e cinzenta no volume total do cérebro</i> .....	113
<i>Tabela 5.4. Valores de média e desvio padrão para as substância branca e cinzenta sem distinção entre géneros</i> .....	114
<i>Tabela 5.5. Volumes das estruturas subcorticais segmentadas com o FSL e o FreeSurfer</i> ...	118
<i>Tabela A.1. Alguns pacotes de software disponíveis para transformação de imagens de RMe volumetria</i> .....	137

<i>Tabela A.2. Alguns pacotes de software disponíveis para transformação de imagens de RMf</i>	139
<i>Tabela C.1. Resultados da RMf com a aplicação SPM para "Dois&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	145
<i>Tabela C.2. Resultados da RMf com a aplicação SPM para "Um&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	146
<i>Tabela C.3. Resultados da RMf com a aplicação SPM para "Zero&gt; Repouso" (p &lt;0.0001 - uncorrected)</i>	147
<i>Tabela C.4. Resultados da RMf com a aplicação FSL para "Dois&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	147
<i>Tabela C.5. Resultados da RMf com a aplicação FSL para "Um&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	148
<i>Tabela C.6. Resultados da RMf com a aplicação FSL para "Zero&gt; Repouso" (p &lt;0.0001 - uncorrected)</i>	148
<i>Tabela C.7. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Dois&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	149
<i>Tabela C.8. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Um&gt; Repouso" (p &lt;0.001 - uncorrected)</i>	149
<i>Tabela C.9. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Zero&gt; Repouso" (p &lt;0.06 - uncorrected)</i>	149

# 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 no meio de um parágrafo.

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

## Acrónimos

<b>2D</b>	2-Dimensões
<b>3D</b>	3-Dimensões
<b>AFNI</b>	Análise de neuroimagens funcionais (Analysis of Functional Neuroimages)
<b>BET</b>	Ferramenta de extração cerebral (Brain Extraction Tool)
<b>BOLD</b>	Dependente do nível de oxigenação sanguínea (Blood Oxygenation Level-Dependent)
<b>CSF</b>	Fluido cerebrospinal
<b>DICOM</b>	Imagem digital e comunicações em medicina (Digital Imaging and Communications in Medicine)
<b>EPI</b>	Imagem Eco-Planar (Echo-Planar Imaging)
<b>FAST</b>	Ferramenta de Segmentação Automática FMRIB's (FMRIB's Automated Segmentation Tool)
<b>FEAT</b>	Ferramenta de Análise Especialista FMRIB's (FMRIB's Expert Analysis Tool)
<b>FILM</b>	Modelo Linear Melhorado FMRIB's (FMRIB's Improved Linear Model)
<b>FIRST</b>	Ferramenta Integrada de Registo de Segmentação FMRIB's (FMRIB's Integrated Registration and Segmentation Tool)
<b>FLAME</b>	Análise Local de Efeitos Aleatórios FMRIB's (FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects)
<b>FLIRT</b>	Ferramenta para Registo Linear de Imagens FMRIB's (FMRIB's Linear Image Registration Tool)
<b>FRH</b>	Função de Resposta Hemodinâmica
<b>FSL</b>	FMRIB Software Library

<b>FWHM</b>	Largura completa da metade do máximo (Full Width Half Maximun)
<b>GLM</b>	Modelo Linear Geral (Generalized Linear Model)
<b>ICA</b>	Análise de Componentes Independestes (Independent Component Analysis)
<b>IM</b>	Informática Médica
<b>ITM</b>	Imagens de Transferência de Magnetização
<b>mm</b>	Milímetros
<b>MNI</b>	Instituto Neurológico de Montreal (Montreal Neurological Institute)
<b>ms</b>	Milissegundos
<b>NEMA</b>	Associação Nacional de Fabricantes de eletricidade (National Electrical Manufacturers Association)
<b>NIFTI</b>	Neuroimaging Informatics Technology Initiative
<b>PACS</b>	Sistema de arquivo de comunicação e imagem (Picture Archival and Communication System)
<b>PCA</b>	Análise por componentes principais (Principal Component Analysis)
<b>PET</b>	Tomografia por Emissão de Positrões
<b>RF</b>	Rádio frequência
<b>RM</b>	Ressonância Magnética
<b>RMe</b>	Ressonância Magnética estrutural
<b>RMf</b>	Ressonância Magnética funcional
<b>RMN</b>	Ressonância Magnética Nuclear
<b>ROI</b>	Região de Interesse
<b>SB</b>	Substância Branca
<b>SC</b>	Substância Cinzenta
<b>SNR</b>	Relação Sinal Ruido (Signal-to-Noise Ratio)
<b>SO</b>	Sistema Operativo
<b>SPM</b>	Mapas Estatísticos Paramétricos (Statistical Parametric Maps)
<b>TC</b>	Tomografia Computorizada
<b>TE</b>	Tempo de Eco
<b>TI</b>	Tecnologias da Informação
<b>TR</b>	Tempo de Repetição
<b>VBM</b>	Morfometria baseada em vóxeis (Voxel-Based Morphometry)

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

---

### *Ideias chave:*

- As constantes evoluções científicas têm realçado o papel da Informática Médica na neuroimagem;
- A ressonância magnética apresenta-se como essencial no estudo estrutural e funcional do cérebro humano;
- Existem inúmeras aplicações informáticas capazes de efetuar análises estruturais e funcionais do cérebro humano;
- As aplicações disponíveis não são abrangentes nem apresentam interoperabilidade entre elas;
- É necessário avaliar as diferentes aplicações disponíveis para otimizar o processo de decisão na sua escolha face a um determinado tipo de análise de neuroimagem.

Num mundo cada vez mais interdisciplinar e mediatizado, a necessidade de interligar a Medicina com as Tecnologias de Informação (TI) levou ao surgimento de uma nova disciplina, a Informática Médica (IM). A abrangência da IM permite que as mais diversas áreas do conhecimento científico sirvam de auxílio à medicina e à saúde em geral no desenvolvimento de meios complementares de diagnóstico (Bui & Taira, 2010). Assim, dado o estado atual da medicina, o conhecimento estrutural e funcional do organismo humano tem-se demonstrado preponderante não só para uma boa prática clínica como também para o desenvolvimento de melhores métodos e estudos científicos.

No entanto, este envolvimento é relativamente recente pois, só com os avanços da Física e da Informática se possibilitou o desenvolvimento de *hardware* e *software* capazes de gerar e processar dados em formato digital, bem como compreender com maior clareza os fenómenos físicos associados às diversas modalidades

imagiológicas. Assim, técnicas como a Ressonância Magnética (RM), Tomografia por Emissão de Positrões (*Positron Emission Tomography* - PET), Tomografia Computorizada (TC), entre outras, têm permitido a obtenção de imagens de alta resolução do organismo humano essenciais ao auxílio do diagnóstico e da investigação.

Ultimamente, de forma a aumentar a compreensão da complexidade do cérebro humano e dos seus processos, surgiu a neuroimagem. Esta disciplina apresenta-se como uma abordagem emergente e em constante desenvolvimento, pois permite visualizar o cérebro humano que, apesar de ser centro do sistema nervoso e um dos órgãos mais estudados, continua um dos mais desconhecidos (Mietchen & Gaser, 2009). Assim, ao surgir a modalidade de RM no final de 1970, surgiu uma nova era em que, de uma forma relativamente segura e completamente não-invasiva, foi possível a representação detalhada da anatomia e patologias cerebrais, com uma resolução espacial e um contraste dos tecidos moles sem precedentes (Mietchen & Gaser, 2009) (Bui & Taira, 2010) (Storey, 2006). A técnica de RM é frequentemente dividida em análises estruturais e funcionais, sendo ambas amplamente utilizadas tanto em investigação científica como na prática clínica (Symms, et al., 2004).

Atualmente, a formação e processamento de imagens médicas está totalmente dependente da existência de aplicações específicas para cada tipo de modalidade dado ser necessária uma elevada manipulação de dados em formato de imagem. Assim, estão disponíveis várias opções para análise de dados sendo umas mais indicadas para visualização, outras para pré-processamento ou processamento e ainda outras mais indicadas para um uso generalizado. Num estudo de Ressonância Magnética estrutural (RMe), por exemplo, podem ser utilizadas aplicações como o FSL, BrainVoyager QX, 3D Slicer e FreeSurfer (Keller & Roberts, 2009). Por outro lado, para um estudo de Ressonância Magnética funcional (RMf) pode ser usado o BrainVoyager QX e o FSL (Morgan, et al., 2007) (Gold, et al., 1998).

Surge então a questão sobre qual será a aplicação ideal para o tratamento de imagens nas principais modalidades de RM. Esta escolha não é trivial pois nenhum pacote é suficientemente abrangente e não podem ser trocados uns com os outros (Gold, et al., 1998). De facto, para o mesmo fluxo de processamento e num mesmo

pacote, podem existir diferentes procedimentos, daí que a escolha inicial possa afetar o desenvolvimento de análises posteriores. A escolha do pacote também depende do tipo de modalidade de RM que se pretende estudar, já que a aplicação indicada para um exame de RMe pode ser totalmente diferente da mais adequada para um exame de RMf e vice-versa (Gorgolewski, et al., 2011). Além dos motivos já referidos, relacionados com a não abrangência e falta de interoperabilidade das aplicações disponíveis no mercado, verifica-se uma falta de consenso relacionado com as etapas de pré-processamento e processamento necessárias num estudo de RM.

Desta forma, a presente dissertação pretende apresentar um estudo comparativo entre as principais aplicações informáticas disponíveis para as modalidades de RM estrutural e funcional. De forma a atingir os objetivos propostos, é feita uma análise e avaliação de consistência e fiabilidade das ferramentas selecionadas, facilitando a escolha a investigadores e outros profissionais da aplicação mais indicada para um determinado tipo de análise de RM estrutural ou funcional.

## **1.1. ENQUADRAMENTO**

Nos últimos 20 anos, a utilização de métodos não-invasivos em neuroimagem sofreu um grande avanço, provocando uma explosão de estudos relacionados com a saúde e doença da cognição humana. Os estudos imagiológicos atuais adquirem dados multimodais de RMe e de RMf, combinando-os com dados comportamentais não imagiológicos, histórico dos pacientes e de tratamentos, bem como informação genética e demográfica dos mesmos (Gorgolewski, et al., 2011). Os mais diversos e sofisticados pacotes de aplicações são utilizados para processar e analisar tais extensões de dados. Numa análise típica, os algoritmos destas aplicações, cada qual com os seus próprios parâmetros, processam estes dados sem qualquer tipo de alteração dos mesmos. Contudo, os dados colecionados num único estudo podem ser os mais diversos (altamente multidimensionais) e com elevada dimensão, logo, os algoritmos indicados para um determinado conjunto de dados podem não ser os mais indicados para um outro conjunto (Gorgolewski, et al., 2011). Isto dificulta o

método de análise, tornando a exploração de dados de RM desafiadora e a comparação de novos algoritmos complexa.

Seguidamente serão apresentados os principais motivos que afetam a replicabilidade, eficiência e usabilidade das aplicações informáticas utilizadas em neuroimagem.

### **Inexistência de acesso uniformizado a aplicações informáticas para análise de neuroimagens e informação de utilização.**

Na análise de imagens de RM, os investigadores e profissionais de saúde recorrem a diferentes aplicações para componentes de análise distintos resultando num conjunto de *software* heterogéneo sem uniformização da sua execução e uso. Por exemplo, diferentes aplicações podem ser acedidas de maneiras diferentes: utilizando o comando de *Shell* (e.g., FSL, AFNI), utilizando um *software* proprietário MatLab (e.g., SPM); ou utilizando Python (e.g., Nipy). Algumas das aplicações desenvolvidas a nível académico focam-se na melhoria algorítmica e, por vezes, não têm um ambiente de trabalho (i. e., *framework*) de engenharia de *software* rigorosa (Gorgolewski, et al., 2011). Este ambiente de trabalho envolve testes extensivos, documentação apropriada e deve assegurar a compatibilidade com outras ferramentas. Sendo assim, torna-se necessária uma elevada interação com os autores das aplicações de forma a entender os seus parâmetros, as suas especificidades e o seu uso.

### **Inexistência de um ambiente de trabalho para desenvolvimento de algoritmos comparados e disseminação**

Com exceção de alguns pacotes de *software* (e.g. SPM, FSL, FreeSurfer), a maioria dos algoritmos desenvolvidos são proprietários e não são disseminados para fora dos laboratórios que os desenvolveram. Assim, não sofrem exposição nem são testados por terceiros. Generalizando, os criadores destas aplicações desenvolvem ferramentas para um pacote de aplicações único (e. g., Dartel para o SPM), ferramentas autónomas (e. g., Mricron), ou simplesmente não distribuem o *software* ou o seu código.

### **O volume de negócios dos laboratórios limita a continuidade metodológica e o treino de novos colaboradores leva tempo**

A maioria dos laboratórios de neurociências recolhem e analisam dados de neuroimagem, mas poucos têm pessoal especializado no entendimento do desenvolvimento metodológico, assim como na modificação dos procedimentos laboratoriais necessários para a adoção de novas ferramentas (Gorgolewski, et al., 2011). Pessoal de laboratório, sem experiência prévia em imagem, aprende muitas vezes seguindo *tutoriais online*, fazendo cursos organizados ou, como é o caso mais frequente, com membros com mais experiência existentes no laboratório. Por outro lado, a aprendizagem de um novo pacote de aplicações consome bastantes recursos, tais como o tempo.

### **Os pacotes de *software* de neuroimagem não abordam a eficiência computacional**

O principal foco dos algoritmos de análise de neuroimagem é resolver problemas (e.g., registo, estimação estatística). Enquanto alguns programadores se focam na eficiência numérica e algorítmica, a maioria não foca a eficiência no contexto de correr múltiplos algoritmos em vários sujeitos, cenário bastante comum em neuroimagem (Gorgolewski, et al., 2011). A criação de um fluxo de trabalho para um estudo particular é um processo iterativo dependente da qualidade dos dados e da população participante (e. g., pré-cirúrgica). Os investigadores normalmente testam os seus parâmetros com diferentes métodos para criar um fluxo de trabalho adequado à sua aplicação mas, atualmente, não existe uma *framework* adequada a tornar este processo mais eficiente.

### **A secção dos métodos em alguns artigos é muitas vezes inadequada para a reprodutibilidade dos resultados**

Alguns jornais (e.g. PNAS, Science, PLoS) requerem a submissão obrigatória dos dados e dos *scripts* necessários para reproduzir os resultados do estudo. Contudo, a secção dos métodos não está suficientemente detalhada para permitir ao investigador o conhecimento do domínio e reproduzir o processo de análise. Além do mais, como discutido anteriormente, a típica análise de neuroimagem integra diversas ferramentas e as aplicações atualmente disponíveis não facilitam a

reprodução de todos os passos do processo pela ordem apropriada. Isto leva a que o utilizador tenha um aumento dos encargos para satisfazer os requerimentos desse jornal, assim como, assegurar que todos os detalhes da análise sejam preservados com o intuito de os reproduzir posteriormente.

Como referido anteriormente, a RM é uma técnica que requiere a manipulação de uma grande quantidade de dados, cujo processamento varia consoante as necessidades da modalidade de RM em que se inserem, os objetivos do especialista e o campo de aplicação. Consequentemente existe um elevado número de aplicações capazes de fazer estudos neuroimagiológicos das modalidades de RMe ou RMf e até de ambas. No entanto, existe uma relativa escassez de estudos comparativos entre as aplicações disponíveis.

No que se refere à avaliação de aplicações indicadas para estudos volumétricos de RMe, Klauschen et al. (2009) avaliaram a performance do SPM5, FreeSurfer e FSL na volumetria cerebral explorando variações volumétricas causadas por efeitos de diferentes algoritmos, variações na qualidade de imagem, entre outras. Também foram efetuados estudos volumétricos de estruturas subcorticais nomeadamente, Morey et al. (2009) comparou a precisão da segmentação automática do hipocampo e da amígdala pelo FreeSurfer e FSL. Por outro lado, foram efetuados alguns estudos comparativos com diferentes algoritmos de extração do crânio, de segmentação do cérebro (Byrum, et al., 1996) (Greenspan, et al., 2006) (Barra, et al., 2007). O impacto de protocolos de aquisição de RM para a segmentação cerebral e volumetria cerebrais foi investigado por Lundervold et al. (2000) e Clarke t al. (2006). Por seu lado, Chard et al. (2002) estudaram a reprodutibilidade e sensibilidade das medidas volumétricas obtidas por segmentação utilizando a aplicação SPM99.

Um dos primeiros estudos de análise comparativa de aplicações de RMf foi efetuado por Gold et al. (1998) que examinou algumas aplicações de RMf e comparou características das mesmas, nomeadamente: sistema operativo utilizado, disponibilidade, acesso a documentação relacionada, modelos estatísticos disponíveis, entre outros, disponibilizando à comunidade científica um artigo introdutório para a escolha do *software* mais indicado para estudos de RMf. Outros estudos lhe seguiram, alguns com o objetivo de avaliar características destas

aplicações como por exemplo a correção de movimentos. Morgan et al. (2001) desenvolveu estudos relacionados com a correção de movimentos em imagens de RMf nas aplicações AFNI, SPM e AIR. Por seu lado, Oakes et al. (2005) fez os mesmos estudos, mas nas aplicações AFNI, AIR, BrainVoyager QX, FSL e SPM.

Na *Tabela A.1* e na *Tabela A.2* do *Apêndice A*, encontram-se discriminadas algumas das aplicações informáticas que permitem a análise de neuroimagens de RMe e RMf, respetivamente. Estas aplicações foram selecionadas devido à sua relevância no panorama científico atual e, dentro destas aplicações, foram escolhidas as três mais indicadas para a análise dos dados de RMe (i. e., SPM, FSL e FreeSurfer) e para a análise dos dados de RMf (i. e., SPM, FSL e BrainVoyager QX) da presente dissertação.

## **1.2. OBJETIVOS**

Este trabalho tem como principal objetivo a análise e avaliação de consistência e fiabilidade das ferramentas informáticas de neuroimagem mais divulgadas na literatura com aplicação nas modalidades de RM estrutural e funcional.

Pretende-se efetuar uma análise estatística dos resultados obtidos da análise padronizada **de casos de estudo**, tendo em conta as principais métricas de avaliação referidas na literatura, permitindo assim concluir sobre qual ou quais as aplicações mais indicadas para cada tipo de modalidade e para cada tipo de análise específica.

## **1.3. ORGANIZAÇÃO DO DOCUMENTO**

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

- **Capítulo 2** – Ressonância Magnética

Neste capítulo é abordada a temática que envolve a modalidade imagiológica de Ressonância Magnética. São descritos os princípios básicos da modalidade, principais protocolos, as modalidades da técnica e algumas das ferramentas necessárias para a análise deste tipo de dados, nomeadamente, formatos de ficheiros utilizados, atlas e *templates* cerebrais.

- **Capítulo 3** – Análise volumétrica cerebral

Neste terceiro capítulo são descritas as principais medidas de volume cerebral assim como algumas das técnicas utilizadas para as obter. São apresentadas as ferramentas informáticas escolhidas para a análise volumétrica cerebral e o fluxo de processamento utilizado, bem como as principais decisões tomadas durante a aplicação dos casos de estudo nas ferramentas selecionadas. Por fim, são apresentados e descritos os resultados na aplicação aos casos de estudo.

- **Capítulo 4** – Ressonância Magnética funcional

À semelhança do capítulo anterior, este visa expor os princípios teóricos relacionados com a técnica de RMf, as aplicações informáticas escolhidas e o fluxo de processamento utilizado no desenvolvimento das análises funcionais. Do mesmo modo, são apresentados e descritos os resultados na aplicação aos casos de estudo, assim como as principais decisões tomadas.

- **Capítulo 5** – Resultados e conclusões

Neste capítulo é feita uma análise comparativa entre as aplicações testadas independentemente da modalidade em questão e são apresentados com maior detalhe os resultados obtidos nas análises estruturais e funcionais. Por fim, é realizada uma exposição sumária do trabalho efetuado, enunciando as principais conclusões e propostas de desenvolvimentos futuros.

## CAPÍTULO 2

# RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

---

### *Ideias chave:*

- Fenómenos físicos são preponderantes para o entendimento da técnica de RM;
- RM apresenta-se como uma técnica não invasiva de alta resolução e contraste que permite estudos funcionais e estruturais do cérebro humano;
- A RM é frequentemente dividida em RMe e RMf permitindo uma análise estrutural e funcional do cérebro;
- A IM é essencial para a padronização dos procedimentos de imagem.

A RM é uma técnica de imagem médica relativamente recente e versátil que, através da formação de imagens de alta resolução e contraste, permite a investigação e exploração da anatomia e fisiologia interna de seres vivos (McRobbie, et al., 2006).

Esta técnica de imagem médica tem como base física a utilização de um campo magnético forte que permite alinhar a magnetização nuclear dos átomos de hidrogénio nas moléculas de água (Bui & Taira, 2010). Com a aplicação de um campo de rádio frequência (RF), o alinhamento do átomo é alterado e é criado um campo magnético rotativo que pode ser medido por sensores; mudanças subsequentes no campo de RF (deteção do campo magnético) permitem a aquisição de imagens (Bui & Taira, 2010). Este processo será revisto com maior detalhe na *Secção 2.1*.

Atualmente, a RM é uma modalidade de imagem padrão que é útil para a aquisição de imagens de tecidos moles (músculos, articulações, cérebro, entre outros),

gordura e osso (medula óssea). Na *Figura 2.1*, é apresentada uma aquisição de RM estrutural do cérebro humano utilizando um *scanner* de RM de 1.5 Tesla<sup>i</sup>.

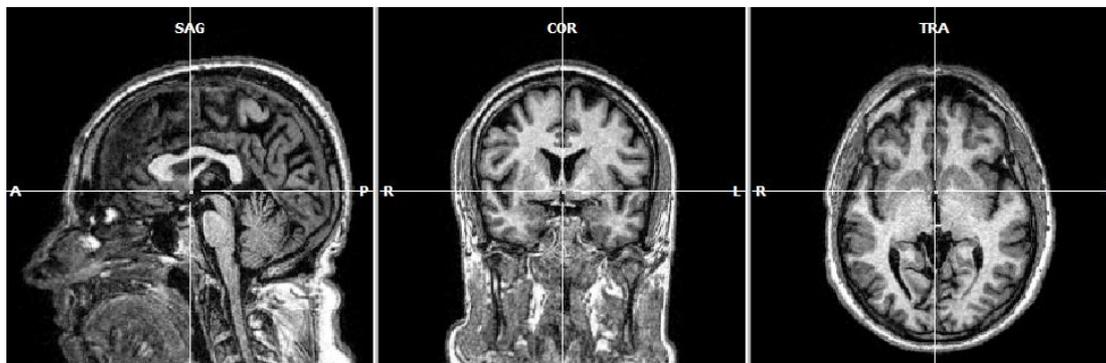


Figura 2.1. Imagens estruturais obtidas a partir de um *scanner* de RM de 1.5 Tesla

## 2.1. PRINCÍPIOS GERAIS DE RM

Inicialmente, o termo ressonância magnética correspondia à contração de Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Atualmente, devido à conotação negativa associada ao termo *Nuclear*, a designação foi entrando em desuso. Como a RMN é um fenômeno de baixa energia, descoberto na década de 40, que envolve a emissão e absorção de ondas de rádio frequência (RF), esta técnica não envolve quaisquer riscos para os seres vivos (Brown & Semelka, 2003) (Storey, 2006).

Toda a matéria é composta por átomos cujas propriedades menos familiares, de entre todas as propriedades que os caracterizam, são: o magnetismo e o *spin* nuclear (Guy & Ffytche, 2005). São menos familiares pois têm pouco efeito no comportamento de um átomo mas, recorrendo à RMN, podem ser utilizadas na obtenção de informações sobre o ambiente químico em que os átomos estão inseridos (Storey, 2006).

A técnica de RM é assim baseada no fenômeno físico da RMN, no qual os núcleos atômicos expostos a um campo magnético forte absorvem e tornam a emitir ondas eletromagnéticas com uma determinada característica ou frequência de ressonância que está incluída no intervalo de RF (Storey, 2006).

---

<sup>i</sup> 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).

As propriedades referidas dependem do tipo de átomos com que se lida. Os núcleos de átomos com números atómicos e números de massa ímpares, tal como: hidrogénios ( ${}^1_1H$ ) apresentam as duas propriedades anteriores e conseqüentemente, conseguem produzir um sinal de RMN (Brown & Semelka, 2003) (Storey, 2006).

Contudo, no caso da imagiologia, dentro dos átomos que conseguem produzir um sinal de RMN, o de hidrogénio é a escolha natural para sondar o corpo, sendo utilizado na técnica de RM por várias razões: este núcleo tem um *spin* de  $\frac{1}{2}$ ; é o mais abundante isótopo de hidrogénio; é facilmente encontrado na natureza e o corpo humano é composto por tecidos que contêm essencialmente água e gordura, ambos contendo hidrogénio (Brown & Semelka, 2003) (Storey, 2006) (McRobbie, et al., 2006).

### 2.1.1. SPIN E MAGNETISMO

O fenómeno de RMN resulta do facto de certos núcleos atómicos possuírem momentos magnéticos minúsculos, similares aos existentes numa barra de ferro comum que, com a aplicação de um campo magnético geram um momento magnético orientado paralelo ao eixo de rotação, tal como apresentado na *Figura 2.2*. O átomo na presença deste campo magnético tende a alinhar-se e sofre um movimento rotacional, em torno do eixo do campo magnético, conhecido como precessão e ilustrado na *Figura 2.3* (Brown & Semelka, 2003) (Storey, 2006).

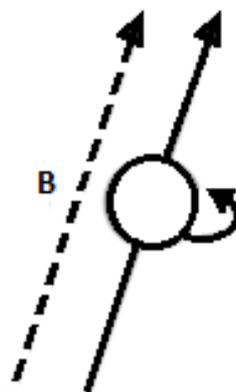


Figura 2.2. Núcleo em rotação com carga positiva produz um momento magnético orientado paralelo ao eixo de rotação

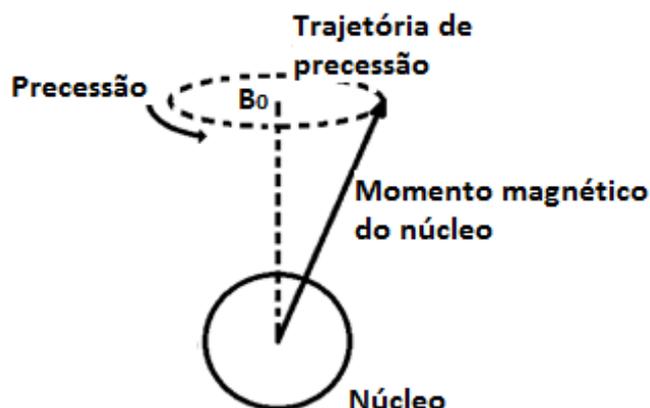


Figura 2.3. Movimento de precessão de um núcleo de hidrogênio

Um sistema de *spin* nuclear (grupo de núcleos de um determinado átomo no mesmo meio), sem a aplicação de um campo magnético externo não apresenta macroscopicamente um campo magnético, já que a orientação de cada núcleo no sistema é influenciada pelo movimento térmico molecular. Logo, é aleatória e consequentemente ocorre um anulamento microscópico do momento magnético nuclear (Westbrook, 2002) (Guy & Ffytche, 2005). Mas ao ser aplicado um campo magnético estático externo, os momentos magnéticos do núcleo no sistema de *spin* nuclear alinham com o campo magnético aplicado e, consequentemente, o sistema de *spin* nuclear torna-se magnetizado macroscopicamente. Este fenômeno é conhecido como magnetização nuclear que essencialmente é o somatório do momento magnético nuclear no sistema de *spin* nuclear (Westbrook, 2002) (Guy & Ffytche, 2005).

### 2.1.2. PULSOS DE RÁDIO FREQUÊNCIA

Na modalidade de RM, após a aplicação de um pulso de RF, o campo magnético estático externo “desalinha” o vetor de magnetização. Seguidamente, a propriedade giromagnética do núcleo de  $^1\text{H}$  provoca a precessão do vetor de magnetização que, volta a alinhar com o campo magnético estático externo e alcança o equilíbrio térmico, ou seja, relaxa. A frequência desta precessão é conhecida como frequência de Larmor ( $\omega_0$ ) e é apresentada na Equação 2.1 (Brown & Semelka, 2003).

$$\omega_0 = \gamma \cdot B$$

Equação 2.1

Em que:

$\omega_0$  – denota a frequência de Larmor (em MHz);

$\gamma$  – denota a razão giromagnética do núcleo (em MHz/T);

B – denota o campo magnético externo.

O vetor de magnetização apresenta dois componentes: longitudinal e transversal, *Figura 2.4*. Como mencionado, este pode ser manipulado com a aplicação de um pulso de RF. Usando um determinado pulso de RF pode-se mover, totalmente, o vetor de magnetização para o plano transversal (deslocamento de 90° graus), sendo o ângulo de perturbação chamado *tip angle* e o pulso de excitação usado na perturbação designado como pulso  $\pi/2$ . Após a aplicação de um pulso  $\pi/2$ , a única componente do vetor de magnetização que se mantém é a transversal (Kowkabzadeh, 2012). No entanto, existe outro pulso de excitação que se denomina como  $\pi$  ou *inversion pulse* que altera a magnetização do vetor em 180° graus (Kowkabzadeh, 2012).

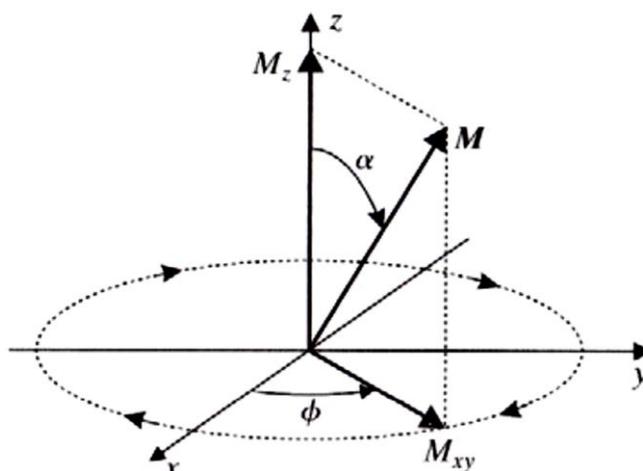


Figura 2.4. Vetor de magnetização e todos os seus componentes. Adaptado de (Kowkabzadeh, 2012).

Quando o vetor de magnetização é trazido para fora do equilíbrio devido ao pulso  $\pi/2$ , ele vai precessar em forma de espiral para voltar a alinhar-se com o campo magnético externo estático. Esta precessão (relaxamento transversal ou relaxação *spin-spin*) produz um pulso de RF a partir do sistema de rotação que é conhecido como decaimento livre (Kowkabzadeh, 2012) (Brown & Semelka, 2003).

### 2.1.3. RELAXAÇÃO

O decaimento livre apresenta uma constante de tempo denominada tempo de relaxação transversal T2 (Lynei, 2006) (Kowkabzadeh, 2012) (Brown & Semelka, 2003). Este sinal é recebido por antenas em torno do sistema de rotação para produzir imagens.

No entanto, o sinal que é recebido por antenas decai mais rapidamente que T2 devido a perturbações locais no campo magnético externo estático. Esta constante de tempo mais curta é chamada T2\* e é ilustrado na *Figura 2.5*.

Existe ainda outro mecanismo de relaxação que envolve troca de energia com o exterior, no sentido de repor as populações iniciais respeitantes aos níveis energéticos de *spin* (McRobbie, et al., 2006). Enquanto o impulso de RF atua, existem excitações de *spins* que se encontravam num nível de energia mais baixo (paralelo com o campo magnético estático) para um estado de energia mais alto (antiparalelo). A partir do momento em que o impulso termina, essas populações tendem a reassumir a situação inicial, ou seja, a magnetização longitudinal (segundo o campo magnético estático) retoma o valor inicial. Tal mecanismo ocorre através de libertação de energia para o meio e é caracterizado por uma constante de tempo T1, à qual se dá o nome de tempo de relaxação *spin/rede* (McRobbie, et al., 2006) (Lynei, 2006).

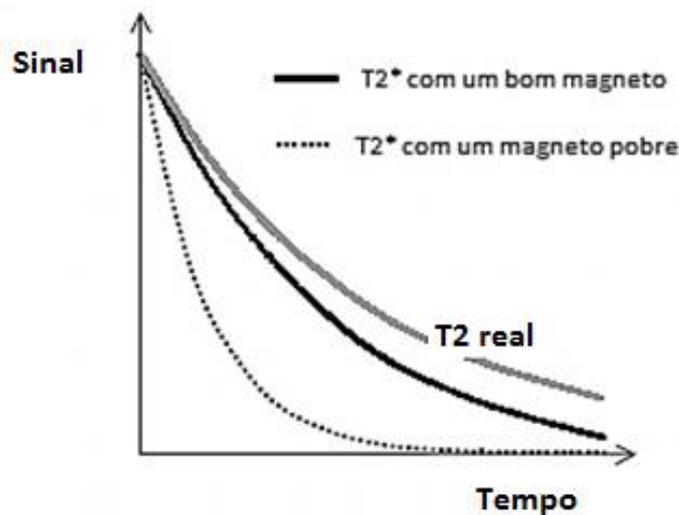


Figura 2.5. Comparação dos sinais de T2\* e T2 para o mesmo tecido com homogeneidades diferentes.

Adaptado de (McRobbie, et al., 2006).

T1 é, analogamente a T2, o tempo que demora a magnetização longitudinal a recuperar 63% do seu valor máximo. A curva de recuperação é apresentada na *Figura 2.6* (Westbrook, 2002) (Lynei, 2006) (McRobbie, et al., 2006). Este parâmetro contém informação sobre os tecidos, uma vez que a maior ou menor facilidade com que os *spins* libertam energia para o meio terá necessariamente que estar relacionada com a estrutura do meio onde estes se encontram. É desta forma que T1 é utilizado para obter contraste entre os tecidos.

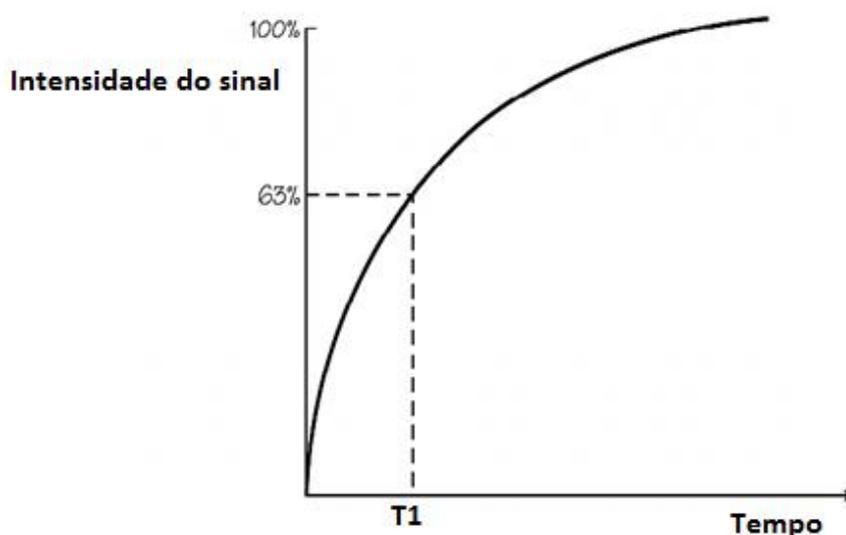


Figura 2.6. Curva de recuperação de T1. Adaptado de (Westbrook, 2002).

A *Tabela 2.1* apresenta os diversos tempos de relaxação T1 e T2 para diferentes tecidos do cérebro humano. Pode-se constatar que o tempo de relaxação T1, normalmente, varia entre 250ms <T1 <2500ms, sendo que T2 é muito menor e varia entre 25ms <T2 <250ms.

Tabela 2.1. Tempos de relaxação T1 e T2, em ms, para diferentes tecidos do cérebro humano.

Adaptado de (Kowkabzadeh, 2012).

Tecido	T2 (ms)	T1 (ms)
Gordura	84	260
Músculo	47	870
Substância branca	92	790
Substância cinzenta	100	920
Fluido cerebrospinal	160	2400

## 2.2. PROTOCOLOS DE RM

A maioria dos protocolos clínicos de RM utiliza sequências ponderadas de T2 e T1. Desta forma, os processos patológicos são, maioritariamente, descritos em termos de comportamento do sinal de T1 e do sinal de T2, além do contraste de realce, localização anatômica e características morfológicas (McRobbie, et al., 2006). Mais recentemente, a recuperação de fluido por inversão atenuada (FLAIR) foi introduzida como um complemento, ou mesmo como um substituto, às sequências de T2 convencionais (Symms, et al., 2004).

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas novas técnicas que permitem a melhoria da resolução espacial (e. g., imagens de alta resolução) e da sensibilidade (e. g., imagem de T2\*). Estabeleceram-se métodos quantitativos (e. g., mapeamento T1, mapeamento T2, imagens de transferência de magnetização (ITM)), métodos qualitativos e desenvolveram-se novas técnicas quantitativas e qualitativas de contraste (e. g., imagem de difusão) (Symms, et al., 2004).

As imagens ponderadas por T2 são, normalmente, utilizadas em neuroimagem pois são muito sensíveis a uma vasta gama de patologias. Contudo, o sinal das imagens ponderadas por T2 não contém somente ponderação de T2, mas também informação sobre a quantidade de água (i. e., densidade de prótons) em cada *vóxel*. Assim, utilizando duas ou mais imagens, com diferentes tempos de eco, é possível mapear o T2 no cérebro que é dependente da densidade de prótons (Symms, et al., 2004).

Normalmente, as aquisições ponderadas por T2 utilizam imagens derivadas de *spin echo*, porque reforça qualquer heterogeneidade de campo presente (geralmente causada por alterações na suscetibilidade magnética entre tecidos vizinhos). Se forem adquiridas imagens de *gradiente echo* (GRE), estas vão refletir os efeitos da falta de homogeneidade no campo e proporcionar um contraste ponderado em T2\* adicional (Symms, et al., 2004).

O mapeamento de T1 segue o raciocínio idêntico ao do mapeamento de T2 já que remove as variações na intensidade da imagem devido à densidade de prótons. O mapeamento de T1 pode ser gerado a partir de duas ou mais imagens com

diferentes tempo de repetição ou ângulos *flip*, tendo por isso ponderações T1 diferentes, ou de duas ou mais imagens com diferentes tempos de inversão que também apresentam ponderações T1 diferentes. O mapeamento de T1 é muito mais suscetível que o mapeamento de T2 para heterogeneidades de campo de RF aplicado, sendo assim aconselhável a aquisição de imagens extra para medir estas imperfeições e corrigi-las. (Symms, et al., 2004).

### **2.3. MODALIDADES DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA**

Em neuroimagem as aquisições de RM são, frequentemente, divididas em RM estrutural e RM funcional (Symms, et al., 2004) (Storey, 2006). A primeira é amplamente utilizada tanto em investigação como na prática clínica e tem sofrido diversos desenvolvimentos, tais como: imagens de alta resolução, medição da relaxação de T2, imagem por difusão, entre outros (Symms, et al., 2004). A segunda permite visualizar ativações funcionais cerebrais e, tal como a anterior, tem uma aplicação cada vez mais vasta no panorama médico e científico atual. No entanto, a linha divisória entre imagem funcional e imagem estrutural é difícil de definir já que, estrutura e função estão inextricavelmente ligadas ao cérebro.

Generalizando, e tendo como base considerações biológicas, pode-se definir imagem funcional como sendo um método capaz de fornecer informações fisiológicas dinâmicas, enquanto a imagem estrutural fornece informações anatómicas estáticas (Storey, 2006).

#### **2.3.1. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ESTRUTURAL**

A RMe permite a realização de análises estruturais, pois visa a aquisição de imagens anatómicas de diferentes estruturas do organismo humano que posteriormente serão analisadas em termos de alterações anatómicas (i. e., volumes, espessuras e formas), permitindo a identificação de diversas patologias clínicas.

Um dos tipos de análise de imagens estruturais mais comum é a análise volumétrica cerebral. Esta ciência centra-se na organização e análise de relações quantitativas e qualitativas entre volumes e formas de componentes estruturais do cérebro humano (Caviness, et al., 1999). A volumetria cerebral baseada em RMe tem-se estabelecido

como uma metodologia de grande versatilidade e confiança com um grande potencial aplicativo na análise, diagnóstico e avaliação da progressão de doenças relacionadas com o cérebro humano (Caviness, et al., 1999).

A volumetria por RM permite o acesso a duas importantes características nas doenças degenerativas nervosas:

- a) Medidas volumétricas - no contexto de doenças degenerativas nervosas, é predominante a perda de volume em sujeitos doentes quando comparado com sujeitos saudáveis. Assim, o grau de perda é uma medida essencial no diagnóstico de doenças degenerativas nervosas. Esta perda de volume tão característica pode ser difusa e afetar todo o cérebro ou pode ser restrita a uma única área afetando só um tipo de tecido (e. g., substância cinzenta) ou estruturas definidas (e. g., hipotálamo);
- b) Contraste na imagem da estrutura cerebral - processos de doenças, muitas vezes influenciam as propriedades de relaxação de prótons e por isso, a intensidade da imagem.

Logo, a volumetria pode ser utilizada no desenvolvimento de estudos longitudinais de certas patologias cerebrais como a esquizofrenia, demência, Alzheimer, esclerose múltipla, entre outras, (McCarley, 2002) (Symms, et al., 2004) (Lynei, 2006) (Frisoni, et al., 2010).

Como mencionado anteriormente, a análise volumétrica das estruturas cerebrais tem-se implementado como um meio de diagnóstico e de identificação da progressão de doenças. Logo, com o objetivo de obter medidas volumétricas de diferentes estruturas, torna-se essencial o aumento de precisão da segmentação de estruturas em imagens de RMe.

A segmentação de uma imagem num número de diferentes conjuntos e disjuntos de vóxeis que correspondem a regiões anatomicamente significativas é uma tarefa difícil, devido à má definição dos limites regionais sobre os exames de RMe tais como as estruturas subcorticais (e.g., hipocampo, amígdala, tálamo, putâmen) e devido ao facto da intensidade do sinal por si só não ser suficiente para distinguir

volumetricamente as diferentes estruturas corticais e a substância cinzenta. A volumetria e a segmentação serão descritas com maior detalhe no *Capítulo 3*.

Como técnica de neuroimagem, a RMe tem-se revelado útil no acesso a correlações neuroanatômicas de disfunções cognitivas típicas de neuropatologias e alterações estruturais do tecido cerebral (Frisoni, et al., 2010). Logo, apresenta-se como uma ferramenta essencial na deteção de diversas patologias cerebrais, nomeadamente na identificação de hemorragias cerebrais agudas, hemorragias subaracnoides, tumores, entre outras patologias (Symms, et al., 2004). A RMe também pode ser aplicada em estudos que relacionem o desenvolvimento do cérebro humano com atividades funcionais como a linguagem, por exemplo (Richardson & Price, 2009).

### **2.3.2. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL**

No final do século XIX, os fisiologistas ingleses Roy e Sherrington afirmaram que as mudanças de atividade relacionadas com funções cerebrais podiam resultar num aumento local do fluxo sanguíneo cerebral (Brain Research Imaging Centre, 2012).

No entanto, o primeiro passo na definição do conceito de RMf só foi dado por Ogawa e Belliveau cem anos depois (Ogawa, et al., 1990) (Belliveau, et al., 1990). Estes investigadores propuseram a utilização de imagens de RM para avaliar o fluxo sanguíneo cerebral em ratos anestesiados, baseado nos níveis de oxigenação do sangue. A principal diferença entre os dois estudos está relacionada com o agente de contraste utilizado no estudo do fluxo e oxigenação sanguínea; Ogawa e colaboradores utilizaram um contraste endógeno, enquanto Belliveau e seus colaboradores utilizaram um contraste exógeno (Ogawa, et al., 1990) (Belliveau, et al., 1990). Assim, observaram que nas imagens de RM o sangue oxigenado apresentava maior sinal que o sangue não oxigenado (i. e., desoxigenado) e confirmaram as propriedades magnéticas da hemoglobina.

Apenas dois anos depois, em 1992, foram publicados os primeiros artigos relacionados com o mapeamento funcional utilizando o contraste de BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*) (Bandettini, et al., 1992) (Ogawa, et al., 1992), sendo este o método mais utilizado para a obtenção de imagens de RMf, daí que a modalidade

de RMf comumente referida na literatura se refira, implicitamente, ao método de contraste BOLD.

A RMf é uma técnica não invasiva capaz de avaliar as funções cerebrais normais e na presença de algum tipo de patologia por meio da medição indireta da atividade neuronal. Diz-se medição indireta porque é baseada em alterações vasculares para concluir sobre a atividade neuronal.

Generalizando, um exame de RMf é constituído por 3 etapas essenciais: preparação, aquisição e processamento. A preparação é caracterizada pelo fornecimento de uma explicação detalhada dos procedimentos do exame ao sujeito. Este é instruído sobre a tarefa que irá efetuar permitindo uma diminuição dos movimentos induzidos pelo mesmo e assim obter uma maior qualidade no resultado do exame sendo que, por vezes, também é efetuado um pequeno treino da atividade a ser efetuada. Já o segundo passo, a aquisição, é iniciado com a aquisição de dados 3D que, posteriormente serão utilizados como dados anatómicos para o mapeamento funcional. A atividade numa região específica do cérebro é induzida e controlada por um conjunto de tarefas designadas por paradigmas que serão referidas com mais detalhe posteriormente. Por fim, na etapa de processamento, após a coleta dos dados, é feita uma avaliação estatística, permitindo a geração de um mapeamento cerebral que pode ser combinado com as imagens 3D obtidas na segunda etapa (Siemens, 2011). Dentro das três etapas referidas, deve-se salientar a existência de outras etapas igualmente importantes, nomeadamente a programação dos paradigmas utilizados no exame, o planeamento do exame, as etapas de pré-processamento das imagens obtidas, entre outras igualmente relevantes.

Devido à capacidade que a RMf tem de mapear o cérebro humano, esta modalidade apresenta um vasto número de aplicações em neurociências, nomeadamente:

- Permitir o estudo da forma, funcionamento e desenvolvimento de um cérebro normal, bem como de um cérebro lesionado;
- Detetar tumores ou outras patologias em fase inicial, possibilitando a antecipação do início do tratamento;
- Monitorizar o crescimento e desenvolvimento de tumores cerebrais;

- Definir as correlações normais do comportamento;
- Descrever as bases de aprendizagem do cérebro.

## 2.4. O EXAME DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Num exame de RM, independentemente da modalidade em questão, o sujeito deve dar atenção a alguns cuidados básicos, nomeadamente: deve permanecer imóvel durante a realização do exame, não pode ter em sua posse objetos ferromagnéticos (relógios, *piercing*, próteses metálicas, entre outros) devido ao forte campo magnético que o exame exige (Westbrook, 2002) e deve estar sensibilizado para a necessidade de ter que obedecer ao responsável que vai dando indicações no decorrer do exame, pois durante o exame de RMf o sujeito deve efetuar tarefas (e.g., carregar em botões, perceber fragrâncias, ouvir sons, ver filmes, executar tarefas de memorização).

Normalmente, o sujeito deita-se numa mesa que deslizará para dentro de uma estrutura cilíndrica, tal como a representada na *Figura 2.7*, que permitirá a obtenção da imagem.



Figura 2.7. Scanner de RM Magnetom Avanto 1.5T da Siemens. Adaptado de (Siemens Corporation, 2012).

É importante salientar que num exame de RMf o sujeito é colocado no *scanner* de RM com a cabeça num suporte imobilizador que serve para minimizar os movimentos durante o processo de aquisição das imagens anatómicas e funcionais.

Nesse suporte encontra-se um espelho ajustável que refletirá os estímulos que são projetados numa tela colocada no exterior do magneto, aos pés do sujeito. O técnico encontra-se numa outra sala e pode entrar em contacto com o paciente através de um aparelho de comunicação próprio (Functional MRI Research Center, 2011).

Num exame convencional de RM a duração do exame pode variar desde 10 até 40 minutos dependendo do órgão analisado, número e tipo de sequências de RM utilizadas. Já num exame de RMf a duração pode variar entre 15 minutos e 2 horas, dependendo do objeto de estudo e das tarefas a serem efetuadas (Functional MRI Research Center, 2011). Deve-se salientar que os métodos imagiológicos para a RMf variam de centro para centro pois, como não existe padronização, cada grupo tem desenvolvido de forma independente os métodos de análise e os procedimentos requeridos para a aquisição e processamento de dados funcionais. No entanto são sempre adquiridas imagens estruturais e funcionais.

Nas imagens funcionais, *Figura 2.8*, a orientação dos cortes é normalmente axial, podendo no entanto ser coronal nalguns casos. São adquiridas entre 20 a 30 cortes e a sua espessura pode ser regulada. Após a aquisição das imagens estruturais e funcionais é necessário um processamento dos dados obtidos de modo a melhorar os resultados.

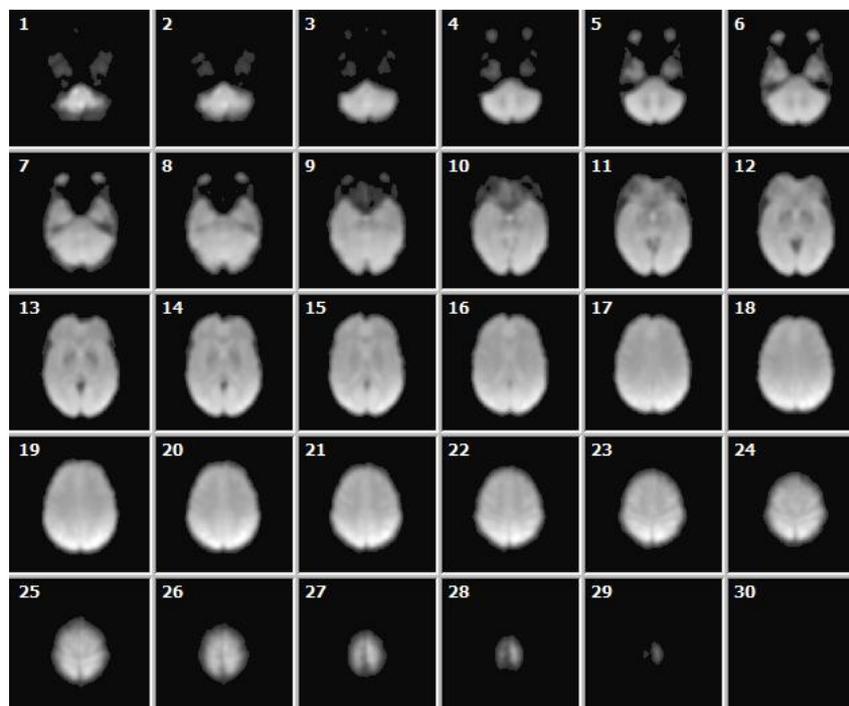


Figura 2.8. Imagens funcionais obtidas num *scanner* de RM de 1.5T.

De modo a melhorar significativamente a análise dos dados obtidos num exame de RM é muito importante o uso de aplicações de análise e processamento de imagens médicas. Também devido ao crescente número de imagens obtidas num único exame, torna-se necessário o uso deste tipo de aplicações de modo a poder processar todos os dados de uma forma mais precisa. Deste modo é possível identificar padrões na imagem mais facilmente, assim como segmentar regiões de interesse, obter e analisar volumes de diferentes partes anatómicas, entre outros. Estas aplicações servem como ferramentas de auxílio ao médico, permitindo obter um diagnóstico mais rigoroso por parte deste.

## 2.5. FERRAMENTAS PARA PROCESSAMENTO DE IMAGENS MÉDICAS DO CÉREBRO HUMANO

### 2.5.1. FORMATO DE FICHEIROS

Com a evolução da informática e o aumento do volume de imagens geradas num exame de RM, surgiu a necessidade de padronizar os procedimentos de imagem levando a que diferentes equipamentos, plataformas e procedimentos estejam padronizados para permitir a interoperabilidade entre as diferentes aplicações disponíveis. Alguns dos formatos utilizados em neuroimagem são apresentados na *Tabela 2.2.*

Tabela 2.2. Representação de alguns formatos de imagem médica

Nome do formato	Extensão do ficheiro	Origem
Analyze	.img / .hdr	Analyze software, Mayo Clinic
DICOM	.dcm	ACR/NEMA consortium
NifTI	.nii ou .img/ .hdr	NIH Neuroimaging Informatics Tools Initiative
MINC	.mnc	Montreal Neurological Institute (extensão de NetCDF)
AFNI brick	.BRIK	AFNI software, Medical College of Wisconsin/NIMH

O *standard Digital Imaging and Communication in Medicine* (DICOM) foi criado pelo *Nacional Electrical Manufacturers Association* (NEMA) para facilitar a distribuição e visualização de imagens médicas no ambiente hospitalar. A décima parte deste

padrão descreve o formato de ficheiros para a distribuição de imagens que são normalmente acedidas e armazenadas através do Sistema de Comunicação e Arquivamento de Imagens (*Picture Archiving and Communication System – PACS*). Este formato é constituído por um *file header* com um preâmbulo de 128 bytes seguido por um prefixo de 4 bytes constituído pelas letras “D”, “I”, “C” e “M” e um *data set* com vários *data elements* (Center for Advanced Brain Imaging, 2011).

Um formato amplamente utilizado nas ferramentas de análise de dados de RM é o Analyze 7.5, desenvolvido pelo *Biomedical Imaging Resource da Fundação Mayo*<sup>ii</sup>, e que se apresenta como sendo uma evolução do formato Analyze. Este último é constituído por, pelo menos, dois ficheiros: um ficheiro *image* e o *header*. O ficheiro *image* (\*.img) é muito simples e contém normalmente dados em pixéis descomprimidos para as imagens num dos muitos formatos de pixéis possíveis. Por seu lado, o ficheiro *header* (\*.hdr) é constituído por três subestruturas: *header\_key* (descreve o *header*), *image\_dimension* (que descreve as dimensões da imagem) e o *data\_history* (que é opcional e descreve a história das imagens e os comentários, se existirem) (Analyze, 2012).

Uma das limitações associada aos formatos de ficheiros anteriores é a ambiguidade entre a orientação esquerda e direita. Assim, a *Neuroimaging Informatics Technology Initiative* (NIFTI) desenvolveu uma orientação esquerda/ direita *standard*, assim como campos para incluírem parâmetros de transformação enquanto a compatibilidade com o formato Analyze é salvaguardada. Ao resolver esta limitação o formato NIFTI passou a ter bastante sucesso entre os principais programadores de aplicações para neurociências (BrainVoyager, FreeSurfer, FSL, entre outras). Assim, o formato NIFTI é uma adaptação relativamente recente do formato Analyze 7.5. As imagens no formato NIFTI podem ser constituídas por apenas um ficheiro (\*.nii) ou, tal como no Analyze, por ficheiro duplo (\*.hdr e \*.img). É importante salientar que o formato NIFTI 4D é constituído por um ficheiro comprimido (\*.nii.gz) que permite a observação de volumes e ativações mas, muitas vezes, necessita de aplicações adicionais para armazenar informações muitas vezes

---

<sup>ii</sup> Disponível no endereço <http://www.mayo.edu/bir/SoftwareAnalyze/Analyze.html>

preponderante para um bom diagnóstico, tais como: parâmetros do *scanner* (Max Planck Institute for Neurological Research Cologne, 2012).

Aliado aos diferentes formatos de ficheiros disponíveis, também existem aplicações essenciais à conversão entre diferentes formatos. Como tal, existem disponíveis diversos conversores como por exemplo o *dcm2nii*, que converte dados no formato DICOM para o formato NIFTI.

### 2.5.2. SISTEMAS DE COORDENADAS

Desde que as imagens de RM estão relacionadas com objetos físicos, há a necessidade de relacionar os pontos de dados na imagem com a localização espacial do objeto físico. Este relacionamento é feito recorrendo a um sistema de coordenadas, que especifica características espaciais da imagem. A matriz de dados de uma única imagem cerebral é geralmente tridimensional, de modo que cada uma das dimensões da matriz corresponde a uma dimensão no espaço (Poldrack, et al., 2011).

Por convenção, as dimensões (ou eixos) são chamados de X, Y e Z. No espaço padrão utilizado para neuroimagem, apresentados com maior detalhe na *Secção 2.5.3*, X representa a dimensão da esquerda para a direita, o símbolo Y representa a dimensão anterior – posterior, e Z representa a dimensão inferior – superior, tal como apresentado na *Figura 2.9*.

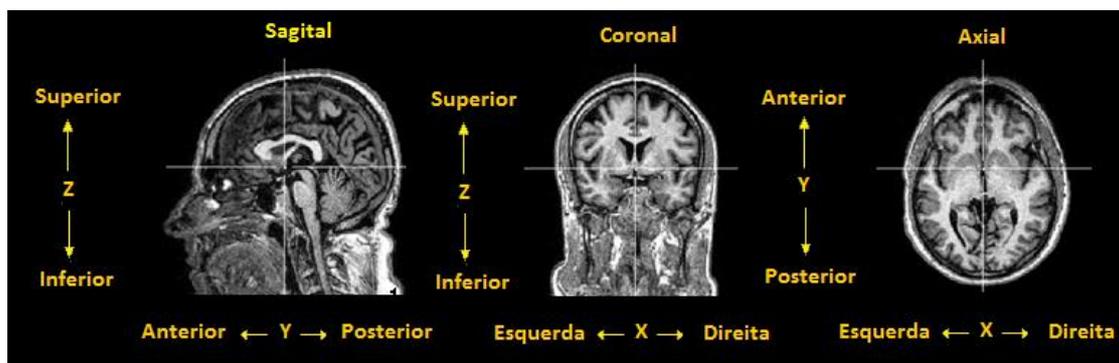


Figura 2.9. Representação dos três eixos principais utilizados no espaço de coordenadas padrão para RM

Na matriz de dados, um dado vóxel pode ser indexado como  $[X_{vox}, Y_{vox}, Z_{vox}]$ , onde essas três coordenadas especificam a sua posição ao longo de cada dimensão da

matriz (começando ou em zero ou um, dependendo da convenção do sistema de software específico) (Poldrack, et al., 2011). Por exemplo, a aplicação BrainVoyager utiliza a convenção radiológica em que o lado esquerdo do cérebro corresponde ao lado direito da imagem e outras aplicações utilizam a convenção neurológica em que o lado esquerdo do cérebro corresponde ao lado esquerdo da imagem. As especificações sobre como estes dados são armazenados (tipo de convenção utilizada, por exemplo) são geralmente armazenados no cabeçalho da imagem.

### **2.5.3. ATLAS E TEMPLATES CEREBRAIS**

Uma das situações mais comuns em neuroimagem é a existência de cérebros com tamanhos e formas diferentes daí que, na maioria das vezes, o mapeamento funcional ou estrutural de um cérebro não corresponda na perfeição ao de outro. Desta forma, a normalização torna-se útil, pois, através de um processo de transformação espacial, podem-se colocar as imagens adquiridas num espaço padrão. Os dois sistemas mais utilizados em neurociências são o sistema Talairach e o sistema *Montreal Neurological Institute* (MNI).

A primeira iniciativa de normalização do sistema de coordenadas foi efetuada por Talairach (1988) dando o seu nome ao sistema (Evans, et al., 2012). O sistema Talairach é utilizado para descrever a localização de diferentes estruturas cerebrais independentemente das diferenças de forma e tamanho dos cérebros individuais.

Este sistema estabelece um padrão espacial (i. e., sistema de coordenada padrão –  $x$ ,  $y$ ,  $z$ ) ao qual as estruturas cerebrais são referenciadas. As coordenadas do sistema são definidas pela marcação de dois pontos postos numa linha horizontal designados por coordenadas estereotáxicas (Evans, et al., 2012). Identificados estes dois pontos (comissura anterior (CA) e comissura posterior (CP)), traça-se o plano CA–CP, que une as coordenadas referidas, tal como esquematizado na *Figura 2.10* (Rorden, 2002).

De seguida, são estabelecidas as fronteiras do córtex cerebral ao longo de cada um dos três eixos. Através destes parâmetros pode-se enquadrar o volume cerebral em questão no espaço de Talairach. Depois de terem sido marcadas as fronteiras cerebrais, o cérebro passa por um processo de contração ou expansão de tal modo que

preencha o sistema de grelha de Talairach. No final as coordenadas  $x$ ,  $y$  e  $z$  iniciais sofrem uma transformação para as novas coordenadas de Talairach  $x''$ ,  $y''$  e  $z''$  de tal modo que sobre o plano CA-CP as novas coordenadas são nulas (Rorden, 2002).

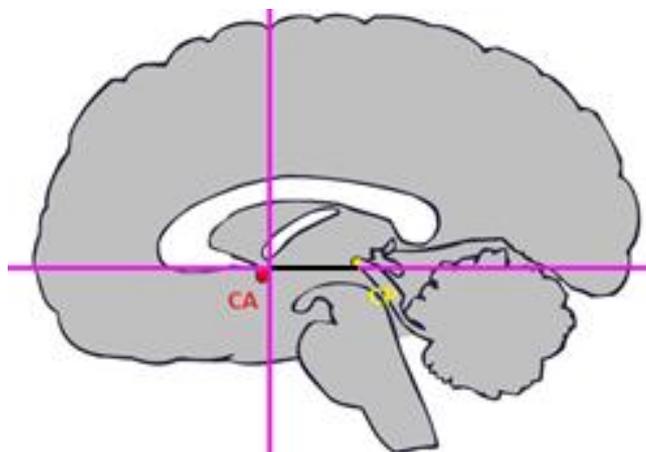


Figura 2.10. Figura esquemática da localização da CA e CP. Adaptado de (Rorden, 2002).

Já o sistema MNI, na última década, tem-se revelado uma alternativa ao espaço de *Talairach*, tendo sido amplamente adotado no domínio do mapeamento cerebral e a sua posição atual resulta de uma evolução através de várias fases. A primeira fase designa-se por atlas MNI 305 T1 e as mais recentes por MNI 152, 40th Generation MNI 152 e ICBM 152 (Evans, et al., 2012). O objetivo deste sistema é aumentar a representatividade da população tendo por base 305 aquisições. O sistema MNI foi adotado como padrão pelo *International Consortium for Brain Mapping* (ICBM).

Ainda não existe um consenso quando ao *template* utilizado em neuroimagem. Algumas aplicações apresentam os seus resultados dentro do sistema MNI e outras no espaço de Talairach. Deste modo, a conversão entre estes dois templates é necessária e podem ser feitas recorrendo a determinadas aplicações, tais como: *mni2tal* ou *tal2mni*.



## CAPÍTULO 3

# ANÁLISE VOLUMÉTRICA CEREBRAL

---

### *Ideias chave:*

- A análise volumétrica cerebral permite efetuar estudos estruturais de neuroimagem;
- Existem diversas aplicações informáticas capazes de segmentar o cérebro nas suas estruturas corticais e subcorticais;
- As aplicações existentes não se encontram padronizadas e utilizam diferentes métodos estatísticos e algoritmos de segmentação;
- Foram aplicados casos de estudo às aplicações SPM, FSL e FreeSurfer, de forma a obter os volumes das estruturas corticais e subcorticais cerebrais;

O cérebro, como qualquer tecido vivo, está em constante mudança em resposta a estímulos ambientais, genéticos e interações entre estes (Storey, 2006). Estas adaptações que provocam mudanças estruturais e funcionais no cérebro estão agora ao alcance das técnicas de neuroimagem.

A morfometria computacional baseada em imagens de RM tornou-se um método preponderante no estudo das alterações macroscópicas da estrutura cerebral através de escalas de tempo. Graças aos avanços computacionais e aos sofisticados estudos dos modelos desenvolvidos, a extensão mínima de mudança necessária à deteção e, conseqüentemente, os períodos durante o qual o mínimo dessas alterações podem ser detetados foram reduzidos consideravelmente durante os últimos anos (Mietchen & Gaser, 2009).

Por outro lado, a maior disponibilidade de imagens de RM do cérebro de populações diferentes permite inferências mais detalhadas sobre as mudanças cerebrais que ocorrem em escalas de tempo maiores, muito além do tempo médio de um projeto

de pesquisa. Assim sendo, todas as questões relativas a estruturas e funções cerebrais têm vindo a ser acedidas, proporcionando novas oportunidades e desafios à IM que contribuem para uma maior compreensão do cérebro e como este se modifica ao longo do curso de evolução (Mietchen & Gaser, 2009).

### 3.1. TÉCNICAS DE ANÁLISE VOLUMÉTRICA

A morfometria, no âmbito das neurociências, surgiu devido à crescente necessidade de avaliar e medir diferenças estruturais cerebrais de uma determinada população comparando-as com o tempo, determinadas patologias associadas, entre outros parâmetros. A morfometria analisa diferenças estruturais no cérebro de diferentes grupos, correlações de estruturas cerebrais com determinadas variáveis de interesse e permite efetuar análise estatística, tais como as efetuadas na RMf.

Na *Figura 3.1* é apresentado um esquema com as principais medidas que podem ser adquiridas com a morfometria, nomeadamente, a medição de volumes cerebrais de determinadas regiões de interesse (*region of interest - ROI*), de todo o cérebro e de volumes locais utilizando a Morfometria Baseada em Vóxeis (*Voxel-based Morphometry - VBM*); medição de distâncias, tais como a espessura cortical; e formas (i. e., medição de curvaturas).

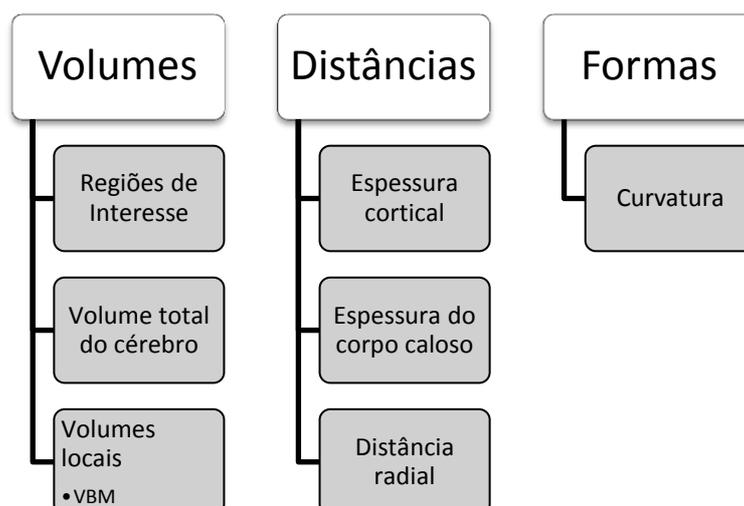


Figura 3.1. Esquema com as principais medições que podem ser feitas pelos métodos de morfometria

Como a presente dissertação dá ênfase aos estudos volumétricos, apenas serão descritos os métodos relacionadas com a segmentação e medição de volumes cerebrais: volumes de regiões de interesse, volumes locais e volume de todo o cérebro.

### **3.1.1. VOLUMES DE REGIÕES DE INTERESSE**

Geralmente, os estudos de neuroimagem concentram-se em áreas específicas do cérebro, logo é necessária a utilização de técnicas capazes de definir estruturas ou regiões, previamente selecionadas com base no conhecimento médico, como sendo pontos de possíveis alterações cerebrais.

A definição de regiões de interesse pode ser efetuada manual ou automaticamente. É uma técnica extremamente específica cuja qualidade dos resultados depende da qualidade da ROI desenhada, a qual necessita de ser prévia e detalhadamente definida.

A técnica manual de definição de ROI's é geralmente realizada por um especialista, logo, a correta definição da ROI está, em grande parte, dependente do especialista que deve ter excelentes conhecimentos de anatomia cerebral, firmeza no desenho do contorno e deve existir ainda uma boa qualidade de imagem.

Apesar do método ser amplamente difundido e validado, ele apresenta limitações importantes, pois como referido, depende imenso da pessoa que o realiza. Esta pessoa pode estar sujeita a imprecisões das mais variadas ordens, pois é um método bastante árduo e demorado que exige o delineamento manual dos diversos cortes abrangendo toda a ROI até se obter uma estrutura 3D.

Por outro lado esta técnica também pode ser automatizada, apresentando a vantagem de ajudar a padronizar os resultados obtidos entre as diferentes ROI's, não estando sujeita a tantos erros do operador como a técnica manual e em estudos com um elevado número de casos é sem dúvida uma mais-valia, pois diminui o tempo gasto na definição das ROI's.

### **3.1.2. VOLUME TOTAL DO CÉREBRO**

A análise do volume total do cérebro permite observar diferenças e mudanças no desenvolvimento neurológico, no envelhecimento, em doenças degenerativas nervosas, diferentes desordens psiquiátricas, entre outras.

Este volume é frequentemente aproximado pelo cálculo do Volume Intracranial (*Intracranial Volume* - ICV) e pode ser calculado somando os volumes da substância branca (SB), da substância cinzenta (SC) e do fluido cerebrospinal (*Cerebrospinal Fluid* - CSF) (Ambarki, et al., 2012). O volume total do cérebro (*total brain volume* - TBV) é outra métrica que pode ser utilizada e caracteriza-se como resultando da soma entre o volume de SB e o volume de SC (Barra, et al., 2007).

### **3.1.3. VOLUMES LOCAIS**

A medição de volumes locais baseia-se em diversos métodos, nomeadamente a morfometria baseada em deformações, morfometria baseada em tensores, e a morfometria baseada em vóxel. Todos estes métodos visam a obtenção de comparações estatísticas de volumes pertencentes a estruturas do cérebro humano (Bui & Taira, 2010).

#### MORFOMETRIA BASEADA EM VÓXEL

A técnica de VBM visa mapear a variabilidade de diferentes estruturas cerebrais comparando imagens de dois indivíduos ou de grupos de indivíduos vóxel a vóxel (Bui & Taira, 2010).

A morfometria clássica consiste na segmentação manual de algumas ROI's. No entanto, esta técnica tem vindo a ser suplantada pela VBM que apresenta as seguintes vantagens:

- Técnica automatizada e, conseqüentemente, mais rápida;
- Permite o estudo de regiões que anatomicamente não estão bem definidas;
- Permite visualizar todo o cérebro;
- A normalização requerida compensa as diferenças nos volumes cerebrais.

A VBM não é limitada a uma estrutura predefinida, apresentando uma alta resolução espacial e necessitando de segmentar o cérebro em substância branca, substância cinzenta e fluido cerebrospinal, localizando-os num espaço comum.

O resultado do processo de VBM é um mapa estatístico representando uma determinada população. A principal aplicação da técnica de VBM é apoiar o processo de registo de imagem, transportando as imagens para um mesmo sistema de coordenadas estereotáxico, conforme o processo descrito na *Secção 2.5.3*, bem como a segmentação do cérebro, descrito com maior detalhe posteriormente.

#### **3.1.4. SEGMENTAÇÃO**

Tendo em conta os objetivos da presente dissertação torna-se relevante referir com maior detalhe a técnica de segmentação, que se apresenta como sendo uma operação de processamento de imagem bastante complexa.

O objetivo da segmentação é isolar da imagem atributos, objetos ou propriedades. Existem diversos métodos de segmentação que podem ser baseados na intensidade do sinal, nas propriedades de descontinuidade ou similaridade, e/ou localização espacial na imagem. Por similaridade entende-se o agrupamento de regiões, enquanto descontinuidade refere-se à identificação de pontos, linhas e arestas.

Deste modo, a segmentação de imagens médicas pode ser agrupada em duas classes: métodos baseados em vóxeis e métodos baseados em vértices. Os métodos baseados em vóxel são métodos de segmentação baseados em regiões, onde as estruturas anatómicas são representadas pelas características dos seus vóxeis (e. g., intensidade do sinal, posição espacial) e características das redondezas. Já nos métodos baseados em vértices, as estruturas anatómicas são representadas pelos seus parâmetros de superfície e os seus vértices agrupados numa *mesh* (Seixas, et al., 2010).

A segmentação do cérebro corresponde à sua decomposição em diferentes volumes cujas estruturas ou características funcionais são similares. No caso da segmentação de RMe, os dados disponíveis correspondem a mapas de vóxeis 3D que são análogos ao mapeamento de pixéis 2D. Estes vóxeis são agrupados de acordo com

características quantitativas como a intensidade, cor ou textura. Isto implica que após o processo de segmentação, cada vóxel tenha associado uma *etiqueta* explicando a que grupo pertence (substância branca, substância cinzenta ou fluído cerebrospinal). O couro cabeludo, gordura, pele, músculos, olhos e ossos são preferencialmente removidos num passo anterior ou modelados com uma máscara durante o processo designado por *skull stripping*, e será explicado posteriormente.

A *Figura 3.2* representa graficamente o resultado da segmentação do cérebro num corte transversal de RM. No lado esquerdo, aparece uma imagem T1 adquirida após pré-processamento. No lado direito, encontra-se a segmentação 2D estimada representada com três cores, em que cada tom representa cada etiqueta. Desta forma, vermelho, branco e cinzento correspondem à SB, SC e CSF, respetivamente.



Figura 3.2. Segmentação cerebral de uma imagem RM ponderada por T1. Esquerdo: Imagem cerebral sem o crânio. Direito: Imagem segmentada com a SB a branco, SC a cinzento e CSF a vermelho

### 3.2. APLICAÇÕES INFORMÁTICAS PARA VOLUMETRIA CEREBRAL

Com o desenvolvimento tecnológico foram surgindo um elevado número de aplicações informáticas capazes de processar imagens anatómicas do cérebro humano de uma forma mais apurada, permitindo ao utilizador um maior controlo sobre as ferramentas de manipulação neuroimagiológica. Assim, o processo de segmentação do cérebro pode ser feito automaticamente recorrendo apenas a pacotes de *software* desenvolvidos para o efeito.

A escolha das aplicações informáticas a estudar centrou-se na definição de alguns critérios de inclusão, nomeadamente:

- Aplicação gratuita;

- Compatibilidade com os Sistemas Operativos Windows 7 de 64 *bits* e Ubuntu 11.10;
- Existência de documentação *online*;
- Divulgação na literatura relacionada com análises de RMe.

De entre as diversas aplicações disponíveis para volumetria cerebral podem-se salientar três: FreeSurfer, SPM e FSL que serão referidas com maior detalhe posteriormente. Estas aplicações apresentam uma taxa de utilização bastante elevada, pois são bastante divulgadas na literatura relacionada com segmentação cerebral.

A *Tabela 3.1* apresenta um pequeno resumo das ferramentas disponíveis para segmentação, bem como das substâncias cerebrais que conseguem segmentar.

Tabela 3.1. Sumário das capacidades das aplicações informáticas para segmentação cerebral

		Segmentação			
		Substância Branca	Substância Cinzenta	Fluído cerebrospinal	Subcortical
Aplicações	SPM	✓	✓	✓	X
	FSL	✓	✓	✓	✓
	FreeSurfer	✓	✓	✓	✓

### 3.2.1. FREESURFER

O FreeSurfer é um pacote de *software opensource* desenvolvido pelo *Martinos Center for Biomedical Imaging* e constituído por um conjunto de ferramentas de análise e visualização de imagens cerebrais e funcionais (FreeSurfer, 2012).

Esta aplicação apresenta uma interface gráfica normalmente utilizada para visualização e manipulação de alguns resultados, no entanto no processo de segmentação, por exemplo, é aconselhável o uso da linha de comandos.

O *software* inclui um sofisticado algoritmo de segmentação automatizado, que delinea a anatomia cerebral numa série de camadas corticais e subcorticais. Resumidamente, as estruturas são rotuladas utilizando um algoritmo complexo que

combina informações sobre a intensidade da imagem, localização do atlas de probabilidade e relações espaciais entre estruturas subcorticais locais. O processo de segmentação é baseado no atlas anatómico de *Talairach* e nas intensidades de vóxel, logo é possível segmentar a SB, a SC e o CSF do cérebro humano, assim como as estruturas subcorticais utilizando imagens T1. Como esta aplicação não permite a segmentação multiespectral, a extração do crânio e do couro cabeludo utilizando imagens T2 não é possível (FreeSurfer, 2012).

Apesar do processo de segmentação no FreeSurfer ser automatizado, é possível efetuar correções manuais consoante a necessidade do utilizador e dos resultados finais obtidos. O fluxo de trabalho para essas correções manuais é referido com bastante detalhe em (FreeSurfer, 2012).

Além do mais, a aplicação permite fazer a correção de movimentos e intensidades de imagem, a normalização espacial, conversão ficheiros, entre outras.

### **3.2.2. FSL**

O FSL é um pacote de aplicações desenvolvido pelos membros do *Oxford Centre for Functional MRI of the Brain* (Universidade de Oxford) que é composto por uma série de ferramentas independentes que podem ser utilizadas separadamente ou em conjunto. Apesar de o FSL ter diversas bibliotecas e ferramentas, nesta secção só se irão focar as que se revelam úteis na segmentação de estruturas cerebrais.

A aplicação permite a análise de imagens, apresentando ferramentas estatísticas úteis na manipulação de dados cerebrais de RMf, RMe e RM por tensor de difusão. É composta por diversos módulos, esquematizados na *Figura 3.3*, incluindo ferramentas de análise estrutural (*Brain Extraction Tool* (BET), que permite a extração do crânio; *FMRIB's Automated Segmentation Tool* (FAST), que efetua a segmentação das imagens; *FMRIB's Linear Image Registration Tool* (FLIRT), para o registo linear; FUGUE, que faz a correção de distorções; SIENA, que executa uma análise de alterações cerebrais), ferramentas de análise funcional (FEAT, que efetua análise de RMf; MELODIC, modelo de análise livre de RMf para análise de componentes independentes) e ferramentas de conectividade (*FMRIB's Diffusion Toolbox* (FDT), difusão e tratografia).

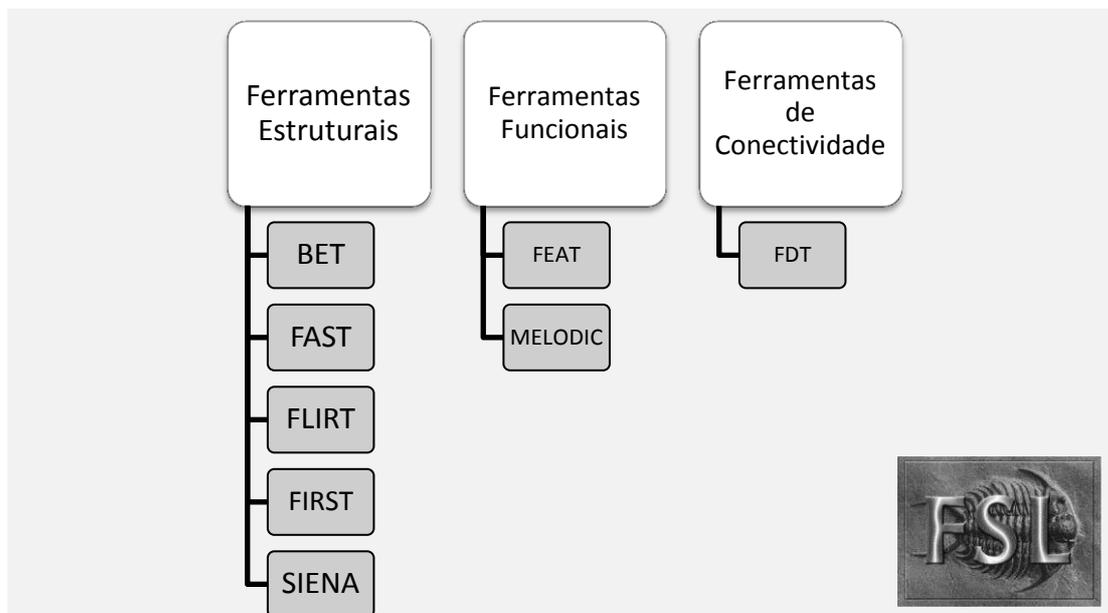


Figura 3.3. Módulos existentes na aplicação de neuroimagem FSL

Contrariamente ao FreeSurfer, o FSL fornece ao utilizador uma interface gráfica que acompanha todo o processo de processamento de imagens. O *layout* do menu principal da aplicação é apresentado na *Figura 3.4*.

Mais especificamente, a ferramenta de segmentação do FSL, o FAST, segmenta uma imagem 3D do cérebro em diferentes tipos de tecidos (SB, SC e CSF) ao mesmo tempo que corrige as heterogeneidades do campo de RF. O processo é totalmente automatizado e também permite a produção de uma imagem com as correções dos campos de *bias* efetuadas e uma segmentação dos tecidos probabilística e/ ou parcial, a partir dos quais os tecidos são processados (The Oxford Centre for Functional MRI of the Brain, 2012).

O algoritmo do FAST é baseado no modelo de *Hidden Markov Random Field* (MRF) e num algoritmo de maximização expectável (Zhanf, et al., 2001). Pode ser processado de várias maneiras: a partir de zero (sem qualquer modelo “*a priori*”), utilizando uma informação “*a priori*” (i. e., mapas criados a partir de uma média de várias segmentações) ou permitindo uma estimativa de volumes parciais (Klauschen, et al., 2009).

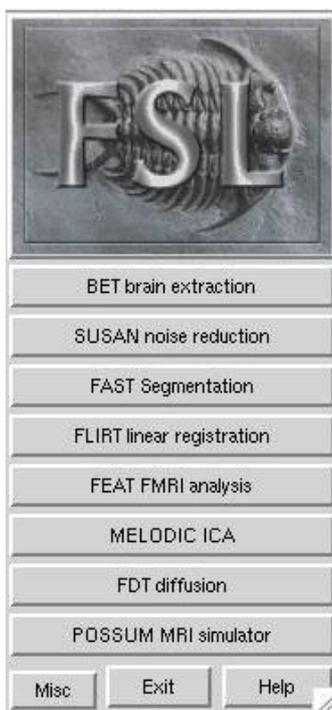


Figura 3.4. *Layout* do menu principal da aplicação FSL

### 3.2.3. SPM

*Statistical Parametric Mapping (SPM)* é um *software opensource* desenvolvido para o ambiente MatLab que implementa métodos estatísticos para análise funcional e estrutural de neuroimagens. A base deste *software* é a abordagem baseada em vóxel para a segmentação dos tecidos utilizando diferentes versões modificadas dos Atlas de probabilidade de tecidos do ICBM (Klauschen, et al., 2009).

Esta aplicação disponibiliza ao utilizador uma interface gráfica, cujo *layout* é apresentado na *Figura 3.5*, ao premir o botão “*segment*” dentro da caixa “*spatial pre-processing*” é iniciado o processo de segmentação do cérebro em SB, SC e CSF a partir de imagens T1 que são rigorosamente alinhadas com os mapas de probabilidade. Contudo, esta aplicação não permite a segmentação de regiões subcorticais do cérebro.

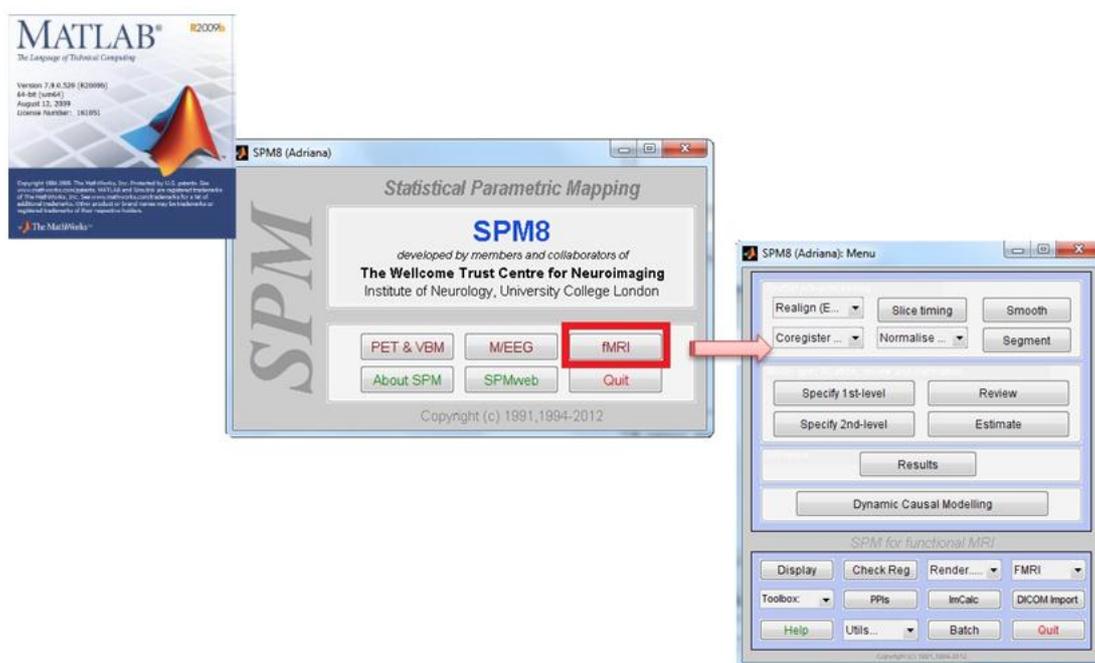


Figura 3.5. Layout do programa SPM8

Por outro lado, a segmentação multiespectral não pode ser efetuada utilizando o SPM, o que significa que não é possível utilizar aquisições T1 e T2 registadas para segmentar o crânio nem o couro cabeludo. No entanto esta aplicação permite fazer registo de imagem, correção do campo de *bias*, normalização espacial, suavização entre outras.

O processo de segmentação corresponde a uma abordagem integrada de modelação generativa, em que a segmentação dos tecidos, a normalização de intensidades e a deformação não linear são realizadas dentro da mesma mistura do modelo gaussiano (Ashburner & Friston, 2005). A segmentação no SPM não processa só vóxeis individuais mas também leva em consideração a informação da intensidade do sinal que é codificada em *templates* de imagem contendo probabilidades prévias para a SC, SB e CSF.

Para uma normalização espacial bem sucedida é importante que o cérebro a ser testado seja similar ao cérebro *template* (i. e., examinando o cérebro de uma criança deve ser providenciado um *template* especial adequado a cérebros desse tamanho). A classificação utilizada no processo é probabilística no sentido de que é atribuído um valor de probabilidade a cada vóxel conforme a classe a que pertence. O volume

total é calculado adicionando, ao longo de todos os vóxeis, a probabilidade atribuída a uma determinada classe, e em seguida multiplicada pelo volume do vóxel conhecido (Lüders, et al., 2002).

Na *Tabela 3.2*, são apresentadas as principais diferenças no processo de segmentação das aplicações SPM, FSL e FreeSurfer tendo em conta os processos de segmentação genéricos.

Tabela 3.2. Sumário das principais diferenças entre os métodos de segmentação utilizados pelo SPM, FSL e FreeSurfer

<b>APLICAÇÕES</b>	<b>SPM</b>	<i>Template de imagem</i>	<i>Template</i> padrão do ICBM
		Segmentação	Remove o crânio e couro cabeludo
		Marcação	Marcação é probabilística, pois é atribuído um valor de probabilidade a cada vóxel consoante a classe a que pertence
		Atlas anatómico	Providenciado pelo ICBM. Resultante de 452 sujeitos alinhados, com correção das heterogeneidades da aquisição e classificados em SB, SC e CSF
		Volume	Soma, ao longo de todos os vóxeis, da probabilidade atribuída a uma determinada classe e em seguida multiplicada pelo volume do vóxel conhecido
	<b>FSL</b>	Registo de imagem	Realizado em duas etapas. A primeira faz um registo padrão com 12 graus de liberdade para o <i>template</i> . A segunda aplica o registo utilizando uma máscara subcortical MNI152 com 12 graus de liberdade excluindo os vóxeis que estão fora das regiões subcorticais
		<i>Template de imagem</i>	Espaço MNI152 com 1mm de resolução
		Marcação	Realização de um modelo de forma e aparência de superfície ativa
		Atlas anatómico	Modelos de aparência de forma construídos a partir de 336 sujeitos, constituídos por crianças, adultos, indivíduos normais e sujeitos com patologias. O resultado é um conjunto de vértices de uma estrutura <i>mesh</i> .
		Volume	O volume é processado calculando as <i>meshes</i> obtidas na fase anterior
	<b>FreeSurfer</b>	Registo de imagem	Registo linear conduzido com 9 graus de liberdade
		<i>Template de imagem</i>	Espaço de <i>Talairach</i>
		Segmentação	Remove o crânio e couro cabeludo
		Marcação	Gerada pela ligação de cada vóxel à classe cuja probabilidade de pertencer é maior
		Atlas anatómico	Cada estrutura é representada pela classe numa função de probabilidades
		Volume	Através da contagem das estruturas com a mesma marcação

### 3.2.4. FERRAMENTAS DE CONVERSÃO

Em neuroimagem a necessidade de conversão entre formatos de ficheiros é bastante recorrente devido ao facto de os diferentes pacotes de aplicações utilizarem diferentes formatos de imagem. Deste modo, a maioria das aplicações têm integradas ferramentas de conversão.

No caso do FreeSurfer, a conversão de ficheiros pode ser efetuada recorrendo à ferramenta “*mri\_convert*” através da execução do comando que segue na linha de comandos.

```
mri_convert [opções] <imagem inicial> <imagem resultante>
```

Esta ferramenta de conversão apesar de ser sofisticada, não é útil em alguns formatos. Isto é, o *mri\_convert* não consegue converter DICOM em NifTI, sendo esta conversão possível através do uso da ferramenta MRICron. Outro formato de imagem importante é o “*vtk*” em que, mais uma vez, não é aconselhável o uso do *mri\_convert* na sua conversão, sendo aconselhável o uso do “*ITKsnap*” que é mais indicado na conversão de “*nii*” em “*vtk*”.

O SPM também apresenta uma ferramenta de conversão designada por “*Dicom Import*”. Esta ferramenta converte DICOM em NifTI, sendo este último o formato aceite como *input* pela aplicação.

Contrariando a premissa anterior, o FSL não apresenta nenhuma ferramenta de conversão integrada. Desta forma, como a aplicação só aceita imagens no formato NifTI, é necessária a conversão para este formato. A conversão pode ser efetuada recorrendo à ferramenta DCM2NII do MRICron.

### 3.3. METODOLOGIA

Na presente secção, será descrita a metodologia utilizada na segmentação cortical e subcortical cerebral. É importante salientar que a aplicação SPM não efetua segmentação subcortical e que em nenhuma das aplicações foi quantificado o valor do CSF, pois no SPM a quantificação desta estrutura inclui outros tecidos não cerebrais (e.g., crânio) e no FreeSurfer a quantificação do volume de CSF exige a segmentação do CSF sulcal que não se distingue do osso em aquisições ponderadas

por T1. Deste modo, o valor do volume intracranial total, que inclui o CSF, não pode ser calculado revelando-se como uma métrica pouco precisa (FreeSurfer, 2007) (Gitelman, 2009) (Fischl, 2010).

Como o objetivo da dissertação é avaliar a consistência e a fiabilidade das diferentes aplicações de neuroimagem é importante definir as métricas utilizadas na avaliação destes parâmetros.

Os dados a avaliar serão os valores dos volumes quantificados por cada aplicação para cada caso de estudo. Serão calculadas as médias e os desvios-padrão destes dados e de forma a visualizar as diferenças entre as populações e obter uma maior noção sobre a dispersão dos dados serão desenvolvidos gráficos “*boxplot*”.

Logo a consistência será avaliada consoante maior ou menor dispersão dos dados. Isto é, quanto maior for a dispersão menor é a consistência e vice-versa.

A análise da segmentação cortical e da segmentação subcortical envolveu os seguintes passos:

- Escolha do *software* a estudar;
- Segmentação cortical e subcortical dos casos de estudo utilizando as diferentes aplicações;
- Análise dos resultados;
- Conclusão quanto à adequação de cada *software* à atividade a desenvolver.

### **3.4. APLICAÇÃO NOS CASOS DE ESTUDO**

O fluxo de processamento foi aplicado a um estudo de 10 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 estruturais foram realizadas todas 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.

A *Tabela 3.3* apresenta os parâmetros utilizados em cada aquisição.

Tabela 3.3. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas nos casos do estudo

Parâmetro\Aquisição	Estrutural
Resolução no plano	1,2 × 1,2 mm
Espessura do corte	1,2 mm
Matriz de aquisição	192 × 192 × 160
FOV	256 mm
TE	3,62 ms
TR	2,4 s

### 3.4.1. FREESURFER

A segmentação dos tecidos cerebrais através do FreeSurfer é efetuada recorrendo à linha de comandos de um terminal Linux. Assim, utilizando o comando “*recon-all*” é possível efetuar a segmentação de todo o cérebro. Esta segmentação compreende a segmentação baseada em volumes e a segmentação baseada em superfície.

O comando referido tem a peculiaridade de exigir como *input* imagens ponderadas por T1 e apresenta 31 etapas que são apresentadas na *Tabela 3.4*. A primeira etapa corresponde à correção de movimentos e é seguida pela normalização não uniformizada de intensidades, registo para atlas de *Talairach*, outra normalização de intensidades e por fim extração do crânio. Estes cinco passos podem ser separados dos restantes adicionando “*autorecon1*” no final da linha de comandos para gerar registo e extração do cérebro, tal como:

```
recon-all -sujeito <nome> -i <input> -autorecon1
```

Por outro lado, o comando “*autorecon2*” continuará até ao vigésimo terceiro passo e permitirá criar a imagem “*aseg.mgz*”, com todos os resultados volumétricos da segmentação:

```
recon-all -sujeito <nome> -i <input> -autorecon1 -autorecon2
```

Aplicando o comando “*recon-all*” com a opção “*all*” são realizados os 31 estágios de segmentação.

Todos os ficheiros criados através dos comandos anteriores são guardados na pasta “*subjects*” com o mesmo nome introduzido na linha de comandos.

Tabela 3.4. Diferentes estágios da segmentação de tecidos utilizando o FreeSurfer

	Nº	Estágio
-autorecon1	1	Correção do movimento
	2	NU (normalização de intensidades)
	3	Computação da transformação Talairach
	4	Normalização de intensidades 1
	5	Remoção do crânio
-autorecon2	6	Registo EM (registo volumétrico linear)
	7	Normalização de intensidade CA
	8	Registo volumétrico não linear CA
	9	Remoção do pescoço
	10	LTA com crânio
	11	Camada CA (marcação volumétrica, isto é <i>aseg.mgz</i> ) e estatística
	12	Normalização de intensidades 2
	13	Segmentação da matéria branca
	14	Edição da SB com <i>aseg.mgz</i>
	15	Preenchimento (começa aqui para edição de SB)
	16	<i>Tessellation</i>
	17	Suavização 1
	18	<i>Inflate 1</i>
	19	<i>QSphere</i>
	20	Fixador automático da topologia
	21	<i>Surfs</i> final
	22	Suavização 2
	23	<i>Inflate 2</i>
-autorecon3	24	Mapeamento Esférico
	25	Registo Esférico
	26	Registo esférico, hemisfério contra-lateral
	27	Mapeamento da curvatura médica do sujeito
	28	Parcelação cortical – <i>Desikan_Killiany</i> e <i>Christophe</i> (marcação)
	29	Estatística de parcelação cortical
	30	Mascara <i>Ribbon</i> cortical
	31	Mapeamento da parcelação cortical para <i>aseg.mgz</i>

Mais especificamente, o comando “*autorecon2*” permite efetuar a segmentação de todo o cérebro baseada em superfície e baseada em volumes extraíndo, assim, todas as estruturas subcorticais do cérebro. Também cria um ficheiro de texto que contém as intensidades para todas as estruturas contidas no ficheiro “*aseg.mgz*”, tal como apresentado na *Tabela 3.5*, que se designa por “*aseg.auto\_noCCseg.label\_intensities.txt*”.

A aplicação também cria imagens individuais da SB (“*wm.mgz*”), imagem ponderada por T1 com o *bias* corrigido, imagem do cérebro extraído (“*norm.mgz*”), a máscara do cérebro (“*brainmask.mgz*”), entre outras. É recomendada a utilização de “*aseg.mgz*” seguida da extração dos tecidos desejados considerando a *Tabela 3.5*, pois as outras imagens não são binárias e existem uma variação de intensidades elevada em “*wm.mgz*”.

Tabela 3.5. Códigos de nomes e intensidades das diferentes estruturas extraídas utilizando o FreeSurfer

Intensidade	Nome do tecido extraído	Intensidade	Nome do tecido extraído
1	Left_Cerebral_Exterior	42	Right_Cerebral_Cortex
2	Left_Cerebral_White_Matter	43	Right_Lateral_Ventricle
3	Left_Cerebral_Cortex	44	Right_Inf_Lat_Vent
4	Left_Lateral_Ventricle	46	Right_Cerebellum_White_Matter
5	Left_Inf_Lat_Vent	47	Right_Cerebellum_Cortex
7	Left_Cerebellum_White_Matter	48	Right_Thalamus
8	Left_Cerebellum_Cortex	49	Right_Thalamus_Proper
9	Left_Thalamus	50	Right_Caudate
10	Left_Thalamus_Proper	51	Right_Putamen
11	Left_Cerebral_White_Matter	52	Right_Pallidum
12	Left_Putamen	53	Right_Hippocampus
13	Left_Pallidum	54	Right_Amygdala
14	Third_Ventricle	58	Right_Accumbens_area
15	Fourth_Ventricle	60	Right_VentralDC
16	Brain_Stem	72	Fifth_Ventricle
17	Left_Hippocampus	75	Left_Lateral_Ventricles
18	Left_Amygdala	76	Right_Lateral_Ventricles
24	CSF	77	WM_hypointensities
26	Left_Accumbens_Area	78	Left_WM_hypointensities
28	Left_VentralDC	79	Right_WM_hypointensities
40	Right_Cerebral_Exterior	80	Non_WM_hypointensities
41	Right_Cerebral_White_Matter	81	Left_non_WM_hypointensities
		82	Right_non_WM_hypointensities

Na *Figura 3.6* é apresentada a sobreposição da imagem de “*brainmask.mgz*” com o resultado da segmentação subcortical (“*aseg.mgz*”). São ilustradas a superfície pial e a superfície de substância branca demarcadas com a linha em cor vermelha e amarela, respetivamente.

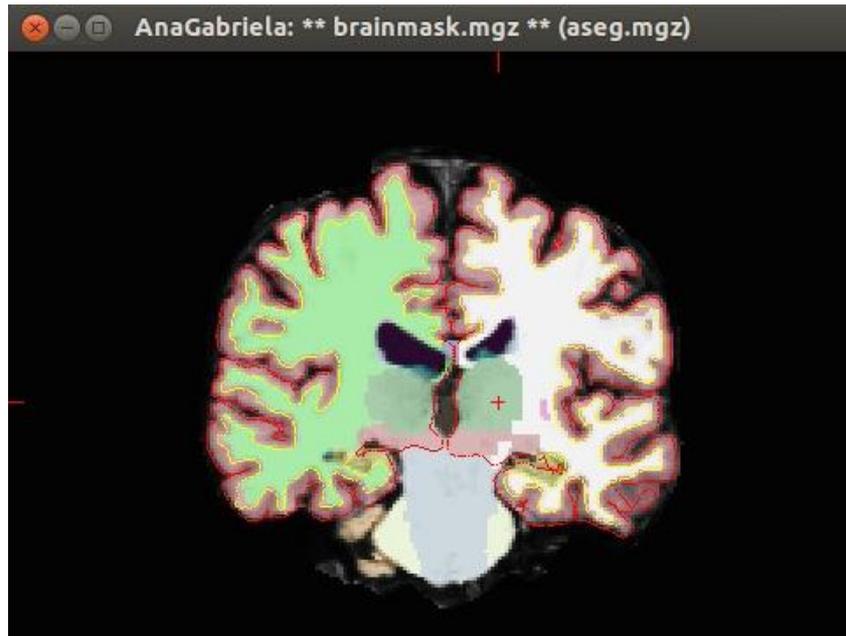


Figura 3.6. Sobreposição entre as imagens "brainmask.mgz" e "aseg.mgz"

Como mencionado anteriormente, o FreeSurfer efetua uma segmentação baseada em superfície. Ele pode gerar a superfície de SB, a superfície pial e a espessura destas duas superfícies que é chamado por córtex cerebral constituído pela SC. O resultado da segmentação baseada em superfície pode ser encontrado no ficheiro *surf*. E assim, as superfícies de SB do lado esquerdo e direito tal como a superfície pial podem ser encontradas. Na *Figura 3.7*, são ilustradas as superfícies de SB e pial (A e B) obtidas através do FreeSurfer e a parcelação da superfície cortical (C).

A aquisição destes resultados demora cerca de nove horas utilizando os comandos "*-autorecon1*" e "*-autorecon2*". Contudo, como mencionado anteriormente, existem 31 etapas e caso se aplique a opção "*all*" pode demorar entre 18 a 40 horas na segmentação do cérebro inteiro. Assim, podem ser extraídas mais imagens individuais tais como: "*ribbon.mgz*", ilustrado na *Figura 3.8*, que contem informação binária das SB e SC. Também existe uma imagem que só contem SC em "*aparc.a2009s+aseg.mgz*" mas esta não é binária.

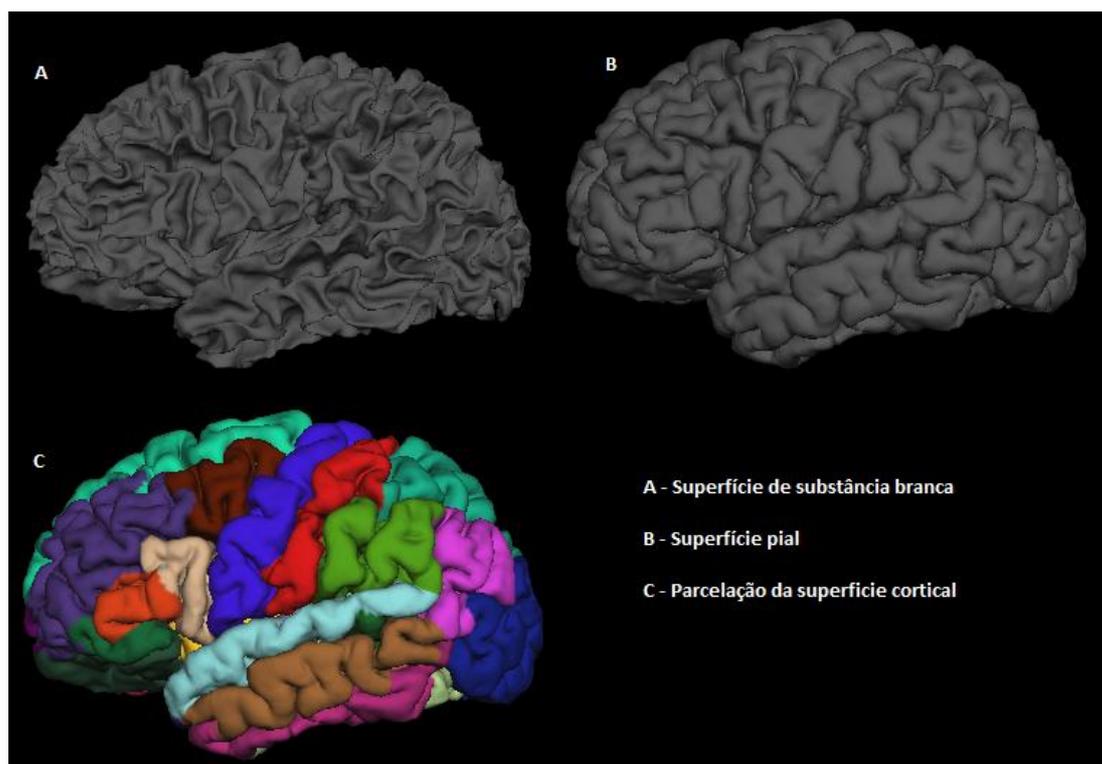


Figura 3.7. Superfícies de SB, pial e parcelação cortical

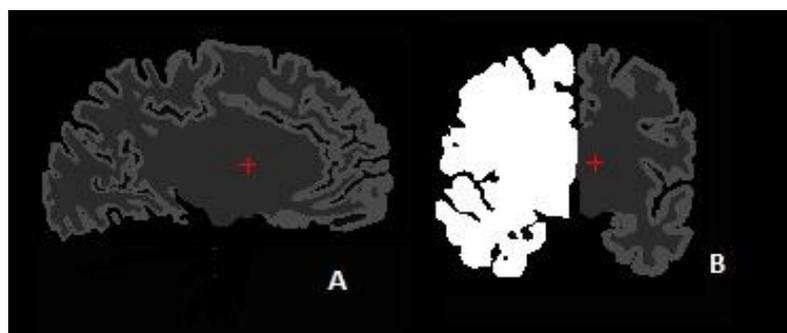


Figura 3.8. Substância branca e cinzenta no "ribbon.mgz" nos planos sagital (a) e coronal (b)

Na *Figura 3.9*, encontram-se apresentados a substância branca do "aseg.mgz" e a substância cinzenta do "aparc.a2009s+aseg.mgz" nos planos sagital (A), coronal (B) e transversal (C).

Nesta aplicação, as estruturas subcorticiais não produzem imagens individuais contrariamente ao que sucede no FSL, por exemplo. Contudo, como mencionado, utilizando intensidades diferentes para diferentes estruturas podem ser extraídos diferentes tecidos e estruturas do "aseg.mgz".

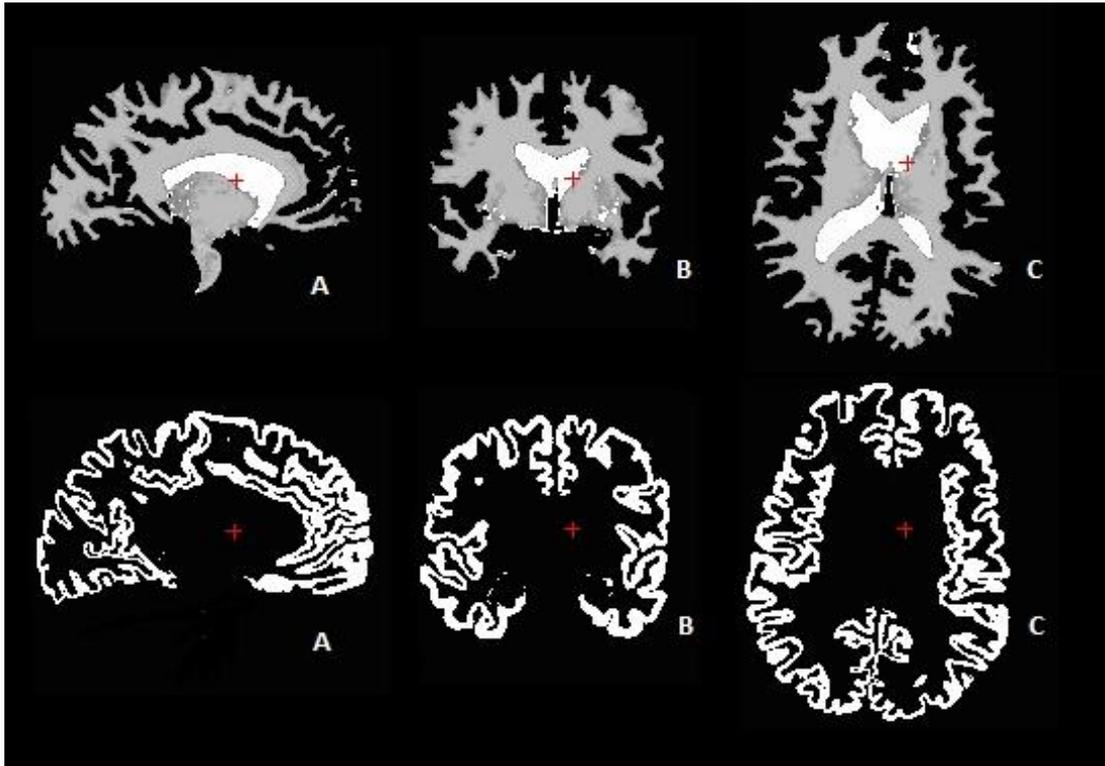


Figura 3.9. Substância branca do "aseg.mgz" (cima) e substancia cinzenta do "aparc.a2009s+aseg.mgz" (baixo) nos planos sagital (a), coronal (b) e transversal (c)

No presente trabalho, optou-se por utilizar o comando "recon-all" com a opção "all" sendo que após a observação dos resultados obtidos não foi necessária nenhuma correção individual dos mesmos.

#### QUANTIFICAÇÃO VOLUMÉTRICA

A quantificação de volumes utilizando o FreeSurfer é possível devido à criação do ficheiro "aseg.mgz", que contém todas as estruturas e dados volumétricos resultantes do processo de segmentação e, recorrendo aos dados presentes na Tabela 3.5., é criado na pasta designada por "stats" o ficheiro "aseg" com os volumes das estruturas segmentadas discriminados.

O volume total de SC é obtido através do volume combinado do córtex cerebral e do cerebelo, amígdala, caudado, putâmen, pálido, núcleo accumbens, tálamo e diencéfalo ventral e para a SB foram somados a SB cerebral e do cerebelo, tronco cerebral e hipointensidades da SB (Klauschen, et al., 2009).

### 3.4.2. FSL

O processo de segmentação cerebral utilizando o FSL é caracterizado pela necessidade de utilizar vários os módulos existentes na aplicação. Inicialmente utiliza-se o BET para extrair o cérebro da imagem original e o resultado desta extração é depois segmentado utilizando o FAST. Seguidamente é efetuada a segmentação subcortical, em que, através da linha de comandos e utilizando a ferramenta FIRST, se obtém diferentes estruturas subcorticais cerebrais. Por fim, as diferentes estruturas cerebrais são quantificadas utilizando ferramenta *fsstats* que é executada através da linha de comandos e devolve os volumes das estruturas em  $\text{mm}^3$ .

#### EXTRAÇÃO DO CÉREBRO

Com o intuito de separar o cérebro de outras estruturas nomeadamente o crânio, o FSL proporciona uma ferramenta designada por BET (*Brain Extraction Tool*). Esta ferramenta extrai o cérebro de uma forma totalmente automática, assim o utilizador só tem que esperar até que o processo termine. Além disso, como todas as imagens cerebrais são diferentes, esta ferramenta, permite a manipulação de alguns parâmetros dando ao utilizador um maior controlo sobre o processo permitindo a obtenção de melhores resultados.

Os principais passos efetuados pelo BET são:

- *Tessellation*<sup>iii</sup> triangular de icosaedros;
- Troca cada triângulo até atingir a complexidade exigida;
- Deformação da superfície de forma a preencher a superfície cerebral.

Este algoritmo tem como *input* uma imagem de RM ponderada por T1 e utiliza um modelo cerebral de forma a tentar preencher a *mesh* com a imagem da extração do cérebro. Apesar dos resultados da extração do cérebro serem bons, verifica-se que algumas estruturas não cerebrais permanecem. Estas estruturas não cerebrais afetam a quantificação de volumes, principalmente da SC que é a que mais se aproxima da zona exterior do cérebro.

---

<sup>iii</sup> Processo de criação de um plano 2D utilizando a repetição de uma figura geométrica sem sobreposição nem lacunas

Além do mais, a ferramenta de extração do cérebro também permite gerar um modelo da pele e do crânio de imagens de sujeitos diferentes. Esta particularidade é muito importante, pois a construção de um modelo específico para o sujeito exige a presença destas partes.

Como referido a extração do cérebro é feita utilizando o BET. Este pode ser selecionado da interface do FSL, tal como demonstrado na *Figura 3.10*, ou escrevendo na linha de comandos a instrução que se segue:

```
bet <input> <output> [opções]
```

Nesta instrução é definida a imagem que se pretende processar e especificado o nome e o caminho para a imagem de *output*. A instrução também permite a escolha de algumas opções que se encontram listadas na *Tabela 3.6*. Estas opções também são apresentadas no ambiente de interface gráfica caso se selecione as opções avançadas.

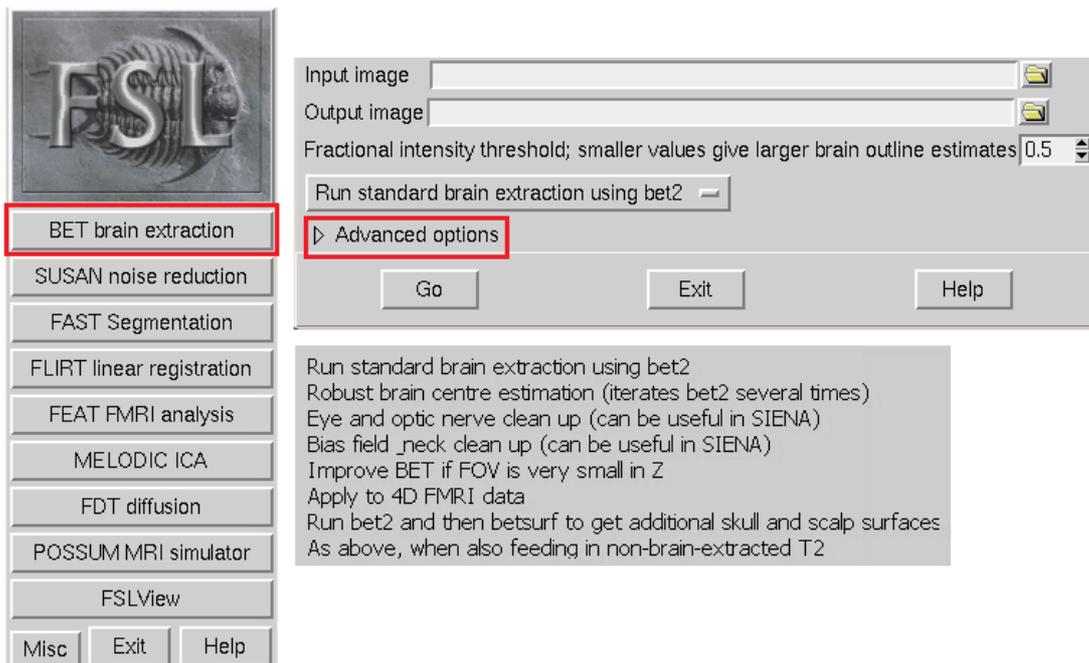


Figura 3.10. Interface gráfica da ferramenta BET do FSL

Tabela 3.6. Sumário das opções disponíveis no BET

BET	
-f	Define o valor de <i>threshold</i> de intensidade fracionada que varia de 0 a 1. Ao aumentar este valor a extração cerebral será maior e vice-versa
-g	Gradiente vertical da intensidade fracionada que varia entre -1 e 1. Aumentando este valor a partir do zero a extração cerebral será maior na base e mais pequena no topo
-c	Define as coordenadas do centro de gravidade
-R	Estimação robusta do centro de gravidade que é um método iterativo para a escolha da melhor estimativa possível
-A	Extração do crânio e do couro cabeludo numa imagem ponderada por T1
-A2	Extração do crânio da imagem ponderada por T1 usando a informação de uma imagem ponderada por T2 do mesmo sujeito com o mesmo alinhamento

Na *Figura 3.11*, é apresentado o resultado da extração do crânio utilizando um *threshold* de 0.45.

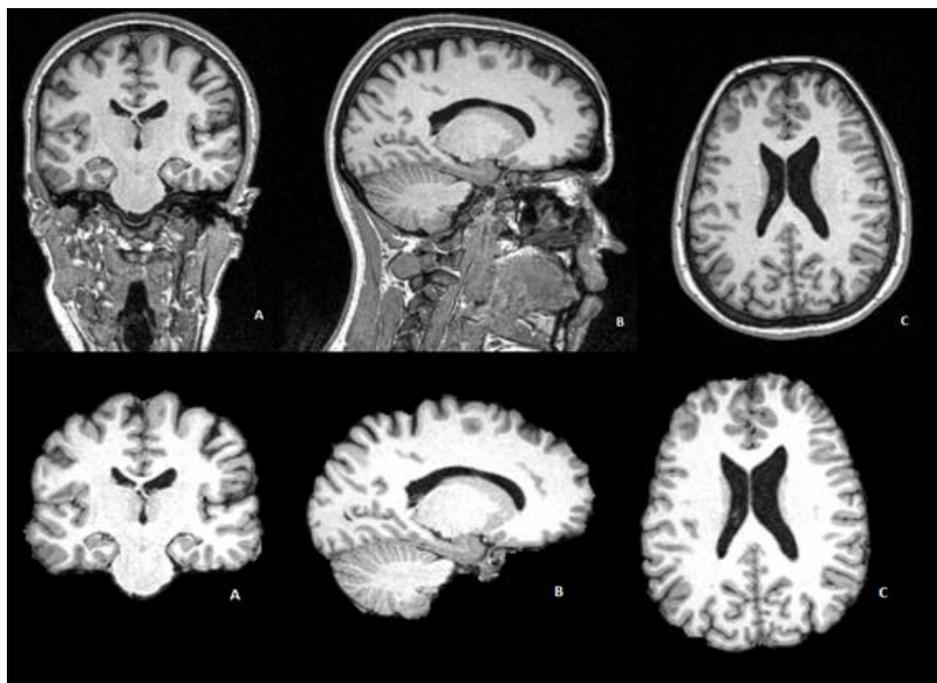


Figura 3.11. Comparação entre a imagem original e a imagem após o processamento com o BET nos cortes coronal (A), sagital (B) e transversal (C)

No nosso trabalho, tentou-se minimizar o efeito da extração do crânio nos volumes de SB manuseando os valores de *threshold* de intensidade fracionada. No BET o valor

padrão do *threshold* é de 0.5 e quanto menor for este valor maior é a estimativa de contorno do cérebro, os valores de utilizados são apresentados na *Tabela 3.7*.

Tabela 3.7. Valores de *threshold* utilizados durante a extração do cérebro dos 10 sujeitos

	Sujeitos	Threshold
Feminino	1	0.45
	2	0.35
	3	0.45
	4	0.4
	5	0.3
Masculino	6	0.4
	7	0.3
	8	0.5
	9	0.5
	10	0.4

### SEGMENTAÇÃO CORTICAL

O FSL proporciona uma ferramenta chamada FAST (*FMRIB's Automated Segmentation Tool*), que permite a segmentação dos tecidos de imagens cerebrais. O *input* desta ferramenta consiste em imagens extraídas do cérebro obtidas no *output* do BET.

A ferramenta é bastante robusta ao ruído porque, utiliza a informação de um vóxel para o classificar juntamente com a informação dos vizinhos. Assim, a probabilidade final de um vóxel é apresentada na *Equação 3.1*.

$$Probabilidade\ final = \log p (intensidade) + BETA \log p (vizinhos) \tag{Equação 3.1}$$

Como referido, o FAST tem a capacidade de classificar três tipos de tecidos SB, SC e CSF a partir de uma imagem extraída do cérebro. Esta ferramenta efetua a correção do campo de *bias* e gera uma imagem ou imagens separadas das diferentes classes de tecidos como *output*. Tal como outras ferramentas do FSL, o FAST pode ser executado a partir da interface gráfica, tal como ilustrado na *Figura 3.12*, ou a partir da linha de comandos utilizando uma instrução semelhante à que se segue:

```
fast [opções] -o <output> <input>
```

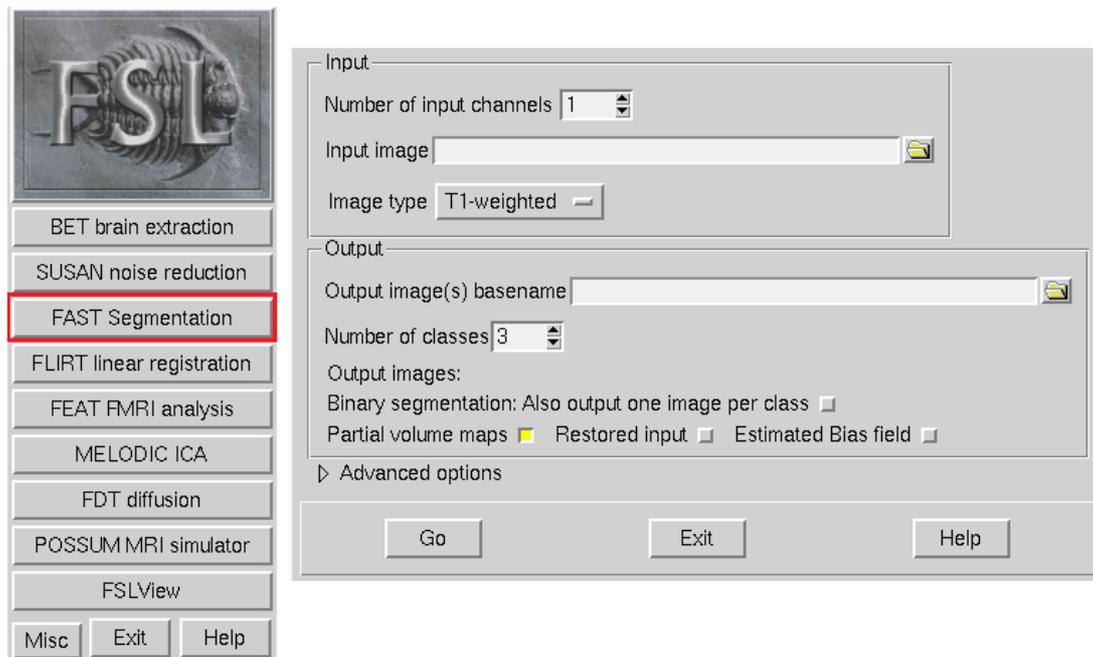


Figura 3.12. Interface gráfica para o FAST

Com o FAST é importante definir corretamente o tipo de imagem a ser processada, o que na linha de comandos corresponde à opção “-t”: “-t 1” é utilizado para imagens ponderadas por T1, “-t 2” corresponde a imagens ponderadas por T2 e “-t 3” corresponde a imagens ponderadas por densidade de prótons. Uma segunda opção importante no FAST é “-H”, que significa parâmetro MRF principal para determinar a suavidade espacial de segmentação cujo valor padrão é de 0,1. Já opção “-n” corresponde à determinação do número de tipos de tecido a ser segmentado. As restantes opções encontram-se sumarizadas na *Tabela 3.8*.

Tabela 3.8. Sumário das opções disponíveis no FAST

FAST	
-t	Define o tipo de imagem. 1 para imagens T1, 2 para T2 e 3 para densidade de prótons
-n	Número de tecidos a serem segmentados
-H	Parâmetro MRF principal para determinar a suavização espacial da segmentação
-g	Gera imagens binárias separadas para cada classe
-b	Versão com correção de <i>bias</i> do <i>input</i> é gerada no <i>output</i>
-B	Corresponde à correção do campo de <i>bias</i>
-o	Especifica o caminho do <i>output</i>

Na *Figura 3.13*, são apresentados os resultados da segmentação da SB (lado esquerdo) e SC (lado direito) nos planos coronal (A), sagital (B) e transversal (C) obtidos através do MRICron. E na *Figura 3.14*, é apresentada a sobreposição das SB e SC nos planos transversal (A), coronal (B) e sagital (C) obtidos através do FSLview.

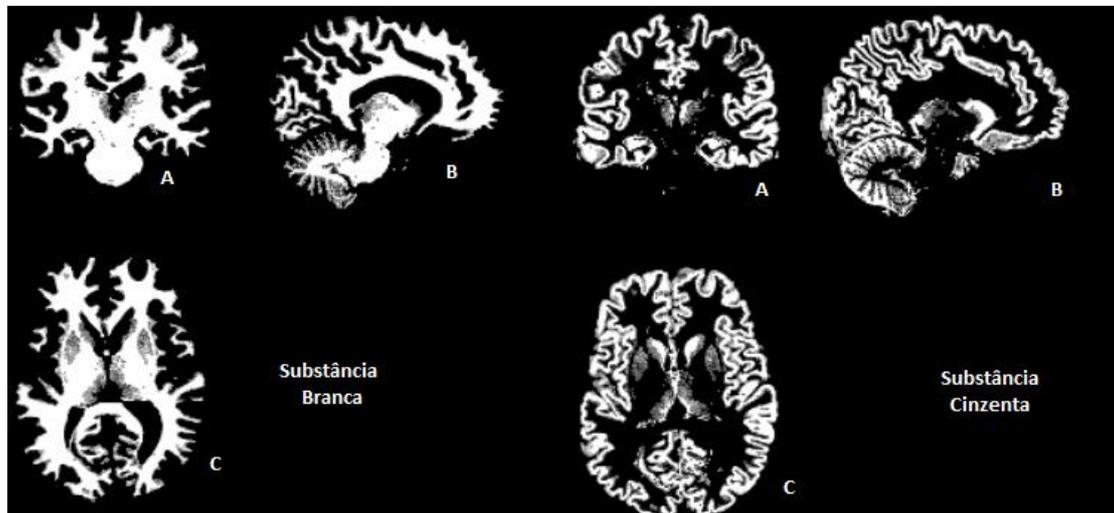


Figura 3.13. Resultado da segmentação da SB (lado esquerdo) e SC (lado direito) nas vistas coronal (A), sagital (B) e transversal (C) obtidos através do MRICron

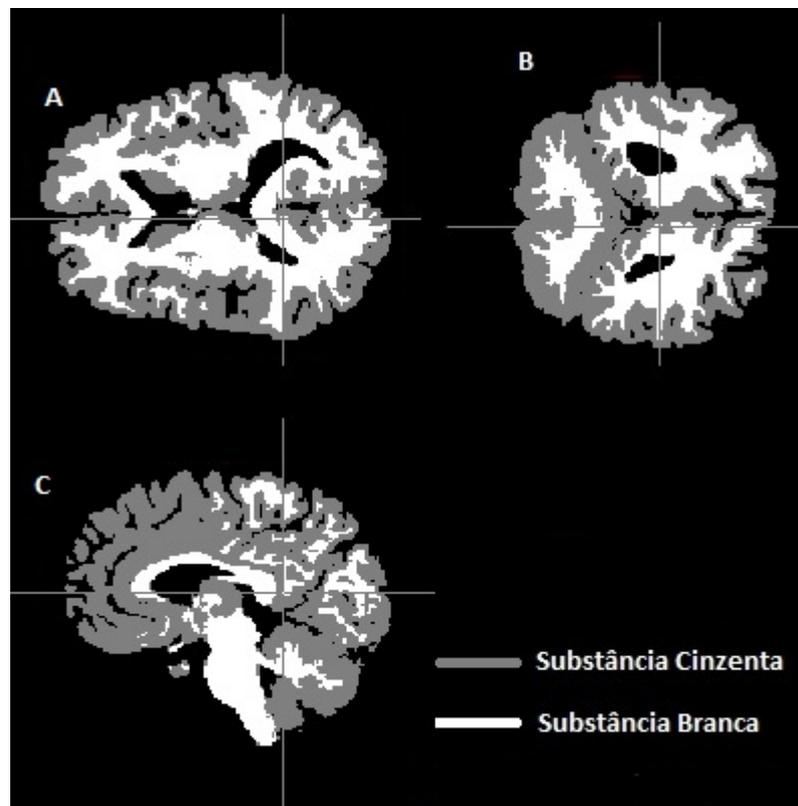


Figura 3.14. Resultados da segmentação obtidos pelo FAST com sobreposição das substâncias branca e cinzenta nos planos coronal (A), sagital (B) e transversal (C) obtidos a partir do FSLview

### SEGMENTAÇÃO SUBCORTICAL

Com o FSL é ainda possível extrair as estruturas subcorticais do cérebro humano (e.g., amígdala, hipocampo). Isto pode ser efetuado recorrendo à ferramenta FIRST (*FMRIB's Integrated Registration and Segmentation Tool*). O FIRST permite extrair 17 estruturas subcorticais diferentes utilizando um modelo de treino de 336 conjuntos de dados completos que foram manualmente segmentados por especialistas. Assim, o *input* deve ser uma imagem ponderada por T1 que vai ser comparada com os modelos.

Neste processo todos os dados devem estar registados no espaço de coordenadas padrão MNI-152 logo, o primeiro passo do algoritmo do FIRST é alinhar a imagem do *input* com este espaço. Uma vez feito o alinhamento, a ferramenta tenta coincidir cada *mesh* (modelo estrutural) na imagem e aplica, no final, uma correção de contornos.

Contrariamente às ferramentas relatadas anteriormente, o FIRST só pode ser executado através da linha de comandos. A instrução geral pode ser efetuada da seguinte maneira:

```
run_first_all -i <input> -o <output> [opções]
```

Em que o “*input*” corresponde à imagem ponderada por T1, o “*output*” corresponde ao nome do ficheiro que serve como base aos restantes ficheiros a serem criados e as “*opções*”, tal como nas outras ferramentas, correspondem às opções de execução que se encontram apresentadas de seguida:

- -i – especifica a imagem ponderada por T1 (*input*);
- -o – especifica o nome da imagem de *output*;
- -b – especifica se a imagem base é de cérebro extraído;
- -s – especifica um conjunto específico de estruturas que serão segmentadas. Estruturas estas cujos nomes de código são apresentados na *Tabela 3.9*;
- -a – especifica a matriz de registo afim para o espaço *standard* (opcional).

Na *Figura 3.15*, são ilustradas as estruturas subcorticais resultantes do processamento com o FIRST e na *Figura 3.16* são apresentadas as mesmas estruturas mas utilizando a aplicação Paraview para visualizar os dados.

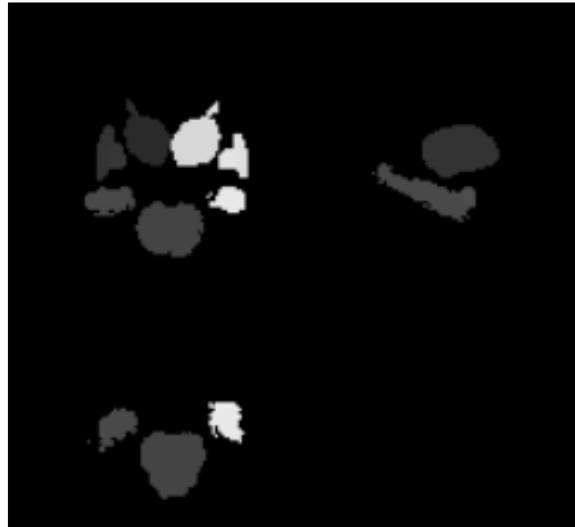


Figura 3.15. Diferentes volumes das estruturas subcorticais com o MRIcron

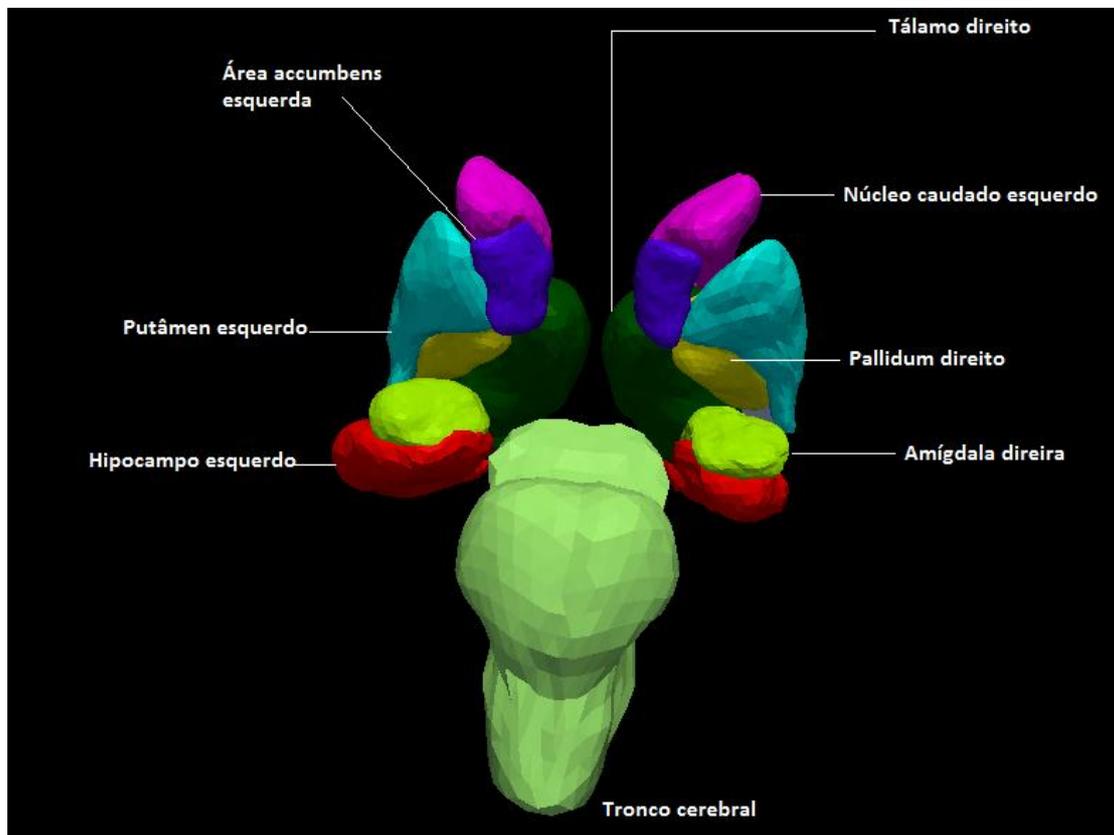


Figura 3.16. *Meshes* de superfície das diferentes estruturas subcorticais obtidas a partir do Paraview na vista coronal

Tabela 3.9. Códigos e nomes das estruturas subcorticais segmentadas pelo FIRST

Código	Nome da estrutura	Código	Nome da estrutura
L_Accu	Área Accumbens Direita	R_Accu	Área Accumbens Esquerda
L_Amyg	Amígdala Esquerda	R_Amyg	Amígdala Direita
L_Caud	Núcleo Caudado Esquerdo	R_Caud	Núcleo Caudado Direito
L_Hipp	Hipocampo Esquerdo	R_Hipp	Hipocampo Direito
L_Pall	Pálido Esquerdo	R_Pall	Pálido Direito
L_Puta	Putâmen Esquerdo	R_Puta	Putâmen Direito
L_Thal	Tálamo Esquerdo	R_Thal	Tálamo Direito
BrStem	Tronco cerebral		

Generalizando, a segmentação subcortical com o FIRST necessita da execução de uma série de etapas após a execução da instrução *run\_first\_all*, já referida. Este *script*, é escrito de tal forma que, mesmo que o utilizador queira efetuar o processamento de um *cluster* local ele irá processar todas as estruturas.

De qualquer maneira, o *script* cria um ficheiro de *log* que contem as saídas de erros de cada comando. Este pode ser verificado através da instrução seguinte, que caso não existam erros, não devolve nada.

```
cat *.logs/*.e*
```

No FIRST é necessário verificar os *outputs*. Como tal, foram utilizados dois comandos, um para verificar o registo e outro para verificar a segmentação.

A verificação do registo foi efetuada recorrendo ao comando *slicesdir* que fornecerá como *output* uma página de *web* contendo o resumo do registo para cada sujeito. De salientar que se a etapa de registo falhar então o modelo de ajuste não vai funcionar, mesmo que o *run\_first\_all* continue a gerar saída. Na página HTML obtida, será ilustrado o registo de cada sujeito (*\*\_to\_std\_sub.nii.gz\**) nos cortes sagital, coronal e axial, com um contorno vermelho a salientar as bordas do *template* cerebral MNI\_152\_T1\_1mm, tal como ilustrado na *Figura 3.17*. A página pode ser aberta em qualquer navegador *web*.

Durante a verificação do registo foram detetados dois casos cujo cérebro estava com a orientação errada deste modo, foi necessário efetuar o registo da imagem individualmente e através da ferramenta FLIRT, que será descrita com maior detalhe posteriormente.

Após a verificação e correção do registo é importante verificar a segmentação antes de quantificar volumes. A verificação da segmentação pode ser efetuada recorrendo à instrução *first\_roi\_slicesdir* que gera uma página HTML similar à anterior mostrando as segmentações, tal como apresentado na *Figura 3.18*.

Além destas verificações podem ser efetuadas outras, nomeadamente análise de vértices, correções de limites, entre outras. Estas correções e verificações podem ser encontradas em (FIRST, 2012).

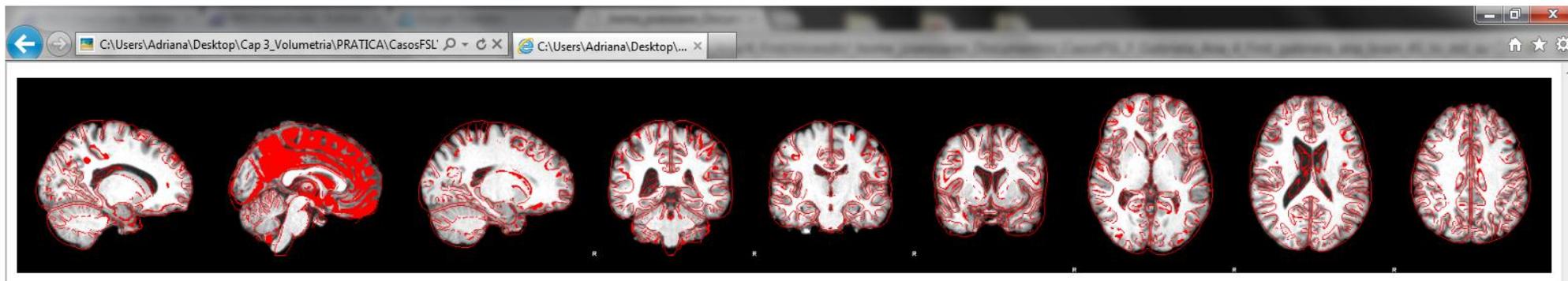


Figura 3.17. Resultado da verificação de registo com o FSL

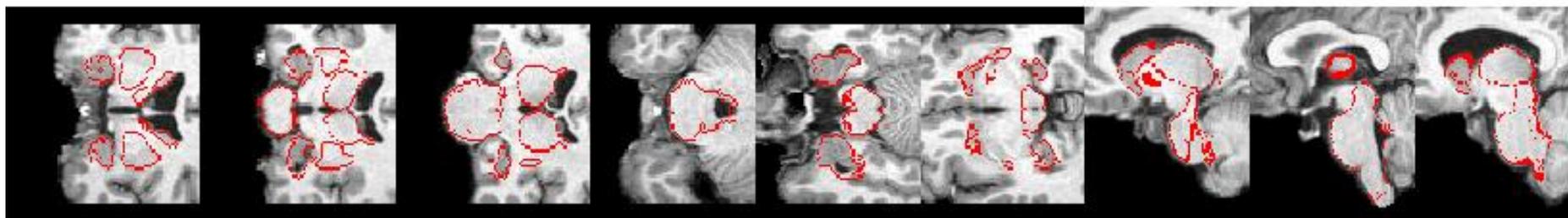


Figura 3.18. Resultado da verificação segmentação utilizando o FSL

### REGISTO DA IMAGEM

Por vezes, quando se trabalha com imagens diferentes do mesmo sujeito, é necessário alinhá-las para permitir a manipulação de todas. De forma a resolver esta limitação, o FSL apresenta duas ferramentas: FLIRT (*FMRIB's Linear Registration Tool*) e FNIRT (*FMRIB's Non-linear Registration Tool*). No nosso trabalho surgiu a necessidade de corrigir a orientação em dois dos casos e foi escolhida a ferramenta FLIRT, cuja interface gráfica é apresentada na *Figura 3.19*.

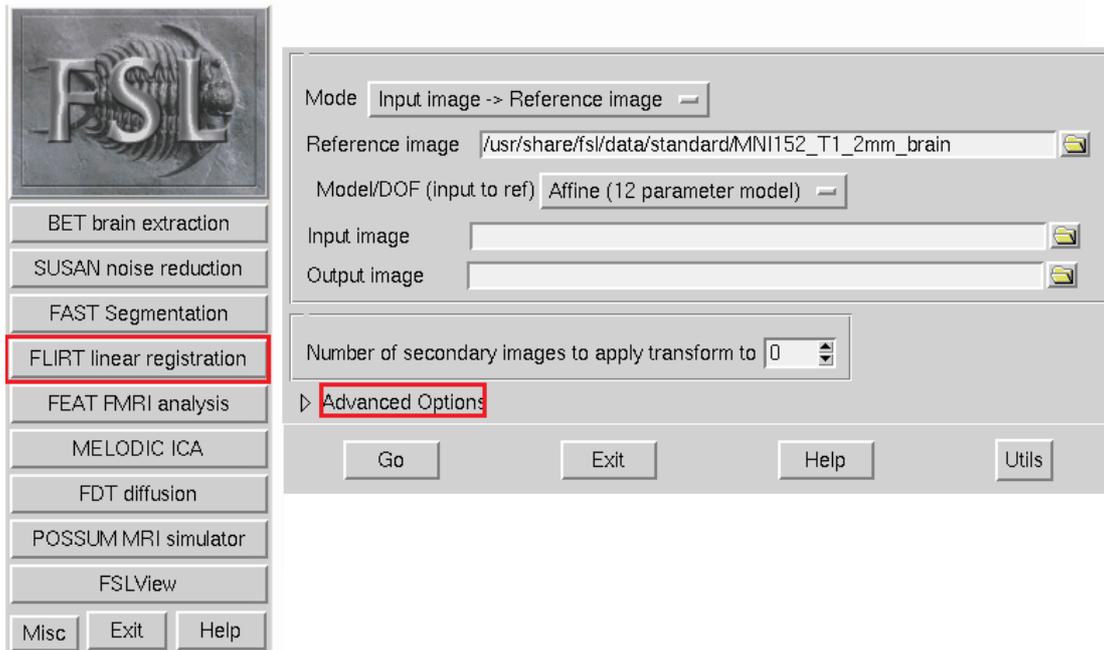


Figura 3.19. Interface gráfica do FLIRT

O FLIRT é utilizado para alinhar imagens ou cortes utilizando unicamente transformação em 2D e 3D (com vários graus de liberdade) baseando-se somente nas intensidades *pixéis/vóxeis*. Aqui, o processo de registo termina quando é encontrado o máximo global da função de similaridade. Contudo, isto pode demorar bastante tempo e são necessários métodos capazes de encontrar o máximo local.

Uma característica importante do FLIRT é que o utilizador pode escolher o método que considerar ideal para escolher o mínimo por exemplo: *least squares*, *correlation ration*, *normalized correlation*, entre outros. Assim, uma vez escolhido este método, a ferramenta tentará encontrar o mínimo da função de custo efetuando repetidas tentativas até atingir a melhor solução. Sendo importante ter um ponto inicial

próximo do mínimo global para que o algoritmo possa convergir mais rapidamente. Além disto, esta ferramenta utiliza versões de baixa resolução das imagens iniciais para aumentar a velocidade. Apesar do FLIRT proporcionar um *trade-off* entre velocidade e robustez é importante ressaltar que o seu *input* deve ser uma imagem de extração do cérebro em vez das tradicionais imagens T1 e T2.

### QUANTIFICAÇÃO DE VOLUMES

Após o processo de segmentação utilizando o FAST, é possível quantificar os volumes da SB, SC e do CSF. Para isso recorre-se à ferramenta *fsstats* que permite o cálculo do valor real do volume do tecido a partir da soma de todos os valores do mapa correspondente ao volume parcial e depois multiplicando com o valor médio do volume (em vóxeis). Exemplificando, para o cálculo do volume de uma imagem segmentada de SC cujo nome é “\*\_brain\_pve\_1” deve ser executado um comando semelhante ao que se segue:

```
fsstats *_brain_pve_1 -m -v | awk '{print $1 * $3}'
```

Do mesmo modo, também a quantificação de estruturas subcorticais é efetuada recorrendo à ferramenta *fsstats* que determina o número de *labels* existentes na estrutura de interesse. Inicialmente é necessário determinar o número da *label* da estrutura de interesse, assim, o *output* “output\_name\_\*\_firstseg.nii.gz” deve ser processado com o FSLView, clicando num vóxel na estrutura de interesse cujo número da *label* aparecerá na caixa de intensidades. Alternativamente, pode-se consultar o número de cada *label* de estrutura de interesse em (FIRST, 2012).

Sabendo o número da *label*, é utilizado o *fsstats* com a opção de *threshold* selecionada para uma *label* individual (“-l”) e com a opção “-u” a variar entre  $\pm 0,5$  do valor da *label* desejada, é possível obter os volumes subcorticais. Por exemplo, para se obter o volume do hipocampo cujo número da *label* é 17 deve ser efetuada a instrução que se segue:

```
fsstats output_name_all_fast_firstseg -l 16.5 -u 17.5 -v
```

### 3.4.3. SPM

#### SEGMENTAÇÃO CORTICAL

Como referido anteriormente, o SPM permite a segmentação entre os diferentes tecidos cerebrais. Como este pacote é escrito e desenhado para o ambiente MatLab, deve ser executado o ficheiro “*spm.m*” para abrir a aplicação. O SPM, contrariamente ao FSL ou FreeSurfer, só apresenta uma interface gráfica ao utilizador que é utilizada para auxiliar o processo de segmentação. Além do mais, contrariamente ao FSL, que tem ferramentas diferentes para extração do cérebro e segmentação, o SPM integra isto tudo no mesmo processo. Contudo, não se pode ver e corrigir a imagem extraída do cérebro, tal como acontece no FreeSurfer, mas pode-se efetuar a segmentação e depois verificar os resultados.

Depois de selecionada a ferramenta de segmentação, é aberta uma janela de configuração, tal como a apresentada na *Figura 3.20*, na qual é possível escolher os valores para os parâmetros de configuração para todo o processo de segmentação. Estes parâmetros de configuração são apresentados na *Tabela 3.10* e serão discutidos em detalhe posteriormente.

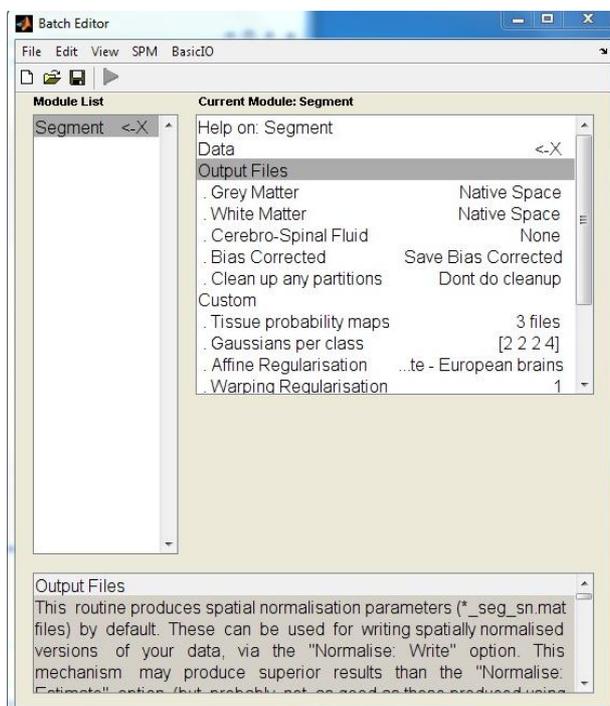


Figura 3.20. *Layout* da segmentação no SPM

Uma vez escolhidos os valores desejados para todos os parâmetros, deve ser pressionada o botão “*run batch*” e o SPM gerará todos os resultados na pasta de trabalho do MatLab

Tabela 3.10. Principais opções a manipular na segmentação no SPM8

<b>Opção</b>	<b>Descrição</b>
<b><i>Data</i></b>	Nesta opção devemos escolher os ficheiros de <i>input</i>
<b><i>Output files</i></b>	Aqui pode-se escolher que tipo de <i>output</i> , que se deseja para a SB, SC e para o CSF. As opções possíveis são “ <i>native</i> ”, “ <i>modulated</i> ” e “ <i>unmodulated</i> ”. O <i>output</i> “ <i>native</i> ” devolve os resultados da segmentação no mesmo espaço que a imagem de <i>input</i> . A opção “ <i>modulated</i> ” permite compensar o efeito da normalização espacial (diferenças volumétricas como resultado da distorção de uma imagem de forma a coincidir com o <i>template</i> ). Por fim, a opção “ <i>unmodulated</i> ” utiliza um tipo de procedimento de suavização que tenta corrigir os dados projetados, com piores resultados que a opção “ <i>modulated</i> ”
<b><i>Bias corrected</i></b>	Esta opção permite guardar a imagem com correção do <i>bias</i> .
<b><i>Tissue probability maps</i></b>	Aqui podem-se alterar as imagens para se utilizar como mapas de probabilidade prior para o algoritmo de segmentação
<b><i>Gaussians per class</i></b>	Número de gaussianos utilizados por classe. Os valores típicos são 2 para a SC, 2 para a SB, 2 para o CSF e 4 para o restante. Estes valores não costumam ser alterados.
<b><i>Affine regularization</i></b>	Altera-se o espaço <i>standard</i> para o registo do <i>input</i>

A primeira coisa a reter sobre a segmentação dos tecidos utilizando o SPM é que, devem ser utilizadas imagens T1 corretamente orientadas com os mapas de probabilidade disponíveis no SPM, caso contrário os resultados no *output* serão bastante invulgares. Deste modo, inicialmente foi necessário utilizar a opção “*checkreg*”, existente na interface principal do SPM, para verificar se as imagens estavam corretamente orientadas. No caso de as imagens estarem com a orientação incorreta, esta deve ser corrigida utilizando a mesma ferramenta.

Com as imagens corretamente orientadas, utilizando a opção *“Data”*, existente na interface de segmentação do SPM, é possível escolher as imagens para segmentar. Estas imagens devem estar num formato validado pelo SPM (i. e., NiftI).

Na interface de segmentação do SPM estão disponíveis as mais diversas opções. Uma delas, designada por *“Bias corrected”*, permite corrigir automaticamente o campo de *bias* através da imagem, contudo o ato de guardar a imagem corrigida é arbitrário. Existe também uma opção para otimizar a extração do cérebro que corresponde a *“Clean up any partitions”*, esta encontra-se desligada por padrão e recomenda-se que se mantenha assim, pois quando utilizada pode cortar algumas partes do cérebro.

Existem três classes para a classificação dos tecidos SC, SB e CSF e três opções: *Native space*, *Unmodulated normalized* e *Modulated normalized*. A opção *“Native Space”* irá classificar as três classes de tecidos em imagens que estarão alinhadas com a imagem T1 original. A segunda opção é a *“Unmodulated Normalized”*, cuja diferença, quando comparada com as imagens do *“Native space”*, é que as imagens da primeira estão espacialmente normalizadas e alinhadas com os mapas de probabilidade em vez de estarem alinhadas com a imagem original, mas a direção e o tamanho dos *vóxeis* estarão alterados. Como mencionado, a normalização irá realinhar as imagens com mapas de probabilidade e alterará a orientação dos tamanhos de *vóxel*, assim os volumes nas imagens segmentadas estarão alterados, de forma a ultrapassar este problema pode-se utilizar a opção *“Modulated Normalized”*. No presente trabalho foi utilizada a opção *“Native Space”* para os tecidos segmentados.

Para otimizar os resultados da segmentação devem ser utilizadas as opções *“Custom”*. A primeira opção na lista é *“Tissue probability maps”* e como mencionado anteriormente, o SPM utiliza versões modificadas dos Atlas de probabilidade dos tecidos do ICBM que compreendem SB, SC e CSF com resolução de 2mm. No trabalho foi escolhido um *template* para cérebros europeus (*ICBM space template - European brains*).

Ainda no que se refere às opções disponíveis em “*Custom*”, é possível mudar o número de gaussianos por classe. Isto significa que é melhor utilizar mais que um gaussiano para representar a distribuição de intensidades de mais que uma classe de tecidos. Assim, teoricamente, atribuindo apenas um gaussiano por classe deve diminuir a precisão da segmentação. Os valores utilizados para a SB, SC e CSF foram de dois e para os restantes foram de quatro.

A opção “*Affine Regularization*” levará a uma segmentação mais robusta devido ao registo linear de imagens nos mapas de probabilidade dos tecidos cujo valor padrão foi respeitado e corresponde a 1. Já a opção “*Bias Regularization*” permitirá alterar a intensidade de estimação do campo de *bias*. É recomendado aumentar este valor para imagens com o campo de *bias* muito corrompido, pois se a intensidade nas imagens é muito suavizada, a ferramenta de segmentação necessitará de um *cutoff* elevado para FWHM da suavização gaussiana do *bias*, ou seja, apesar das pequenas variações nos níveis de intensidade para diferentes tipos de tecidos o algoritmo será capaz de os classificar.

A “*Sampling Distance*” é um *array* de 1-1 que especifica a distância relativa entre duas amostras de *vóxeis* consecutivas. É óbvio que escolhendo uma distância entre amostras pequenas serão utilizados mais pontos de dados no processo de segmentação. Este valor não foi alterado.

A ferramenta de segmentação SPM8 tem a opção “*Masking Image*” para mascarar a segmentação e evitar *vóxeis* em branco sem qualquer tipo de dados no *output*. Contudo, é importante utilizar a imagem com a mesma orientação e tamanho de *vóxel* das imagens que serão segmentadas. No presente trabalho não foi utilizada nenhuma máscara.

Na *Figura 3.21* encontram-se ilustrados os resultados do processo de segmentação em SB, SC e CSF.

#### QUANTIFICAÇÃO DE VOLUMES

A quantificação dos valores globais de volumes pode ser efetuada de diversas maneiras por exemplo, a obtenção do volume total de SC pode ser obtida somando os valores numa imagem “\*c1” e multiplicando pelo volume de cada *vóxel*. Do

mesmo modo, o volume cerebral total pode ser obtido somando a SC com a SB e o volume intracraniano pode ser obtido adicionando a SC com o SB e CSF. No entanto, o SPM não apresenta ferramentas capazes de processarem estes dados como tal, foi necessário recorrer ao MatLab e obter os resultados através do seguinte código:

---

```
P=spm_select(Inf,'nifti','Select files');  
volumes=zeros(size(P,1),1);  
for i=1:size(P,1),  
Nii=nifti(deblank(P(i,:)));  
X=Nii.dat(:,:,:,,:);  
vvol=abs(det(Nii.mat(1:3,1:3)));  
volumes(i)=sum(X(isfinite(X)))*vvol;  
end
```

---

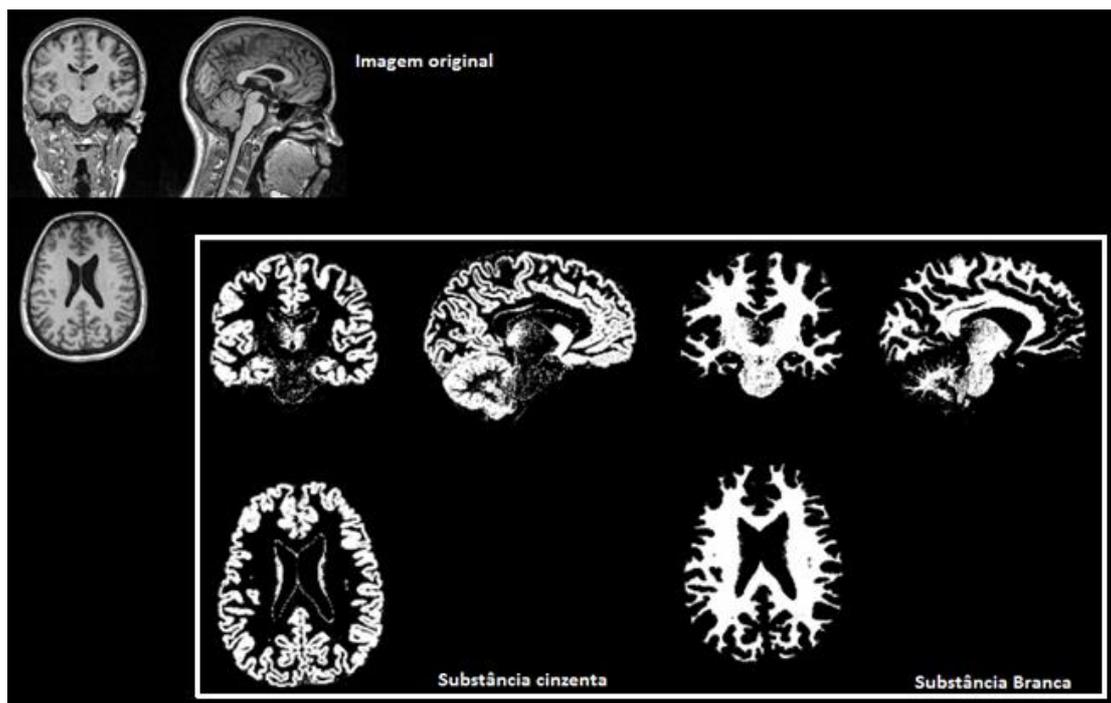


Figura 3.21. Resultado da segmentação cortical utilizando o SPM

## CAPÍTULO 4

# ANÁLISE FUNCIONAL

---

### *Ideias chave:*

- A RMf permite a criação de mapas funcionais da atividade neuronal por medições indiretas da resposta hemodinâmica cerebral;
- Não existe padronização nos métodos e nas aplicações utilizadas em análise funcional;
- Às aplicações SPM, FSL e BrainVoyager foram aplicados casos de estudo com o objetivo de analisar a performance das três aplicações;
- O fluxo de processamento utilizado inclui um conjunto de etapas de pré-processamento, análises individuais, análise de grupo e de aferição de resultados.

Os métodos de imagem funcional definem variações na dinâmica cerebral com séries temporais que refletem as atividades cognitivas, sensoriais e motoras (Jezzard, et al., 2001). Desta forma, técnicas como RMf são preponderantes e amplamente utilizadas em neuroimagem.

A técnica de RMf permite a visualização de alterações intrínsecas no fluxo sanguíneo utilizando a RM. Nos últimos tempos, tem-se afirmado como sendo a ferramenta mais indicada para o estudo do fluxo sanguíneo e perfusão cerebral. Conseqüentemente, os grupos de investigação e a literatura relacionada com RMf foram-se multiplicando e atualmente, de entre as várias modalidades emergente de RM, a RMf tem-se implementado como um novo e excitante método que, entre outros fins, permite determinar que partes do cérebro estão envolvidas em determinadas tarefas ou seja, permite a produção de mapas funcionais das operações mentais pois, as mudanças na atividade neuronal são acompanhadas por

alterações focais no fluxo sanguíneo cerebral, volume do sangue, oxigenação do sangue, e metabolismo (Bandettini, 2007).

De salientar que a tecnologia e a metodologia utilizadas em RMf tem evoluído imenso, já que a fisiologia do sinal de RM é agora melhor compreendida e foram surgindo diversas aplicações inovadoras e avanços tecnológicos, tais como: aumento da força do campo magnético, técnicas de imagem paralela e imagens de alta resolução (Bandettini, 2007).

Generalizando, a RMf é uma técnica capaz de monitorizar indiretamente a função cerebral pois, baseando-se na RM, relaciona a resposta hemodinâmica da atividade neuronal com a realização de determinadas tarefas (Lynei, 2006).

#### **4.1. A IMAGEM DE RMf**

Na técnica de RMf as imagens são repetidamente adquiridas em todo o cérebro. Inicialmente é adquirida um volume estrutural de alta resolução onde serão sobrepostos os resultados funcionais (Giacomantone, 2005).

A sequência de aquisição de imagens mais utilizada na detecção da evolução temporal do contraste BOLD é do tipo EPI (do inglês, *Echo Planar Imaging*), que permite adquirir imagens da mesma região cerebral em intervalos de tempo na ordem de algumas dezenas de milissegundos, designados por Tempo de Repetição (TR). Neste tipo de sequência, o cérebro é dividido em cortes fixos que são adquiridos ao longo do tempo e cujo conjunto compõe um volume. A evolução temporal do brilho de um voxel de um corte ao longo do tempo é proporcional à evolução temporal do contraste BOLD e denomina-se função de resposta hemodinâmica (Pastorello, 2011).

Durante a aquisição dos dados o indivíduo é submetido a uma determinada tarefa ou estímulo intercalados com períodos de repouso. São adquiridas duas sequências de imagens rápidas, capazes de detetar alterações de contraste devido à ativação de determinada região, uma durante a tarefa e outra durante o repouso que são, depois, subtraídas permitindo assim a visualização das regiões ativas do cérebro. Contudo o resultado tem bastante ruído devido à baixa sensibilidade do método

(Suetens, 2009). A diferença do sinal de RM entre o descanso e a atividade é muito baixa quando comparada com a intensidade local da imagem (2 – 5%) daí que, contrariamente à técnica de RM convencional não seja passível a observação direta dos dados funcionais durante o exame (Giacomantone, 2005) (Suetens, 2009).

Para aumentar a relação sinal-ruído (*Signal-to-noise ratio* – SNR) os períodos de ativação vão alternando com os períodos de repouso (30 segundos cada), e durante um exame (de 6 minutos, por exemplo) as imagens são adquiridas a todos os 2-10 segundos (Suetens, 2009). Depois dá-se o processamento estatístico do conjunto de dados para ver as ativações significativas, ou seja, inicia-se a terceira etapa, o processamento.

Atualmente, a combinação da técnica de RMf com EPI, permite a aquisição de 20 ou mais cortes contínuos de cérebro cobrindo o cérebro inteiro (3x3mm no plano e 5mm de espessura do corte) todos os 3 segundos com uma duração total de alguns minutos (Góis, 2007). Os benefícios da imagem do cérebro inteiro são variados, pois os investigadores conseguem identificar e testar as suas hipóteses nos centros de ativação já conhecidos como também, podem encontrar sítios previamente desconhecidos e inesperados.

### EFEITO BOLD

Como referido, a técnica de RMf mais utilizada é chamada de método BOLD que se baseia no facto de a diferença entre as propriedades magnéticas de oxigenação e desoxigenação do sangue estarem diretamente relacionadas com a atividade neuronal.

Assim, quando a atividade neuronal numa parte do cérebro aumenta, os neurónios ativos começam a consumir, aumentando a quantidade de oxigénio. Desde que o fornecimento de oxigénio esteja regulado será transportado, através do sangue, mais oxigénio para a região ativa do cérebro. No entanto, o oxigénio transportado será em excesso e depois de um pequeno período de tempo, o nível de oxigenação nos capilares próximos do neurónio ativo será, portanto, mais elevado que o normal afetando, assim, o relaxamento de T2\* o que implica uma diminuição da heterogeneidade do campo magnético local (Faro & Mohamed, 2006). Estes eventos

que iniciam com o aumento da atividade elétrica e modulam a resposta neurovascular alteram o sinal de RM no tempo e produzem a chamada função de resposta hemodinâmica.

Através da aquisição de imagens ponderadas por  $T2^*$ , ou seja, imagens onde os valores dos vóxeis refletem as taxas de relaxamento local de  $T2^*$ , é possível a distinção entre as regiões ativas e as inativas.

A Função de Resposta Hemodinâmica (FRH) é apresentada na *Figura 4.1* para um vóxel localizado na área motora do cérebro. Podemos considerar sete fases distintas nesta curva que são generalizadas para qualquer área do cérebro, ou seja, durante a ativação neuronal, pode ocorrer um aumento na concentração de *desoxi-hemoglobina*, o que implica a queda inicial na FRH (*fase 2*). De seguida, o aumento na relação *oxi/desoxi-hemoglobina* leva a um aumento significativo no sinal BOLD (*fase 3*) até se atingir um pico no sinal BOLD (*fase 4*), este pico mantém-se durante o tempo que o estímulo é aplicado. Depois do estímulo terminar, o sinal retorna à linha de base (*fase 7*), podendo apresentar uma queda posterior (*fase 6*) que deriva de uma demora na normalização do volume sanguíneo regional em relação ao fluxo sanguíneo (Mazzola, 2009).

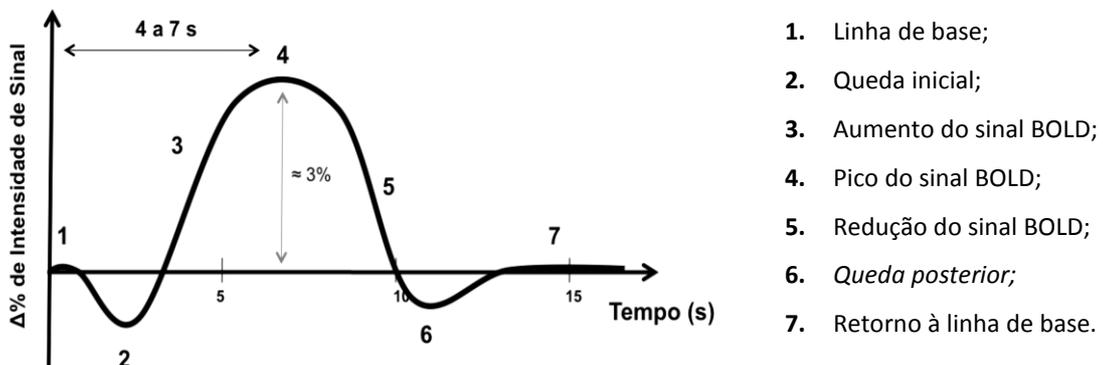


Figura 4.1. Função de resposta hemodinâmica (FRH) com divisão em sete fases. Adaptado de (Mazzola, 2009)

Contudo, a diferença entre uma imagem adquirida durante o repouso e uma imagem adquirida durante uma pequena atividade é muito pequena logo, acedendo somente a estas imagens torna-se difícil a determinação das regiões ativas.

## 4.2. MAPEAMENTO FUNCIONAL

A RMf permite a obtenção de mapas funcionais do cérebro. Estes mapas podem ser obtidos recorrendo a imagens anatómicas e funcionais e requer um esquema de processamento, tal como e ilustrado na *Figura 4.2*, constituído por:

- Aquisição de imagens anatómicas e funcionais;
- Etapas de pré-processamento, tais como: correção de movimentos, co-registo, normalização, suavização, entre outras;
- Testes estatísticos individuais e de grupo.

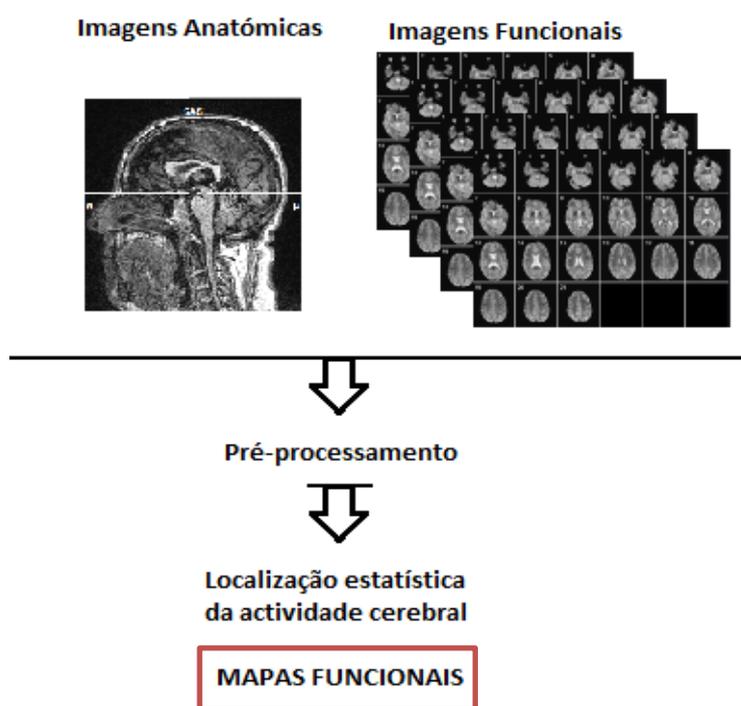


Figura 4.2. Esquema dos procedimentos gerais para a obtenção de mapas funcionais do cérebro humano

### 4.2.1. PARADIGMAS DE ESTIMULAÇÃO

Como referido, para determinar quais as regiões ativas do cérebro, são necessárias mais do que duas imagens de estados diferentes. A solução passa, então, por adquirir uma sequência de imagens, normalmente entre 100 e 200 durante um período de 5 a 10 minutos, enquanto o paciente ou o sujeito a ser estudado altera entre estados de repouso e atividade.

O padrão de repouso e atividade é referido como sendo o paradigma da experiência. Nos casos mais simples são utilizados períodos de descanso e atividade iguais e o mesmo é designado por paradigma de bloco.

Nos paradigmas em bloco, o sinal é adquirido durante uma série de blocos cuja duração varia entre 16 segundos e 1 minuto envolvendo diferentes condições e permitindo a medição de diferenças nos níveis médios do sinal BOLD entre os dois ou mais estados. Assim, as regiões que apresentam alteração de atividade entre diferentes condições podem ser identificadas com elevada significância estatística (Filippi, 2009).

Neste tipo de paradigma, enquanto as imagens funcionais estão a ser adquiridas é aplicado um paradigma experimental que altera a apresentação de imagens dinâmicas com imagens estáticas (estímulos fixos), tal como o apresentado no lado esquerdo (A) da *Figura 4.3*. Este processo é repetido até se obter o número suficiente de imagens.

Para algumas tarefas, no entanto, pode ser impossível projetar um paradigma de bloco. Isto ocorre quando, a condição de atividade não pode ser facilmente controlada, ou não abrange um período de tempo suficientemente longo (e. g., responder a uma pergunta, reação um estímulo instantâneo). Nestes casos, são utilizados paradigmas de eventos, ilustrado no lado direito (B) da *Figura 4.3*, cuja condição de atividade pode aparecer como picos instantâneos ou como períodos de comprimento variável. Estes paradigmas diferem dos anteriores pois medem alterações transitórias do sinal induzidas por uma série de estímulos rápidos com cerca de 2 segundos, os eventos.

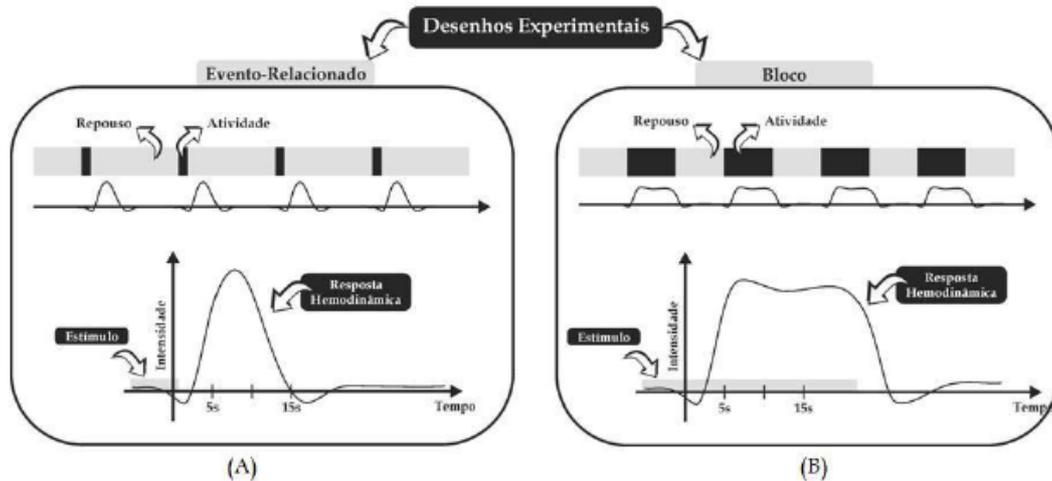


Figura 4.3. Esquema exemplificativo de um paradigma em blocos (A) e de um paradigma baseado em eventos (B). Adaptado de (Pastorello, 2011).

Desconsiderando o ruído, a intensidade de séries temporais de um vóxel numa região ativa varia de acordo com o paradigma, e a resposta ao paradigma ativado corresponde ao sinal de BOLD. Através da procura de *vóxeis* cujas séries temporais se aproximam dos paradigmas, podem-se detetar as regiões do cérebro que foram ativadas.

Ambos os paradigmas podem ser utilizados em conjunto, permitindo a análise de atividade transitória e prolongada no processamento cognitivo, bem como qualquer possível interação entre si (Barker & Amaro, 2006).

É ainda necessário ter em consideração alguns aspetos, principalmente quando se pretende fazer comparações entre sujeitos. O tamanho do cérebro deve ser compensado, bem como a forma e as diferenças posicionais (Poldrack, et al., 2011). Além disso, deve-se também ter em atenção a forma como o paradigma é executado para garantir que a ativação verificada se deve exclusivamente aos efeitos da execução da tarefa. Para esta situação, são feitos muitos conjuntos de teste na ausência e com presença de estímulos. O cálculo do coeficiente de correlação da intensidade dos *vóxeis* e a variação do estímulo ao longo do tempo permitem determinar a dependência entre a resposta e o estímulo. Também se deve definir um limite de significância abaixo do qual as diferenças não são consideradas relevantes. Este limite tem que ser cuidadosamente definido uma vez que as diferenças de intensidade dos píxeis das imagens (na presença e ausência de

estímulo) são tipicamente inferiores a 5%. Quanto maior for o campo magnético utilizado, maiores são as diferenças verificadas (Poldrack, et al., 2011).

#### **4.2.2. ETAPAS DE PRÉ-PROCESSAMENTO**

Num estudo de RMf é feita a aquisição de uma ou várias séries temporais de dados funcionais, captados durante a realização de paradigmas e também é necessária a aquisição de dados anatómicos que abranjam as regiões de interesse servindo como referência para a visualização das áreas ativas. Após esta aquisição é feita a localização e caracterização das regiões cerebrais que foram ativadas durante a realização do paradigma. Para tal são necessárias várias etapas de pré-processamento das imagens (funcionais e estruturais) uma vez que todo este processo está sujeito à influência de artefactos que podem influenciar a qualidade das imagens obtidas.

Generalizando, para que os resultados da aquisição possam ser avaliados é necessário um pré-processamento das imagens adquiridas de forma a reduzir os artefactos existentes.

As etapas de pré-processamento variam substancialmente entre os diferentes pacotes de *software* disponíveis e os diferentes grupos de investigação, mas existem um conjunto de métodos padrão que são quase sempre aplicados. Após cada etapa de pré-processamento devem ser analisados alguns parâmetros de qualidade que correspondem às imagens resultantes de cada etapa (Poldrack, et al., 2011). Na *Figura 4.4* é apresentado um esquema de pré-processamento padrão (sem ordem fixa) com as respetivas etapas de controlo de qualidade, que será descrito em detalhe posteriormente.

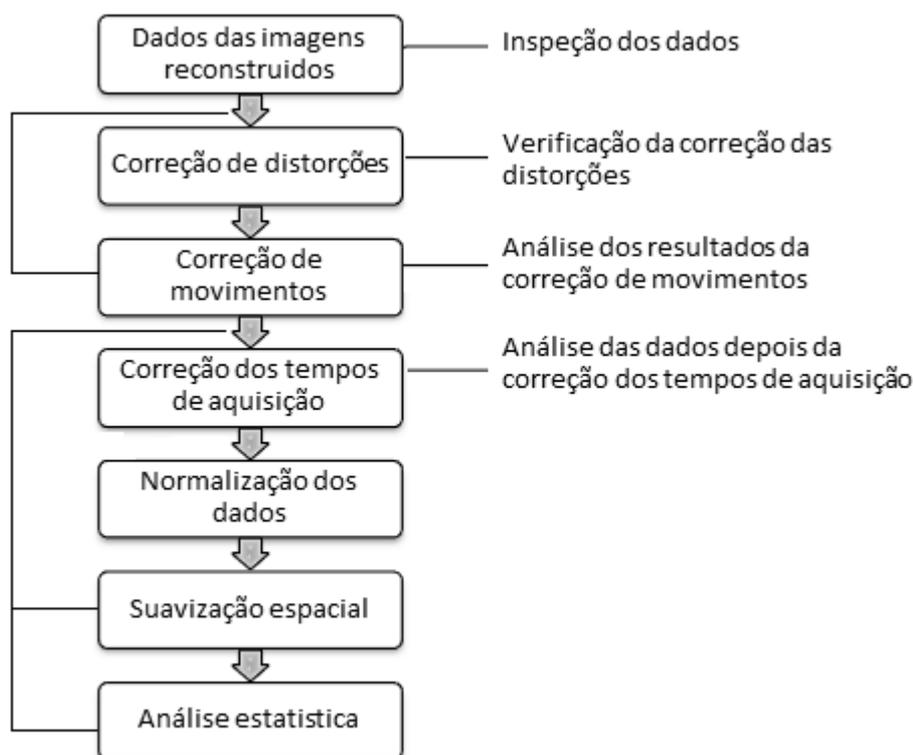


Figura 4.4. Etapas padrão para pré-processamento de dados de RMf. Adaptado de (Poldrack, et al., 2011)

- **Conversões de formato** – a maioria das aplicações para análise funcional utilizam o formato NIfTI/Analyze, pelo que as imagens têm que ser convertidas do formato original DICOM ou outro consoante o equipamento de aquisição de RMf;
- **Verificação dos dados e correção de distorções** – é essencial que especialistas analisem as imagens de RMf a ser processadas procurando erros;
- **Correção de movimentos** – num estudo de RMf o cérebro deve estar sempre na mesma posição para que as regiões cerebrais possam ser corretamente estudadas ao longo dos diferentes volumes. Como o sujeito nunca permanecerá totalmente imóvel ao longo de todo o exame esta correção é essencial. Depois desta etapa é preponderante a verificação da qualidade dos dados obtidos;
- **Correção dos tempos de aquisição** – como cada corte que constitui um volume cerebral é adquirido num instante de tempo diferente torna-se necessário, principalmente quando se trata de aquisições com paradigmas de

eventos relacionados, que as diferenças nos tempos de aquisição sejam compensadas.

- **Normalização** – a normalização é necessária de forma a diminuir a variabilidade que a existência de diferentes formas e orientações de cérebros dos sujeitos possa introduzir numa análise intersujeitos;
- **Suavização** – esta etapa é aplicada com o objetivo de diminuir diferenças anatómicas residuais intersujeitos, é aplicando normalmente um filtro FWHM (do inglês *full-width-half-maximum*);
- **Análise estatística** – de forma a obter mapas funcionais é necessário a análise estatística das ativações obtidas.

### 4.3. MÉTODOS DE ANÁLISE ESTATÍSTICA

De forma a caracterizar as zonas de ativação cerebrais é necessário proceder a uma análise estatística dos dados de RMf. Esta análise permite determinar que vóxeis são estatisticamente significativos, pois estes sugerem uma elevada probabilidade de resultarem da resposta ao estímulo aplicado. Logo, o principal objetivo da análise estatística é detetar que vóxeis foram ativados durante o processo de estimulação indicando o nível de significância estatística, o que facilita a interpretação dos dados.

De entre os modelos de análise estatística, identificam-se três métodos que merecem maior destaque:

- **Análise de Componentes Independentes** - permite a exploração de padrões estatisticamente relevantes ao longo de todo o cérebro sem a exigência de definir intervalos de tempo “à priori”;
- **Análise de Correlação** - que estabelece conexões funcionais relacionando séries temporais de repouso de uma determinada ROI com as séries temporais de cada vóxel cerebral;
- **Modelo Linear Geral (GLM)** – teste paramétrico cuja hipótese diz respeito a um ou mais parâmetros de uma distribuição de dados conhecidos. Este teste será descrito na *Secção 4.3.1* com maior detalhe pois é o modelo utilizado no trabalho efetuado.

A maioria dos testes estatísticos utilizados em RMf possui alguns pontos em comum:

- Expressam a significância como sendo a probabilidade do resultado ocorrer sobre a hipótese nula (no caso da técnica de RMf, a hipótese nula é o caso em que a diferença entre as condições não possui efeito nos dados de RMf);
- São utilizados mapas coloridos para expressar a significância;
- Os vóxeis cujo nível de probabilidade está abaixo de um limiar estatístico, conhecido como valor *alfa*, são marcados como significativos, enquanto os vóxeis cuja probabilidade está acima do limiar estatístico são marcados como não significativos;
- O valor *alfa* pode originar falsos positivos, isto é, um vóxel pode ser marcado como ativo quando na realidade não é;
- As aproximações são geralmente conservativas, pois muitas vezes podem excluir vóxeis ativos, resultando em falsos negativos, isto é, um determinado vóxel é marcado como inativo, quando na realidade é ativo.

#### 4.3.1. MODELO LINEAR GERAL

O uso da análise estatística GLM, na interpretação de dados de RMf cerebral foi introduzido por *Friston* e seus colaboradores em 1994 (Friston, et al., 1994). Este tipo de análise permite especificar modelos estatísticos avançados que contenham vários preditores (i. e., contrastes ou variáveis explanatórias) através de uma combinação linear composta por vários preditores para prever a variação de determinada variável (Goebel, 2012).

A palavra “*linear*” deve-se ao facto de se pretender prever o comportamento temporal através de uma combinação linear dos preditores e é um modelo “*geral*” porque permite a implementação de qualquer teste estatístico paramétrico com uma variável dependente, incluindo a análise de variância (ANOVA), análise de covariância (ANCOVA) e *One-Sample T-test*.

Este método linear utiliza a sessão experimental como uma única série temporal e compara-a a uma série temporal preditora composta por várias respostas hemodinâmicas individuais (Goebel, 2012). A equação para o modelo é dada por:

$$y(t) = y'(t) + e(t) = b_0 + b_1x_1(t) + b_2x_2(t) + \dots + b_NX_N(t) + \varepsilon(t) \quad \text{Equação 4.1}$$

- $y$  denota o sinal observado ao longo do tempo;

- $x_i$  denota as variáveis explicativas;
- $b_i$  denota os valores da regressão (ou parâmetros de peso  $\beta$ ) que indicam quanto cada factor contribui para os dados absolutos;
- $\varepsilon(t)$  denota um termo de erro para o desvio não explicado do cálculo de  $y'(t)$  do sinal medido  $y(t)$  para cada elemento temporal ( $t$ );
- $b_0$  denota a contribuição de todos os fatores constantes ao longo do processo (valores brutos de T2\* gravados num determinado voxel na ausência de ativação BOLD, por exemplo);

A análise GLM é executada de forma independente para a série temporal de cada voxel. O resultado da análise GLM de uma série temporal de um voxel são as estimativas para os pesos da regressão  $b_i$ , de tal modo que os valores preditivos,  $y'(t)$ , estejam o mais próximo possível dos valores medidos  $y(t)$  para cada valor de tempo ( $t$ ) (Goebel, 2012). Uma vez que normalmente existem muito menos preditores do que elementos de tempo ( $t$ ), esta previsão não é exata, a não ser que o sinal possua um valor constante ao longo do tempo. Como tal existe um valor de erro, positivo ou negativo para cada valor de  $t$  designado por erro residual, apresentado na *Equação 4.2* (Goebel, 2012).

$$\varepsilon(t) = y(t) - y'(t) \tag{Equação 4.2}$$

O modelo GLM pode ser descrito na forma matricial (*Equação 4.3*). Os dados experimentais são representados por uma matriz bidimensional constituída por pontos temporais ( $n$ ) e voxéis ( $V$ ). Os valores da regressão e o termo de erro são calculados independentemente. Os voxéis organizam-se ao longo de uma dimensão de modo a simplificar os cálculos. A matriz de *design* especifica o GLM a ser estimado. A matriz dos coeficientes contém  $k$  linhas, de tal forma que cada elemento indica a amplitude de um preditor. O termo de erro é um vetor com  $n$  linhas (Góis, 2007).

$$\begin{bmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & X_{11} & \dots & \dots & \dots & X_{1K} \\ \vdots & \vdots & & & \ddots & \\ \vdots & \vdots & & & \ddots & \\ \vdots & \vdots & & & \ddots & \\ 1 & X_{n1} & \dots & \dots & \dots & X_{nK} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} b_0 \\ \vdots \\ b_K \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} e_1 \\ \vdots \\ e_n \end{bmatrix} \tag{Equação 4.3}$$

Ou na notação matricial:

$$Y = Xb + \varepsilon \tag{Equação 4.4}$$

Nesta última notação, o sinal de RMf observado é dado pela *Equação 4.4*; o sinal de RMf previsto é  $\hat{y} = Xb$  e o erro de previsão é dado por  $e = y - \hat{y}$ .

Após ter sido estabelecido o GLM para uma determinada condição, calculam-se quais as combinações dos coeficientes (pesos  $\beta$ ) que, quando multiplicados pela matriz *design* retribuem o menor termo de erro. Este passo é esquematizado na *Figura 4.5*.

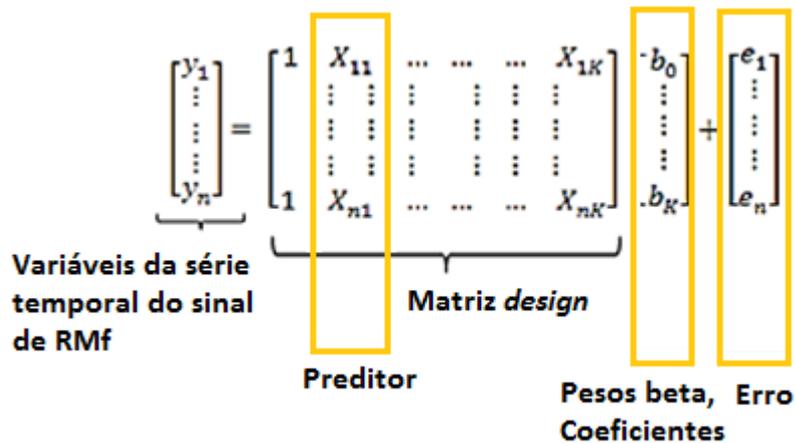


Figura 4.5. Esquema exemplificativo de uma análise de GLM

Para entender este processo, considere-se uma sessão de RMf simples, em que um indivíduo observa sequencialmente uma imagem estática que alterna com uma imagem dinâmica a cada 20 segundos durante a aquisição de imagens. Supondo que os dados são adquiridos em 100 segundos ter-se-á o protocolo da *Figura 4.6*.

	IE	IM	IE	IM	IE	
0	20	40	60	80	100	segundos

Figura 4.6. Protocolo estimulação auxiliar à análise GLM. A zona IE corresponde ao intervalo de tempo em que o sujeito observa uma imagem estática. A zona IM corresponde à apresentação de uma imagem dinâmica. Adaptado de (Góis, 2007).

Se for considerado um vóxel que responde ao movimento, durante este processo esse vóxel deverá mostrar duas respostas hemodinâmicas distintas, uma para cada imagem dinâmica. A análise GLM avalia de que modo essa hipotética série temporal contribui para os dados reais, comparando a variabilidade fora do modelo. Na *Figura 4.7*, é apresentado um esquema como a forma da matriz GLM. São definidos dois preditores  $X_1$  e  $X_2$ . O preditor  $X_0$ , constante, serve para estabelecer a linha de base do sinal. As séries temporais esperadas são obtidas pela convolução dos preditores com a HRF.

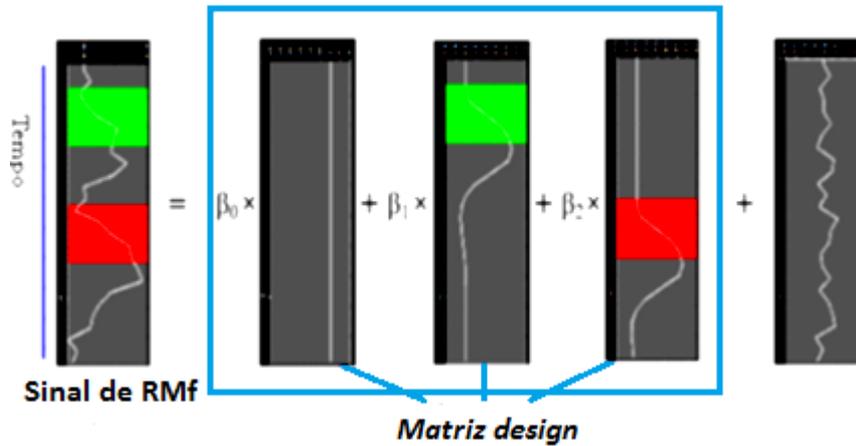


Figura 4.7. Esquema das séries temporais do sinal, preditores e erro para um vóxel que responde ao movimento. Adaptado de (Goebel, 2012).

#### 4.3.2. RESULTADOS ESTATÍSTICOS

Numa análise estatística de dados de RMf, cada vóxel apresenta um valor estatístico de  $t$  e conseqüentemente apresenta um valor de probabilidade denominado por valor de  $p$ <sup>iv</sup>. Valores de  $t$  elevados correspondem a vóxeis muito bem ajustados pelo modelo proposto. O valor de  $t$  é calculado considerando que todos os vóxeis são ruído. Surge a necessidade de determinar um valor crítico ( $t^*$ ) que permite separar os vóxeis considerados como ruído daqueles considerados sinal. Quando o valor crítico é maior ou igual ao valor de  $t$  calculado para um determinado vóxel, a hipótese nula é rejeitada e o vóxel é considerado sinal, caso contrário o vóxel é considerado ruído (Pastorello, 2011). No entanto a determinação deste valor crítico implica erros, tais como falsos positivos (um vóxel é considerado sinal e na realidade é ruído – erro do tipo I) ou falsos negativos (um vóxel é considerado ruído e na realidade é sinal – erro do tipo II) (Poldrack, et al., 2011).

A probabilidade de cometer um erro do tipo I é chamada nível de significância ( $\alpha$ ) e determinar a taxa de falsos positivos que podem ser aceites na análise a efetuar. Quando se estipular um  $\alpha = 0.05$ , então em cada 100 vóxeis considerados, cinco deles serão na realidade ruído.

<sup>iv</sup> Estatística utilizada para sintetizar o resultado de um teste de hipóteses. Definido como a probabilidade de se obter uma estatística de teste igual ou mais extrema quanto aquela observada numa amostra, assumindo verdadeira a hipótese nula.

Os mapas estatísticos obtidos nas análises de RMf são apresentados como mapas coloridos baseados no valor de  $p$ . Deste modo, são apresentados os vóxeis cujo valor de  $p$  é inferior a um determinado limiar. Nestes mapas coloridos é normalmente utilizada uma escala de cores quentes para apresentar vóxeis que apresentam uma correlação positiva com o modelo proposto.

Para valores de  $p$  mais próximos do limiar selecionado são utilizadas cores mais próximas do amarelo e para vóxeis cujo valor de  $p$  é mais elevado são atribuídas cores mais próximas do vermelho.

#### **4.3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA DE GRUPOS**

Os estudos de RMf centram-se maioritariamente na análise de vários sujeitos. Este tipo de análise pressupõe que todos os sujeitos estejam normalizados para o mesmo espaço estereotáxico, e são utilizadas duas abordagens: análise de efeito fixo (*fixed-effects analysis* - FFX) e análise de efeitos aleatórios (*random-effects analysis* – RFX) (Friston, et al., 2007).

A FFX considera que o efeito testado no teste de hipótese é fixo para todos os indivíduos. Os resultados obtidos neste tipo de teste apenas têm em conta a variabilidade intrasujeito e não podem ser extrapolados para a população.

Já o RFX considera que o efeito testado é variável ao longo dos indivíduos e assim, leva em consideração a variabilidade entre sujeitos e pode ser estendido à população.

#### **4.4. APLICAÇÕES INFORMÁTICAS PARA ANÁLISE FUNCIONAL**

Como demonstrado a RMf é uma técnica bastante complexa e conseqüentemente, foram desenvolvidas diversas ferramentas capazes de efetuar um estudo funcional cerebral. Algumas destas aplicações são apresentadas na *Tabela A.2 do Apêndice A*.

Tendo em conta o objetivo do trabalho efetuado foi necessário selecionar três aplicações capazes de manipular dados de RMf e obter mapas e dados estatísticos das ativações cerebrais.

A escolha do *software* a estudar centrou-se na definição de alguns critérios de inclusão, nomeadamente:

- Compatibilidade com os Sistemas Operativos Windows 7 de 64 *bits* e Ubuntu 11.10;
- Existência de documentação *online*;
- Divulgação na literatura relacionada com análises de RMf.

De entre as diversas aplicações disponíveis foram selecionadas três: SPM8, FSL 5.0 e BrainVoyager QX V 2.0, que serão referidas com maior detalhe posteriormente. Estas aplicações apresentam uma taxa de utilização bastante elevada, pois são bastante divulgadas na literatura.

#### **4.4.1. FSL - FEAT**

O FSL apresenta uma ferramenta de análise de dados de RMf que se designa por FEAT. O FEAT permite efetuar pré-processamento de dados funcionais (e. g., correção de movimentos, correção dos tempos de aquisição); efetuar análises intrasujeito de primeiro nível; registo dos dados para o *template* padrão; e análises de grupo utilizando técnicas de estimação *Bayesiana* (FMRIB Centre, 2012).

Esta ferramenta de análise funcional disponibiliza ao utilizador uma interface gráfica de fácil utilização cujo *layout* é apresentado na *Figura 4.8*.

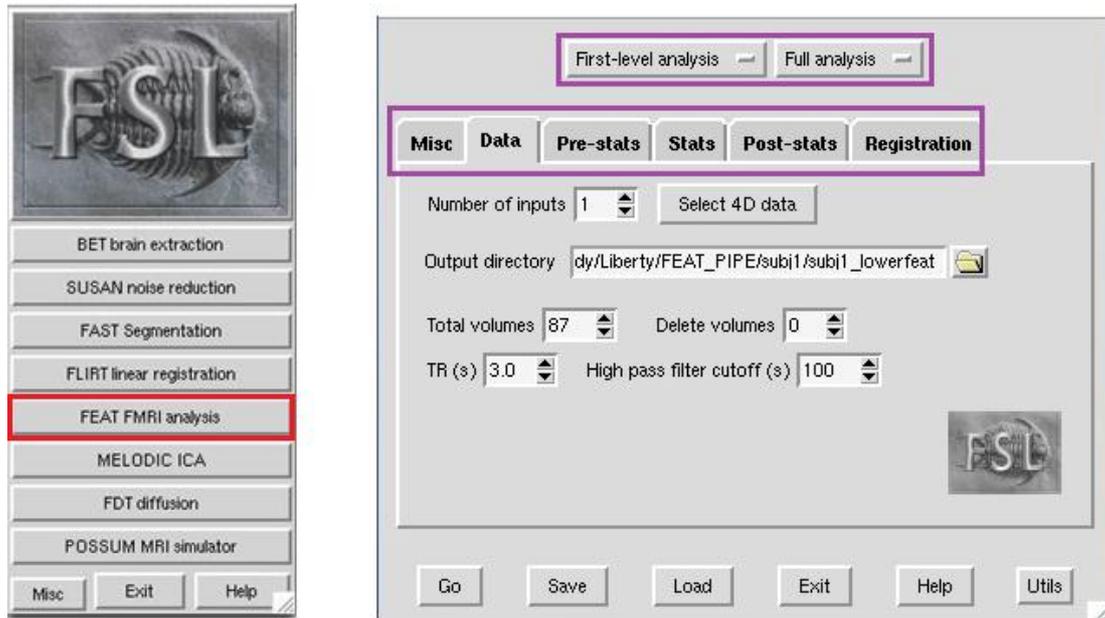


Figura 4.8. Layout da ferramenta FEAT do FSL

Observando a *Figura 4.8*, verifica-se que a interface do FEAT é constituída por seis separadores ou submenus. O separador designado por “Misc” permite ao utilizador decidir sobre algumas características gerais da aplicação, nomeadamente: a existência ou não de mensagens de ajuda *popup*; permite definir o “*brain/background threshold*” que é automaticamente calculado como uma percentagem da intensidade máxima da imagem de entrada, sendo utilizado na normalização de intensidades, geração de máscaras cerebrais e outros aspetos da análise com o FEAT; permite ativar o botão “*Featwatcher*” que permite apresentar ao utilizador o progresso da análise com o FEAT; e o botão “*Overwrite original post-stats results*”, que caso o utilizador esteja a reexecutar alguns passos da análise a ativação deste botão permite reescrever os resultados nos dados originais. O separador “Data” permite selecionar as imagens que vão ser analisadas e verificar algumas das suas propriedades (e. g., TR, número de volumes que constituem a imagem). O submenu denominado “Pre-stats” permite selecionar as etapas de pré-processamento funcional e no separador “Stats” são definidos os protocolos de estimulação utilizados no estudo. No submenu “Post-stats” é definido o tipo de análise estatística que será realizada e por fim em “Registration” são selecionadas as imagens para efetuar o registo que tem como base o módulo FLIRT do FSL.

O FEAT automatiza a maioria das decisões relacionadas com a análise de dados funcionais, permitindo uma análise simplificada (ainda que robusta, eficiente e válida) dos mais simples aos mais sofisticados paradigmas (blocos ou eventos).

O modelo de dados no qual o FEAT se baseia é o GLM, também conhecido como regressão múltipla, que permite descrever o *design* experimental. Mais especificamente, o método GLM utilizado na análise de primeiro nível é designado como FILM (*FMRIB's Improved Linear Model*). O FILM utiliza uma estimação não paramétrica robusta da autocorrelação das séries temporais para pré-escrever cada série temporal dos vóxeis; isto fornece uma eficiência de estimação melhorada quando comparada com métodos que não fazem pré-escrita (FMRIB Centre, 2012).

O *output* do FEAT é caracterizado pela produção de uma página de HTML com um relatório detalhado da análise efetuada com os respetivos parâmetros discriminados. Além disso, o FEAT guarda muitas imagens numa única pasta para cada sessão (e. g., vários dados filtrados, resultados estatísticos e mapas de ativação coloridos), permitindo que os passos da análise possam ser reexecutados sem que toda a análise seja efetuada.

No que se refere à análise de grupos, o FEAT utiliza o FLAME (*FMRIB's Local Analysis of Mixed Effects*) que recorre a um sofisticado método para modelar e estimar os efeitos aleatórios nos componentes dos efeitos aleatórios da variância nas medidas entre sessões, para obter uma estimação precisa dos verdadeiros efeitos da variância aleatória e os graus de liberdade de cada vóxel (Kringelbach, 2003).

#### **4.4.2. BRAINVOYAGER**

O BrainVoyager QX é um *software* comercial para análise e visualização de dados de RMe e RMf cujo *layout* é apresentado na *Figura 4.9*. O programa pode ser executado na maioria dos sistemas operativos disponíveis incluindo Windows, Linux e Mac OS X. Com o objetivo de obter a maior velocidade possível em cada uma das plataformas, o BrainVoyager QX foi programado em C++ com rotinas numéricas, estatísticas e de processamento de imagem otimizadas e eficientes (Goebel, et al., 2006). Esta aplicação fornece uma interface gráfica interativa com elevada

usabilidade em todas as plataformas e as suas funcionalidades podem ser estendidas através de *plugins C/C++* e automatizadas através de *scripts*.

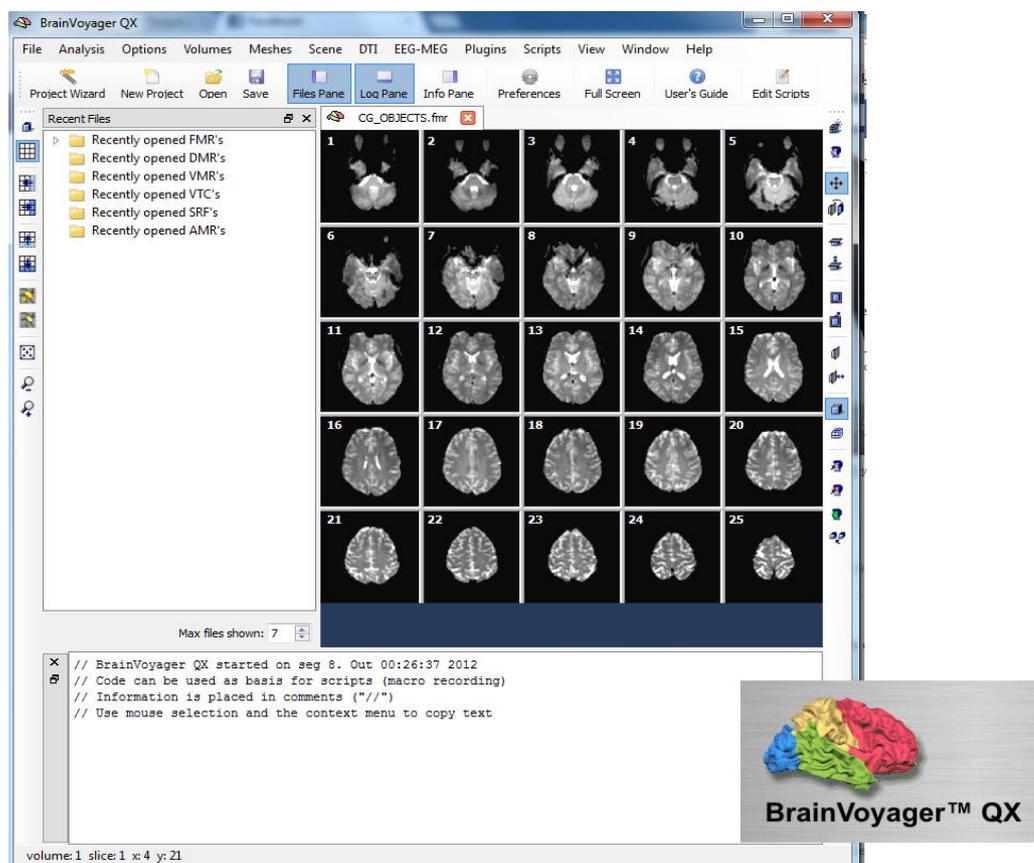


Figura 4.9. *Layout* da aplicação BrainVoyager QX

A aplicação é especialmente indicada para pré-processamento de dados funcionais, análise GLM e visualização dos resultados em reconstruções tridimensionais. Além disso, o *software* inclui análises de séries temporais de RMf dirigidas para hipóteses e dados (Goebel, et al., 2006), vários métodos para corrigir comparações múltiplas, ferramentas para executar análise de ROIs, ferramentas e algoritmos para a segmentação automática do cérebro e para a reconstrução, visualização e *morphing* (inflação, *flattening*, esterificação) da superfície cortical.

Uma característica importante do *software* é que as análises de dados funcionais e anatómicos são altamente integradas e automatizadas, pois, a título de exemplo, cada mapa estatístico pode ser facilmente projetado sobre a reconstrução cortical de uma superfície processada e as informações anatómicas individuais (vóxeis corticais rotulados e padrões corticais individuais, por exemplo) (Goebel, et al., 2006).

### 4.4.3. SPM

O SPM é a aplicação mais utilizada na análise e processamento funcional de neuroimagens. Como o SPM é baseado em MatLab, é possível o acesso às suas rotinas que podem ser lidas pelos utilizadores da aplicação, permitindo que se veja exatamente o que está a ser feito.

Na análise de RMf é utilizado o módulo de “fMRI” que apresenta ferramentas capazes de fazerem o pré-processamento dos dados funcionais, análises GLM, calculo de diversos dados estatísticos individuais e de grupo e uma ferramenta de visualização dos resultados.

O tratamento dos dados funcionais no SPM é efetuado tendo como base as transformações de dados apresentadas na *Figura 4.10*, que serão descritas com maior detalhe na *Secção 4.5*.

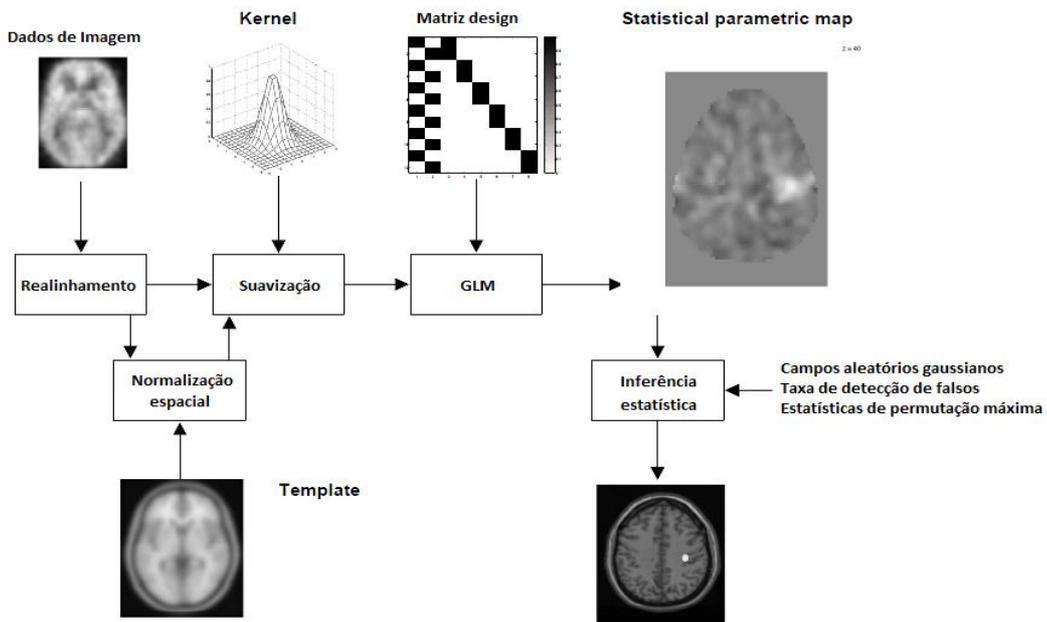


Figura 4.10. Transformações dos dados de RMf no SPM

Na *Figura 4.11*, são apresentadas as principais diferenças no processo de pré-processamento funcional nas aplicações SPM8, FSL 5.0 e BrainVoyager QX tendo em conta os processos de segmentação genéricos.

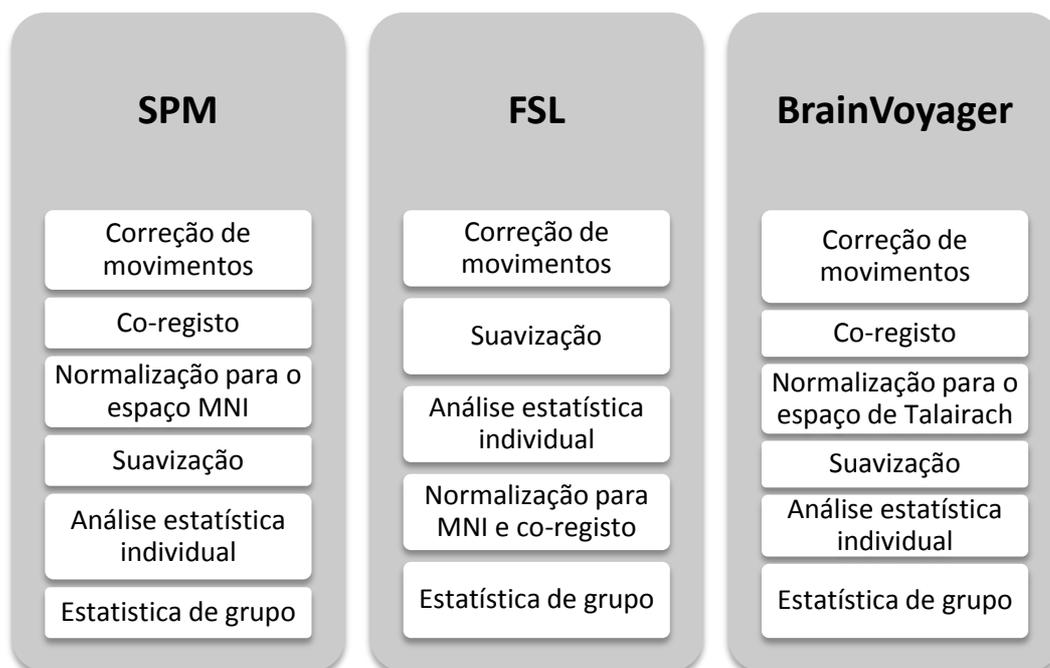


Figura 4.11. Método de análise genérico dos dados de RMf nas aplicações SPM, FSL e BrainVoyager

#### 4.5. METODOLOGIA

Na presente secção, será descrita a metodologia utilizada na análise funcional efetuada nas aplicações seleccionadas anteriormente: SPM8, BrainVoyager QX e FSL 5.0.

Antes de se proceder ao processamento e análises posteriores as imagens foram inspecionadas no sentido de procurar lesões cerebrais ou artefactos que possam influenciar os resultados. As imagens também foram convertidas para o formato NIfTI, pois as aplicações FSL e SPM não aceitam imagens no formato DICOM.

Nas três ferramentas foi aplicado o mesmo fluxo de processamento que se inicia com as etapas de pré-processamento funcional, seguido de duas etapas de processamento: análise de 1º nível (i. e., intrasujeito) e análise de grupos de 2º nível utilizando a análise de efeitos aleatórios (i. e., RFX) e terminando com uma etapa de pós-análise estatística (i. e., inferência) que envolve a escolha do nível de significância ideal para comparar as três aplicações.

Foi referido anteriormente que não existe um consenso relacionado com as etapas de pré-processamento utilizadas na análise de imagens funcional. No presente trabalho foram seleccionadas as etapas:

- **Correção de movimentos** - Com o objetivo de corrigir os movimentos efetuados pelo indivíduo durante a aquisição funcional é efetuada uma etapa de correção de movimentos para cada sujeito. Em todas as aplicações, esta etapa é conseguida alinhando 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 em todos os volumes. Logo, é utilizado o alinhamento rígido (rotações e translações das imagens). O volume de referência pode ser qualquer volume da aquisição, usando-se normalmente o volume médio, inicial ou o final;
- **Co-registo** - A etapa de co-registo (imagem funcional com imagem estrutural) foi aplicada nas aplicações BrainVoyager e SPM logo a seguir à correção de movimentos. No entanto, no FSL, devido a especificidades da aplicação, esta etapa foi aplicada durante a normalização;
- **Normalização** - De forma a ser possível o registo intersujeitos e consequente análise de grupos, a etapa da normalização é essencial. Nas aplicações FSL e SPM as imagens foram normalizadas para o espaço MNI, enquanto no BrainVoyager foi feita a normalização para o espaço de Talairach;
- **Suavização** - Nas análises de grupo é ainda necessário uniformizar as intensidades dos vóxeis na imagem, como tal a suavização é imprescindível. A suavização aumenta a sensibilidade fazendo a média do ruído não relacionado entre vóxeis, reduz a resolução espacial e espalhada o sinal em pequenas áreas de interesse. Em todas as aplicações foi utilizado um filtro FWHM de 8mm.

É ainda importante referir que neste tipo de análise não foram descartados volumes iniciais e que, como nenhuma das aplicações devolve o nome da região ativa do cérebro, para se obter este dado é necessária a utilização do *template "aal"* presente na aplicação MRICron.

De forma a concluir sobre a consistência de cada uma das aplicações serão analisadas as regiões cerebrais ativadas e as respetivas coordenadas de pico MNI, o valor do *Z-score* e o número de vóxeis que constituem um *cluster* ativo. Na análise

estatística de grupo foram analisados os contrastes (ou preditores): “zero> repouso” que permitem ver as regiões do cérebro em que as ativações de 0-back estão mais ativas que o repouso; “um> repouso” em que são visualizadas as regiões cerebrais cujas ativações de 1-back são maiores que o repouso; e “dois> repouso” em que são apresentadas as regiões cujas ativações de 2-back são maiores que o repouso.

Generalizando, a análise funcional aplicada envolve os seguintes passos:

- Escolha do *software* a estudar;
- Etapas de pré-processamento e processamento dos dados funcionais;
- Análise dos resultados;
- Conclusão quanto à adequação de cada *software* à atividade a desenvolver.

#### 4.6. APLICAÇÃO NOS CASOS DE ESTUDO

O fluxo de processamento foi aplicado a um caso de estudo constituído por 10 indivíduos (7 do género feminino; 3 do género masculino; idade média,  $60.2 \pm 5.16$  anos). Todos os indivíduos eram saudáveis e não possuíam qualquer historial de doenças neurológicas ou lesões cerebrais. As aquisições estruturais e funcionais foram realizadas todas 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.

A *Tabela 4.1* apresenta os parâmetros utilizados em cada aquisição. É importante referenciar que no estudo funcional efetuado foi utilizado um paradigma de memória que será descrito posteriormente.

Tabela 4.1. Principais parâmetros de aquisição das sequências utilizadas nos casos do estudo funcional

Parâmetro\Aquisição	Estrutural	Funcional
Resolução no plano	1,0 × 1,0 mm	3,5 × 3,5 mm
Espessura do corte	1,0 mm	4 mm
Matriz de aquisição	192 × 192 × 160	64 × 64 × 30

FOV	256 mm	224 mm
TE	3,48 ms	30 ms
TR	2730 ms	2000 ms

No estudo funcional foi utilizado um paradigma de memória que se encontra esquematizado na *Figura 4.12*. Este paradigma é composto por quatro blocos distintos: um bloco de fixação, um bloco *0-back*, um bloco *1-back* e um bloco *2-back*.



Figura 4.12. Exemplo do paradigma aplicado ao voluntário da tarefa de memória

O bloco de fixação é composto por um fixador, colocado no centro do campo visual. Os restantes blocos, *n-back*, são compostos por letras maiúsculas brancas num fundo preto.

O paradigma é composto por 16 blocos de estímulos que aparecem ao sujeito de forma aleatória: quatro blocos de fixação (i. e., repouso), 4 blocos *0-back*, 4 blocos *1-back* e 4 blocos *2-back*. Cada bloco tem a duração de 56 segundos. Logo a duração total da estimulação é de 896 segundos o que perfaz um total de, aproximadamente, 15 minutos.

Antes do início de cada tarefa são fornecidas ao sujeito indicações sobre a mesma. Uma das instruções possíveis é a indicação de que o sujeito deve carregar no botão ao ver uma determinada letra. Outra será a instrução “*1-Antes*” que solicita ao sujeito que carregue no botão sempre que a letra visível é igual à letra imediatamente anterior. Já quando aparece a instrução “*2-Antes*” o sujeito deve

carregar quando vir a letra igual à letra apresentada 2 vezes antes. Por fim, a instrução “*Fixador*” corresponde ao período de repouso no qual o sujeito deverá relaxar e aguardar.

#### 4.6.1. SPM

Como referido a análise dos dados funcionais com o SPM envolveu três passos essenciais: pré-processamento, análise e inferência.

##### PRÉ-PROCESSAMENTO

A primeira etapa de pré-processamento efetuada foi o realinhamento (ou correção de movimentos). No SPM, esta etapa realinha as imagens funcionais de um sujeito para que um determinado vóxel num volume corresponda a esse mesmo vóxel em toda a série temporal. A rotina realinha as séries temporais das imagens adquiridas, do mesmo sujeito, usando a abordagem dos mínimos quadrados e uma transformação espacial de 6 parâmetros. Neste realinhamento rígido os movimentos de rotação e translação devem ser idealmente inferiores a metade do tamanho do vóxel, no entanto movimentos inferiores ao tamanho do vóxel (e. g., 3 mm<sup>3</sup>) também são aceitáveis. O volume de referência utilizado no SPM corresponde à média das aquisições funcionais.

Para iniciar o realinhamento seleciona-se a rotina “*Realign: Estimate & Reslice*” presente no SPM. O resultado do processo são imagens realinhadas com o prefixo “*r*” por defeito, uma imagem média designada por “*meanfunctional.img*” e um ficheiro com o formato “.txt” designado por “*rp\_functional.txt*” com os parâmetros de movimento (i. e., rotação e translação) que são utilizados no *design* da matriz para os 6 parâmetros de movimento como regressores de movimento.

A segunda etapa de pré-processamento funcional efetuada foi o co-registo entre as imagens estruturais e as imagens funcionais. O co-registo é iniciado através da seleção de rotina “*Coregister: Estimate*”. A imagem média do realinhamento anterior é selecionada como uma imagem de referência que se pretende estacionária e é escolhida uma imagem estrutural para ajustar à imagem de referência. O resultado do co-registo não é caracterizado pela criação de novas imagens mas sim pela

alteração do cabeçalho nas imagens originais. É necessário testar os resultados no co-registo através da opção “*Check Reg*”, da interface principal do SPM, o resultado dessa verificação é apresentado na *Figura 4.13*.

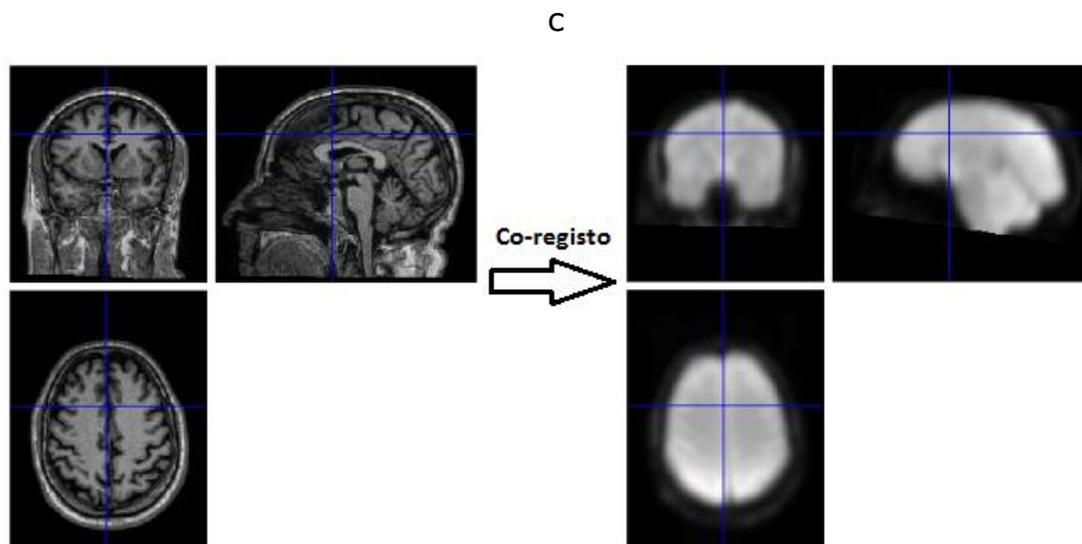


Figura 4.13. Resultado do co-registo entre volumes funcionais e estruturais no SPM

Como no trabalho é necessário fazer a comparação entre diferentes sujeitos, então torna-se necessária a normalização de todos os cérebros para um espaço estereotáxico padrão, que no caso do SPM é o MNI.

A normalização é iniciada através da rotina “*Normalize: Estimate & Write*”. Esta é efetuada de forma a minimizar a soma das diferenças quadráticas entre a imagem normalizada e a combinação linear de uma ou mais imagens modelo. A imagem média que resultou do processo de realinhamento é selecionada para ser ajustada ao modelo e as imagens funcionais são escolhidas para serem deformadas de acordo com os parâmetros estimados. Além disso, é especificada a imagem modelo (“*EPI.nii*”). No final da normalização, para cada imagem são criados novos ficheiros com o prefixo “*w*”, que se encontram no espaço MNI, e que devem ser verificados através do acionamento do botão “*Checkreg*” e cujo resultado é apresentado na *Figura 4.14*.

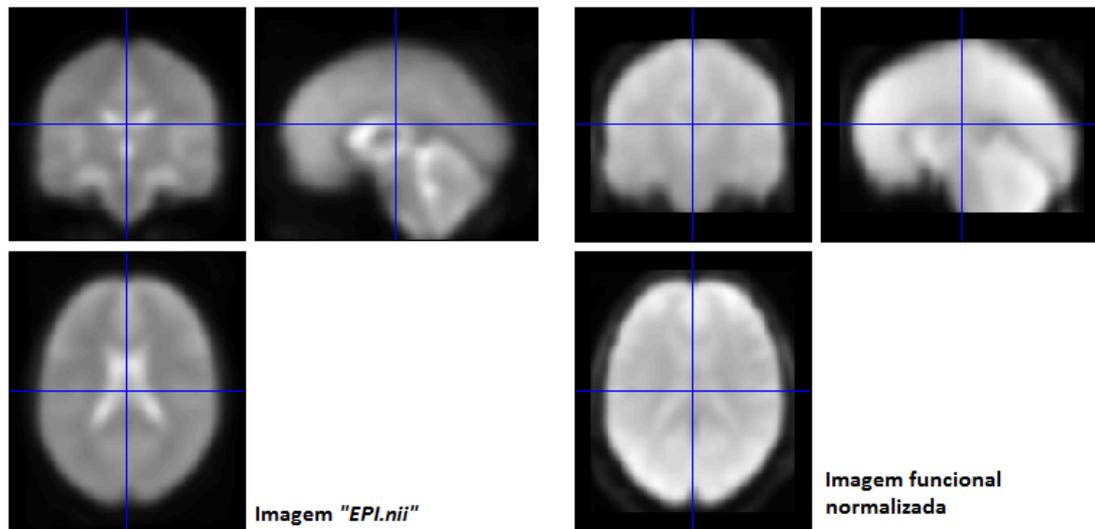


Figura 4.14. Verificação da normalização

A última etapa do pré-processamento é a suavização. Nesta etapa é utilizada a suavização ou convolução de volumes de imagens com um determinado filtro gaussiano, de forma a eliminar ruídos e artefactos resultantes de diferenças residuais da anatomia funcional. O filtro utilizado na suavização é um FWHM e quanto maior for este filtro menor é o número de comparações múltiplas e, conseqüentemente, a correção será menos restrita levando a que o sinal fique mais disperso e com menor intensidade.

A suavização no SPM é iniciada através da rotina *“Smoth”*, são seleccionadas todas as imagens funcionais normalizadas e é aplicado um filtro FWHM de 8mm. O resultado da suavização são novas imagens com o prefixo *“swr”* que serão aplicadas na estimação do modelo GLM.

#### PROCESSAMENTO

Terminado o pré-processamento é feita a análise funcional individual baseada no GLM. Nesta etapa os modelos para análises de primeiro nível de cada um dos sujeitos são especificados e estimados através da introdução dos dados do paradigma, condições, início, duração e repetições.

Assim, é seleccionada a opção *“Specify 1st-level”* que permite a selecção da pasta onde o ficheiro resultante da análise de primeiro nível (*“SPM.mat”*) será guardado. Seguidamente são definidos os parâmetros temporais necessários para construir o

modelo que inclui a definição de unidade temporal como sendo segundos e a definição do tempo de repetição do estudo (i. e., 2 segundos). As imagens que resultaram do processo de pré-processamento anterior são selecionadas e as condições do estudo são definidas.

Na definição das condições do estudo é necessário definir o nome da condição, o vetor com os tempos de início e a duração dos eventos em segundos. São introduzidas tantas condições quanto as necessárias para o estudo. No presente trabalho foram definidas quatro condições designadas como “Repouso”, “Zero”, “Um” e “Dois”. Por fim, são selecionados os regressores múltiplos que correspondem ao ficheiro “*rp\_functional.txt*” resultante do processo de realinhamento. As restantes opções foram mantidas com os seus valores padrão. Na *Figura 4.15* é apresentada a matriz *design* obtida para o estudo individual.

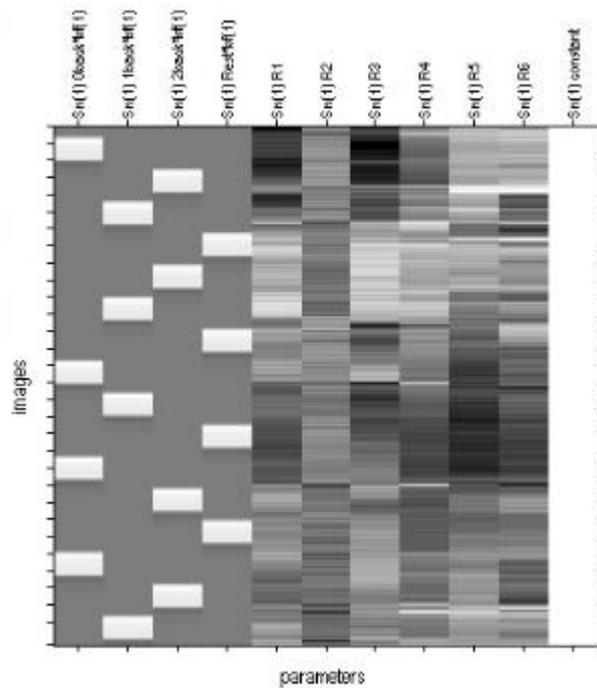


Figura 4.15. Matriz *design* para análise individual obtida no SPM

O próximo passo foi estimar a resposta esperada. Para tal, foi selecionado o ficheiro “*SPM.mat*” que contém o modelo especificado anteriormente. Existem três procedimentos de estimativa possíveis: a estimativa clássica de modelos de primeiro ou segundo nível, estimativa Bayesiana de modelos de primeiro nível e a estimativa

Bayesiana de modelos de segundo nível (que exige a execução da primeira). A estimação do modelo cria as seguintes imagens:

- **Betas** – Estimação de cada um dos coeficientes de regressão;
- **ResMS** – Variância Residual;
- **Mask** – Máscara que indica que vóxeis foram incluídos na análise
- **RFV** – *Resels* (elementos de resolução) estimados por vóxeis. Indica a resolução espacial da imagem.

A definição dos contrastes necessários para realizar inferências estatísticas sobre as regiões que estão implicadas no paradigma experimental de acordo com o nível de significância é possível através da seleção da rotina “*Results*” na interface do SPM e escolhendo o ficheiro “*SPM.mat*” criado. Surge então ao utilizador uma interface, semelhante à apresentada na *Figura 4.16*, que apresenta no painel direito a lista de contrastes definidos. Podem ser definidos contrastes T ou contrastes F. O primeiro visa responder a questão sobre quais as regiões que só se ativam numa condição, o segundo visa responder à questão se um parâmetro é relevante ou não. No SPM foram criados os contraste “*Zero > Rep*” que corresponde a [1 0 0 -1], “*Um > Rep*” que corresponde a [0 1 0 -1] e “*Dois > Rep*” que corresponde a [0 0 1 -1].

Para examinar os resultados estatísticos escolhe-se o contraste a analisar e aciona-se “*Done*”. Assim, surge uma outra janela na qual se podem definir:

- “***Apply masking***” – caso se pretenda combinar os resultados com outro contraste é escolhida a opção “*yes*”. No estudo foi escolhida a opção “*none*”;
- “***Title for comparasion***” – inserção do nome da comparação;
- “***p value adjustment to control***” – tipo de correção que o utilizador pretende aplicar. No trabalho foi aplicado “*uncorrected*”;
- “***Threshold (T or p value)***” – corresponde ao nível de significância escolhido. Este nível varia de estudo par estudo.
- “***& extent threshold (voxels)***” – permite a definição de ativações com um número mínimo de vóxeis juntos.

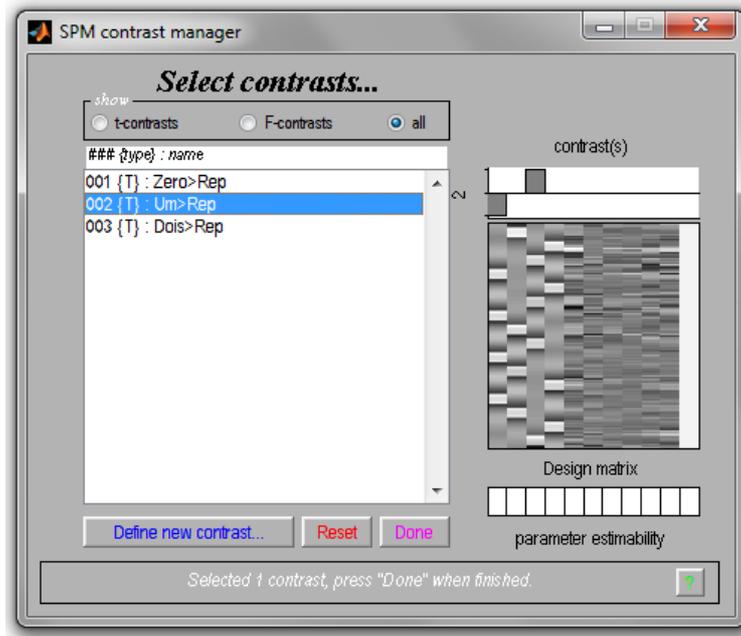


Figura 4.16. Interface para seleção de contrastes no SPM

Após a definição dos parâmetros anteriores é apresentado ao utilizador um padrão com as áreas ativas em todo o cérebro para a condição escolhida. Assim é criado um “cérebro de vidro”, tal como o apresentado no lado esquerdo da *Figura 4.17*, juntamente com uma interface que auxilia o utilizador na visualização dos dados, lado direito da *Figura 4.17*. É importante salientar que caso se queiram obter o mapa estatístico das ativações o utilizador deve selecionar a opção “*whole brain*” da interface de resultados.

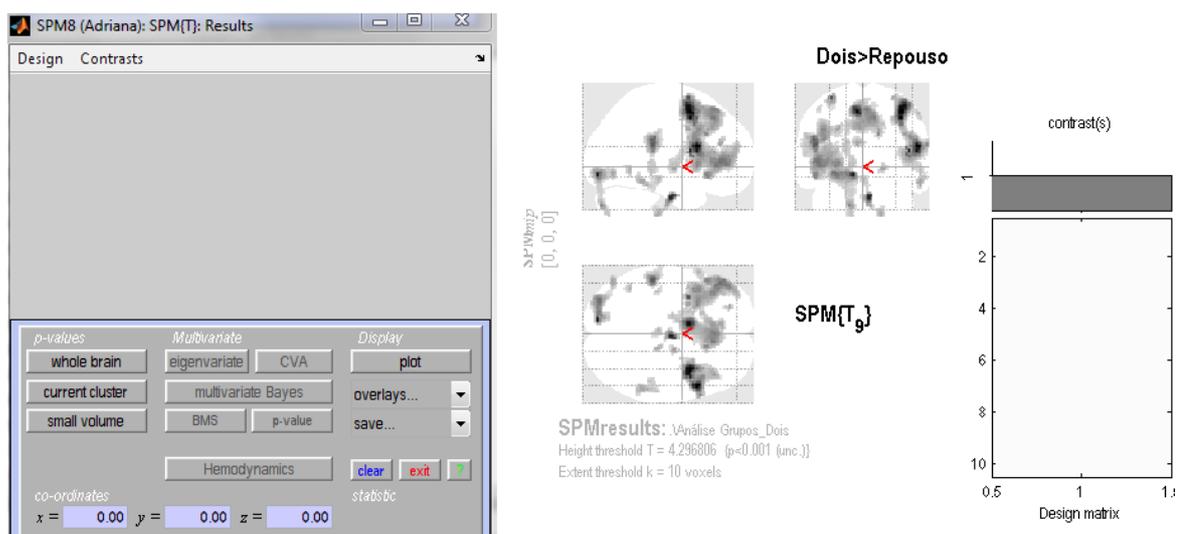


Figura 4.17. Visualização dos resultados no SPM para o estudo de grupo

#### 4.6.2. FSL - FEAT

Os dados funcionais podem ser analisados através da ferramenta FEAT, disponível no FSL. Com esta ferramenta, é possível efetuar uma análise de primeiro nível (i. e., análise individual dos sujeitos) utilizando a opção *“first-level analysis”* ou uma análise de nível superior (i. e., análise de grupo) que corresponde à opção *“higher.level analysis”*.

As etapas de preparação dos dados já foram descritas na *Secção 4.5*. No entanto, como o co-registo é baseado numa imagem sem crânio, foi necessária uma etapa adicional caracterizada pela extração do cérebro utilizando a ferramenta BET.

##### ANÁLISE DE INDIVIDUAL

A análise estatística de primeiro nível é composta por 5 etapas que podem ser combinadas de forma sequencial ou efetuadas de forma individualmente. No presente estudo, foi selecionada a opção *“Full Analysis”* que corresponde a uma análise completa de primeiro nível e envolveu as etapas: *“Data”*, *“Pre-stats”*, *“Stats”*, *“Post-stats”* e *“Registration”* definidas pelos diferentes submenus ou separadores apresentados no FEAT.

A primeira etapa desta análise consistiu na seleção dos dados funcionais que serão analisados. Esta etapa é efetuada no submenu *“Data”* e permitiu definir a pasta onde o processo de análise funcional será armazenado e alguns parâmetros relacionados com as imagens a analisar, nomeadamente: o número de total de volumes foi definido como 456; o TR correspondeu a 2 segundos; o número de volumes a eliminar é definido como 0; e a frequência de corte do filtro passa alto foi mantida em 100 segundos.

Seguidamente foram selecionadas as etapas de pré-processamento dos dados funcionais. Assim, no separador *“Pre-stats”* foi selecionada a correção de movimentos e suavização espacial que, tal como nas outras aplicações, corresponde à aplicação de um filtro FWHM de 8 mm.

A correção de movimentos no FEAT é efetuada através de uma ferramenta existente no FSL, o MCFLIRT. Esta procura alinhar todos os volumes cerebrais com o volume

central da aquisição através da definição da função de custo como o grau de correlação normalizado. A função de interpolação padrão do MCFLIRT é a interpolação *sinc* que apesar de ser computacionalmente mais lenta é a que produz melhores resultados.

A definição do GLM é efetuada no separador *"Stats"*. Neste submenu é possível acionar o botão *"Full Model Setup"* que apresenta ao utilizador uma nova janela, designada por *"General Linear Model"*, onde se podem escolher as variáveis explanatórias (i. e., condições) do estudo. As condições são definidas no separador *"EVs"* onde é importante definir a forma básica da onda que descreve o estímulo que queremos estudar.

No trabalho foi escolhida a forma *"Custom (3 column format)"* e foi necessária a criação de um ficheiro de texto para cada uma das condições em que as linhas correspondem aos diferentes estímulos e as colunas contêm o momento inicial da ativação na primeira coluna, na segunda coluna a duração da ativação e na terceira coluna a intensidade. Os contrastes são definidos no separador *"Contrasts & F-tests"*. Na *Figura 4.18* é apresentado o modelo de regressores e dos contrastes utilizados.

Na etapa *"Post-stats"* é possível definir o tipo de correção estatística que se deseja aplicar a cada sujeito assim como o nível de significância. No entanto como, inicialmente foi feita a análise individual optou-se por não se aplicar nenhuma estatística aos sujeitos individuais.

Finalizando a análise individual, no separador *"Registration"* especificam-se os dados necessários para o co-registo dos dados funcionais com diferentes imagens estruturais e para a normalização dos dados para o espaço MNI. O co-registo é baseado no FLIRT e é efetuado em duas etapas. A primeira etapa consiste no co-registo dos dados funcionais de baixa resolução com os dados anatómicos de alta resolução e na segunda etapa é feito o co-registo dos dados para o espaço MNI.

O co-registo efetuado no trabalho envolveu a definição de uma imagem estrutural principal (na opção *"Main Structural Image"*) cujo crânio foi extraído (utilizando o BET) e da imagem de referência espaço padrão MNI (já fornecidas pela aplicação).

Como a dimensão dos cérebros entre os sujeitos é variável, o registo efetuado correspondeu a um alinhamento não-rígido com 12 graus de liberdade.

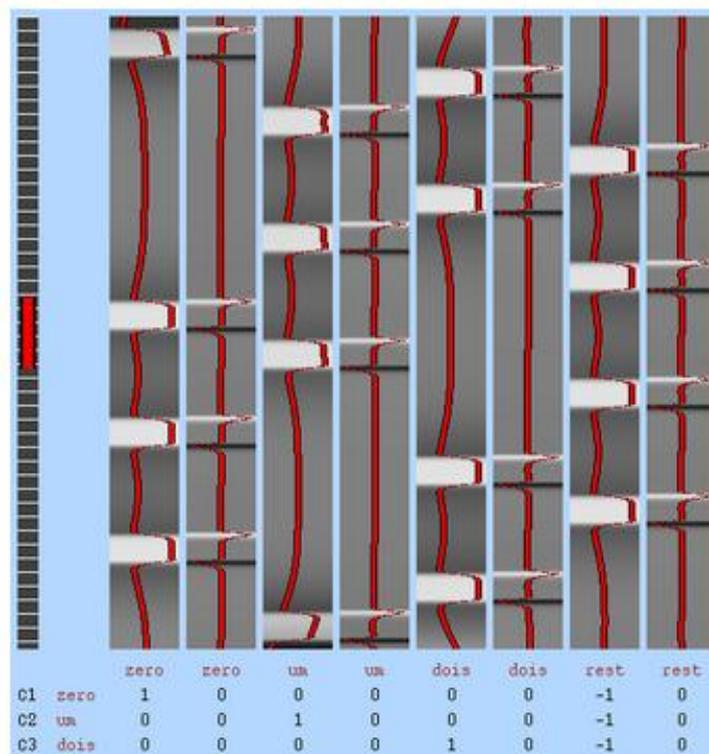


Figura 4.18. Modelo dos regressores e dos contrastes definidos no FSL

Após a definição destes parâmetros para cada um dos sujeitos é efetuada a análise individual e o FEAT apresenta como resultado uma página *web* com os resultados de todas as etapas definidas, nomeadamente: gráficos apresentando as rotações e translações efetuadas durante a correção de movimentos, os resultados do registo efetuado, entre outros.

#### ANÁLISE DE GRUPO

A análise de grupo é efetuada através da seleção da opção *“Higher-level Analysis”* que envolve 3 etapas diferenciadas nos separadores *“Data”*, *“Stats”* e *“Post-stats”*.

No separador *“Data”* são selecionadas as pastas que contêm os dados da análise de primeiro nível dos dez sujeitos e é escolhida a pasta na qual serão armazenados os resultados da análise de segundo nível. Na segunda etapa, disponível no separador *“Stats”*, é definido o GLM para o estudo (i. e., para a análise de RFX é selecionada a opção *“Flame 1”*) cujo modelo utilizado no estudo (i. e., *One-Sample T-test*) é

semelhante ao apresentado na *Figura 4.19*. A terceira etapa, disponível no separador “*Post-stats*” corresponde à definição das correções estatísticas utilizadas no estudo (i. e., *uncorrected*) e do nível de significância que varia com o contraste a analisar.

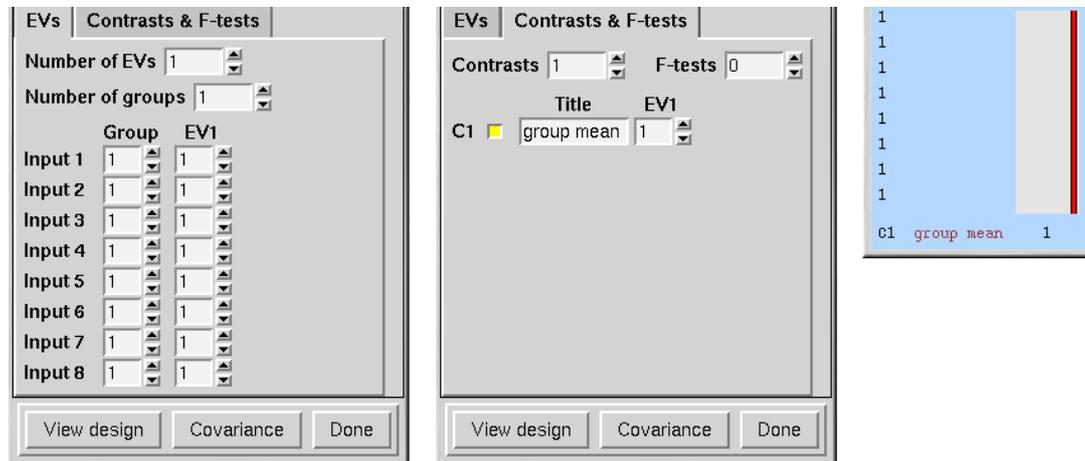


Figura 4.19. Modelo GLM para *One-Sample T-test* utilizando o FSL

Tal como na análise individual, esta aplicação devolve os resultados numa página HTML que, para além de incluir as zonas ativadas no cérebro, apresentadas na *Figura 4.20*, gera séries temporais para os dados *versus* o modelo do vóxel com maior significância no contraste utilizado e numa análise mais profunda é possível obter a localização específica das regiões ativadas.

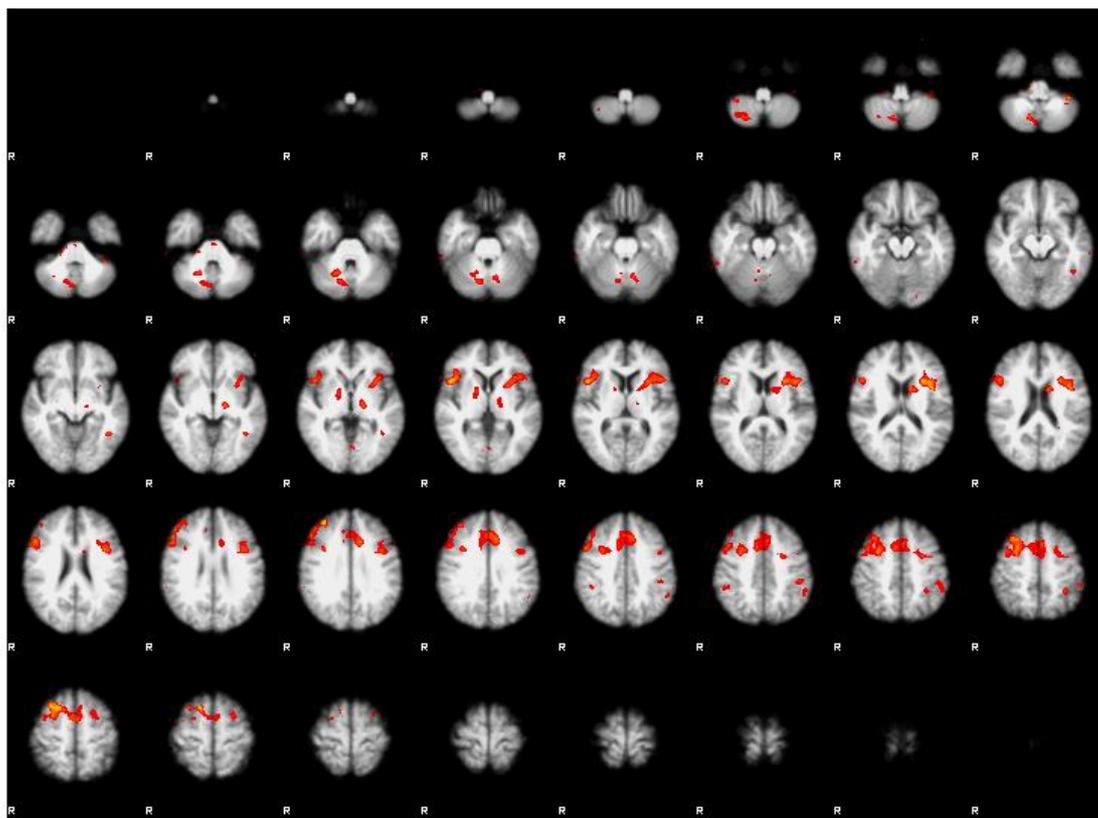


Figura 4.20. Resultado da análise de grupo para o contraste "dois > repouso" com  $p < 0.001$  *uncorrected*

#### 4.6.3. BRAINVOYAGER

Na terceira aplicação estudada foram aplicadas etapas semelhantes às descritas anteriormente com exceções relacionadas com as características da aplicação. Assim, inicialmente foram criados dois projetos (um projeto com as imagens funcionais e outro projeto com as imagens estruturais) e foi desenhado o protocolo de estimulação, semelhante ao apresentado na *Figura 4.21*.

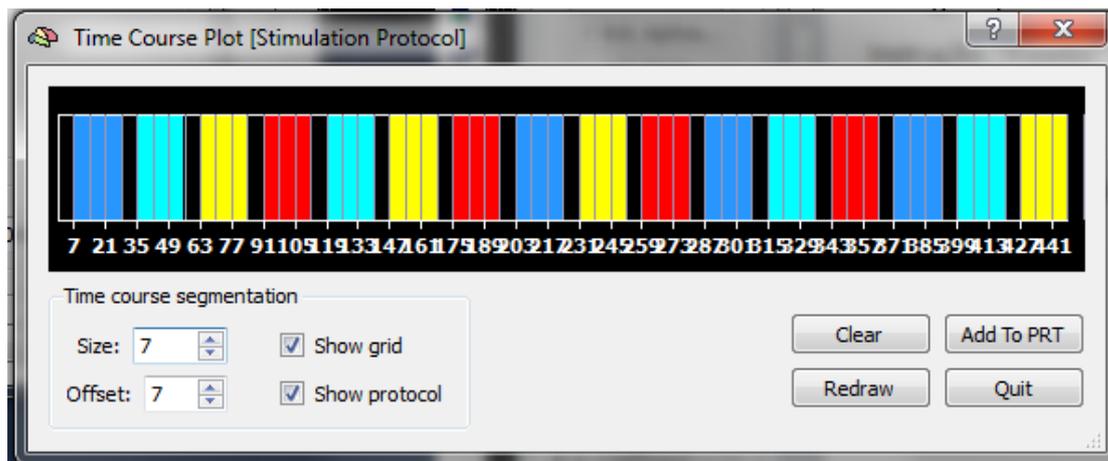


Figura 4.21. Protocolo de estimulação do BrainVoyager QX

As etapas de pré-processamento no BrainVoyager são efetuadas de uma forma muito mais integrada que nas restantes aplicações. Assim, foi efetuado a correção de movimentos no projeto funcional utilizando uma interpolação trilinear.

Durante o processo de correção dos movimentos vai sendo construído um gráfico com o parâmetros de rotação e translação, tal como apresentado na *Figura 4.22*, cuja cor vermelha corresponde à translação no direção do eixo dos xx, verde à translação da direção do eixo dos yy, azul à translação na direção no eixo dos zz, amarelo à rotação ao longo dos eixos do xx, magenta à rotação na direção no eixo do yy e azul claro à rotação no eixo do zz.

O algoritmo de correção de movimentos utilizado no BrainVoyager considera como referência o volume inicial e aos restantes volumes é aplicada a matriz de transformação do corpo rígidos sequencialmente, em seguida é calcula a diferença quadrática média da intensidade de todos os vóxeis dos dois volumes e por fim, o algoritmo iterativamente tenta minimizar essa diferença em relação aos seis parâmetros.

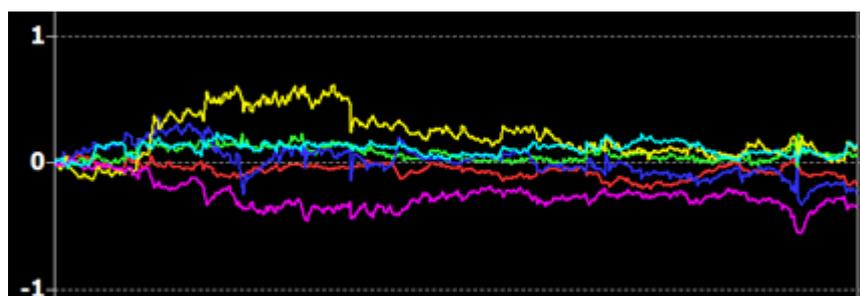


Figura 4.22. Gráfico resultante da aplicação da correção de movimentos aos dados funcionais

Seguidamente é efetuado o co-registo dos dados estruturais e funcionais de forma a preparar os dados para a normalização para o espaço de Talairach. Neste processo são exploradas as informações dos dados existentes nos *headers* das imagens selecionadas. O resultado visual deste co-registo é apresentado na *Figura 4.23*, em que se verifica a sobreposição dos dados funcionais na imagem anatómica.

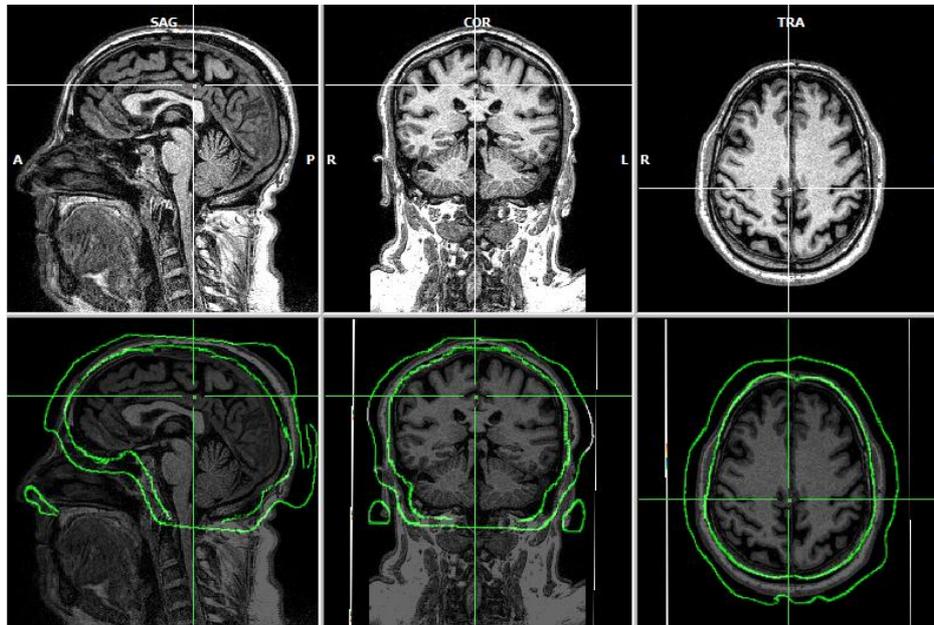


Figura 4.23. Resultado visual do co-registo no BrainVoyager QX

No BrainVoyager a normalização utiliza o atlas de Talairach. Na aplicação, este processo exige a definição manual de duas referências anatómicas essenciais: a comissura anterior (CA), a comissura posterior (CP) e conseqüentemente é identificado o plano que une estas duas regiões (Plano CA-CP). Após esta definição, são definidas as fronteiras do córtex ao longo de cada um dos três eixos: ponto anterior (*anterior point* – AP), ponto posterior (*posterior point* - PP), ponto superior (*superior point* – SP), ponto inferior (*inferior point* – IP), ponto à direita (*right point* - RP) e ponto à esquerda (*left point* – LP). Assim que estas fronteiras estão definidas o cérebro é processado de forma a preencher o sistema de grelha de Talairach, tal como apresentado na *Figura 4.24*.

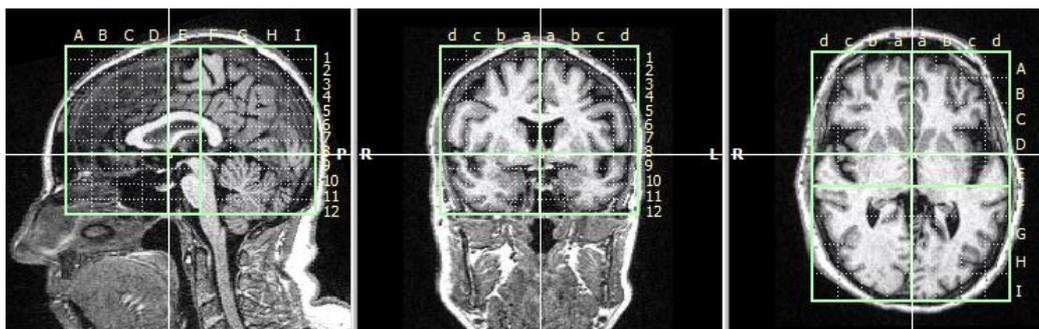


Figura 4.24. Grelha de Talairach utilizado no BrainVoyager QX

Todas as etapas de pré-processamento anteriores são ligadas através da criação de um ficheiro VTC (*volume time course*) que contém os dados analisados, tais como: os dados funcionais pré-processados, a matriz de transformação do co-registo das imagens funcionais e estruturais e os ficheiros contendo os dados da transformação de Talairach. Seguidamente foi aplicado ao um filtro FWHM de 8mm ao VTC criado.

Posteriormente é feita a análise estatística individual que exige a definição dos preditores (i. e., condições) a analisar (selecionar “*Analysis*” → “*Overlay General Linear Model*”). Os preditores definidos são os mesmos que foram utilizados nas outras duas aplicações.

Finalizando, é feita a análise RFX do grupo de indivíduos tendo como base o ficheiro VTC criado e os preditores definidos para cada um dos sujeitos individuais. Após a definição do tipo de correção estatística como “*uncorrected*” é escolhido o nível de *threshold* adequado e são criados “*volume de interesse*” do mapeamento de *Clusters*, assim são apresentados mapas coloridos, semelhantes ao da *Figura 4.24*, com as áreas cerebrais ativadas coloridas.

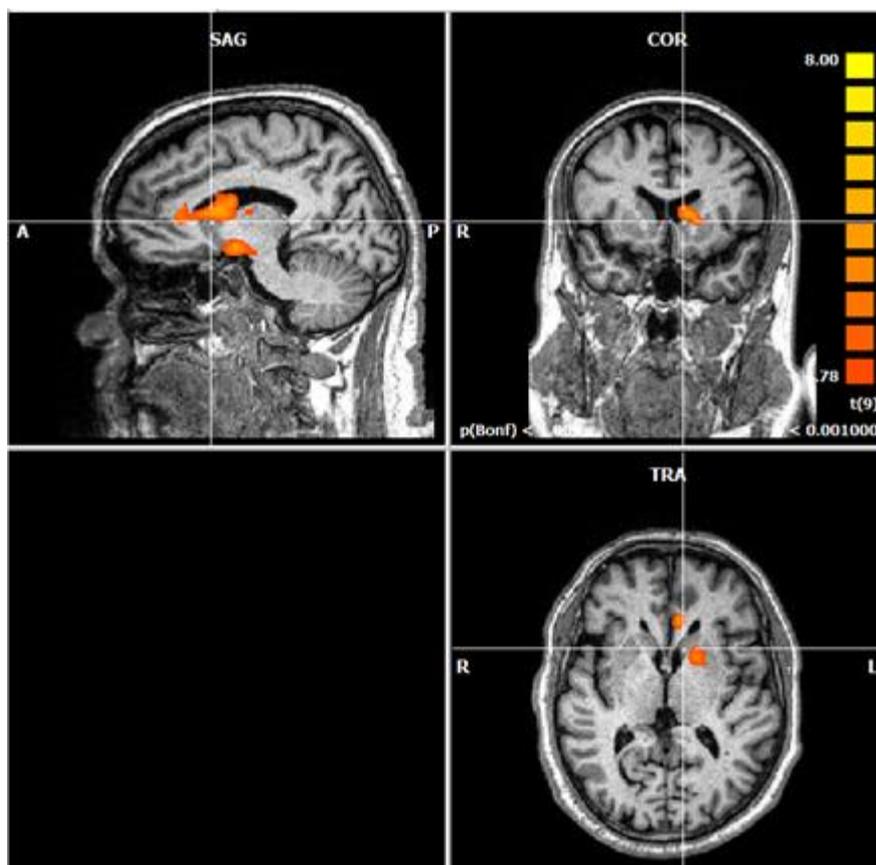


Figura 4.25. Mapa de ativações obtidas na aplicação BrainVoyager QX para um  $p < 0.001$



## CAPÍTULO 5

# RESULTADOS E CONCLUSÕES

---

No presente capítulo será efetuada uma avaliação das características gerais das ferramentas de processamento escolhidas para RMf e RMe. Esta avaliação será acompanhada por uma análise dos resultados volumétricos obtidos na aplicação de casos de estudo na análise volumétrica cerebral e dos dados obtidos do estudo funcional após a aplicação nos casos de estudo. Por fim, serão apresentadas as principais conclusões sobre o trabalho efetuado.

### 5.1. AVALIAÇÃO GERAL DAS APLICAÇÕES

É referido ao longo do trabalho que de um conjunto de aplicações para neuroimagem foram selecionadas 3 para análise de RMf e outras 3 para análise de RMe. No presente trabalho a escolha dessas aplicações centrou-se na frequência com que a aplicação é referida na literatura e na facilidade de acesso a material de acompanhamento à aprendizagem. De referir que o SPM corre em MatLab e por isso necessita de licença de utilização e o BrainVoyager é comercial, mas amplamente utilizado. Outro fator preponderante na escolha das aplicações foi o Sistema Operativo (SO) compatível com as aplicações. O *software* deve ser compatível com as plataformas Windows 7 de 64 *bits* ou o Ubuntu 10.10. Desta forma foram selecionadas as aplicações informáticas FSL versão 5.0, SPM8 e FreeSurfer versão 5.1.0 para a análise estrutural e as aplicações SPM8, FSL 5.0 e BrainVoyager QX versão 2.0 para a análise funcional.

Numa primeira etapa, as três aplicações foram estudadas utilizando os seguintes critérios gerais:

- URL - endereço da página do fornecedor da aplicação;

- Sistema Operativo - os requisitos mínimos do *software* e *hardware* necessários para cada aplicação;
- Documentação e suporte - a existência de *tutoriais online* capazes de fornecer instruções de *download*, instalação, funcionamento, entre outras. Também serão avaliados de 1 a 5 (sendo 1 o mínimo e 5 o máximo), de acordo com a facilidade de instalação, facilidade de aprendizagem, facilidade de utilização e existência ou não de uma boa interface gráfica;
- Tipo de análise de RM que pode ser efetuada - se efetua análises de RMe, RMf, difusão, entre outras;
- Ferramentas disponíveis - se efetuam conversão de dados, correção de movimentos, segmentação, entre outras;
- *Input* - Tipo de formatos que reconhece/suporta;
- Análises estatísticas que realiza;

Os resultados deste estudo inicial são apresentados na *Tabela 5.1*.

Das aplicações selecionadas somente o FreeSurfer e o FSL não podem ser executado sem Windows, as restantes podem ser executadas em Mac OS, Unix e Windows.

Todas as aplicações têm instruções de *download*, instalação e funcionamento disponíveis *online*, que podem ser consultadas no endereço do fornecedor da aplicação respetivo. Segundo a presente avaliação o SPM e o BrainVoyager foram as aplicações cuja facilidade de instalação foi superior, pois não foi necessária a alteração de variáveis ambiente e outros parâmetros como no caso do FSL e do FreeSurfer.

No que se refere à facilidade de aprendizagem, as aplicações encontram-se todas ao mesmo nível, pois a existência de diversos tutoriais *online* facilitou o processo. No entanto, como a neuroimagem é uma área bastante específica, esta aprendizagem mostrou-se um trabalho árduo, independentemente do tipo de análise em questão, devido à necessidade de conhecer os fluxos de processamento necessários para cada modalidade que, como referido, ainda não se encontram perfeitamente padronizados.

Uma outra observação importante relaciona-se com a interface gráfica. No SPM a interface gráfica acompanha o utilizador em todo o processo de análise estrutural e funcional, permitindo a visualização dos dados funcionais e das imagens com as estruturas corticais segmentadas em separado, no entanto, para a quantificação dos

Tabela 5.1. Resumo dos principais critérios aplicados na análise comparativa geral das aplicações

	SPM	FSL	FreeSurfer	BrainVoyager
<b>1) URL</b>	<a href="http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm">www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm</a>	<a href="http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl">www.fmrib.ox.ac.uk/fsl</a>	<a href="http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu">http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu</a>	<a href="http://www.brainvoyager.com/products/turbobrainvoyager.html">http://www.brainvoyager.com/products/turbobrainvoyager.html</a>
<b>2) SO</b>	Windows, Linux, Mac OS	Linux, Mac OS	Linux e Mac OS	Linux, MAC OS, Windows
<b>3) Documentação</b>	Cursos, anotações de cursos, ajuda <i>online</i> , manual do utilizador bastante resumido	Cursos, anotações de cursos, diversos <i>tutoriais online</i> , listas de discussão	Cursos, anotações de cursos, <i>tutoriais online</i> , listas de discussão	Cursos, manual do utilizador
a) Instalação	4	3	3	4
b) Aprendizagem	3	3	3	3
c) Utilização	4	4	4	4
d) Interface	3	3	2 (só de visualização de resultados)	5
<b>4) Tipo de análise</b>	RMe, RMf e difusão	RMe, RMf e difusão	RMe, RMf e difusão	RMe, RMf e difusão
<b>5) Ferramentas disponíveis</b>	Conversão de dados, correção de movimentos e de tempos de aquisição, normalização, segmentação	Ferramenta de extração do crânio, correção de movimentos, comparação de diferenças estruturais	Segmentação, extração do crânio, registo não linear, análises de grupos de diferenças morfométricas, entre outras	Segmentação, correção de movimentos, comparação de diferenças estruturais entre grupos, tratografia, entre outros
<b>6) Input</b>	Analyze/ NifTI (3D e 4D)	Analyze/ NifTI (3D e 4D)	Formatos nativos e externos (Analyze, DICOM)	DICOM, Analyze, Philips REC
<b>7) Análise estatística</b>	GLM, VBM	GLM, VBM	GLM	GLM, VBM

volumes das substâncias corticais e subcorticais foi necessário recorrer diretamente ao MatLab. O mesmo se passou com o FSL, a quantificação é feita através linha de comandos, assim como a segmentação de estruturas subcorticais, no entanto, o processo de segmentação cortical e a análise funcional é acompanhada por uma interface gráfica. No FreeSurfer as instruções são todas inseridas pela linha de comandos e a quantificação dos volumes é exportada para um documento de texto ao qual o utilizador tem que aceder para obter os volumes das estruturas corticais e subcorticais. Por outro lado, no BrainVoyager o utilizador é acompanhado em todo o processo por uma interface gráfica bastante atrativa e que facilita bastante o método de processamento. Além do referido, o FreeSurfer e o FSL têm ferramentas de visualização independentes que permitem obter bons contornos das imagens obtidas da segmentação, por exemplo. Como a existência de uma interface gráfica é uma vantagem no processamento de dados de neuroimagem, tendo em conta este parâmetro pode-se aferir que a aplicação mais indicada para análises estruturais é o SPM ou o FSL, e o BrainVoyager é o mais adequado para as análises funcionais, do ponto de vista de usabilidade.

Deve-se salientar que o BrainVoyager só foi utilizado em estudos funcionais devido à sua ampla divulgação e para fornecer uma noção das apostas que os criadores de *software* comercial fazem. Como referido, a aplicação tem como ponto forte a sua interface gráfica, dado ser acessível e vistosa aos utilizadores. Devido a este facto, depois do processo de aprendizagem é bastante fácil trabalhar com a aplicação. Por outro lado, o FreeSurfer foi analisado em estudos volumétricos pelo facto de ser um processo totalmente automatizado e requerer pouca intervenção por parte do utilizador.

Assim, após a observação destas características gerais verifica-se que as aplicações não são compreensíveis a um primeiro contacto, sendo necessário alguns conhecimentos informáticos e de neuroimagem para as manipular. São os casos específicos do FSL e do FreeSurfer que necessitam de conhecimentos informáticos de *bash* e o caso do BrainVoyager que necessita de conhecimentos de anatomia para a definição do plano AC-PC na normalização para o espaço de *Talairach*. Já o SPM não implica tantos conhecimentos de informática nem de anatomia, mas, tal como

as restantes aplicações, necessita de noções de neuroimagem, escolha dos protocolos adequados, entre outros. Logo, nenhum destes processos é totalmente automatizado, necessitando de constante acompanhamento do utilizador.

De entre as aplicações seleccionadas, o FSL é aquela que permite ao utilizador um maior e mais fácil controlo dos resultados da análise de RMe, pois cada uma das etapas é feita individualmente e são apresentadas inúmeras opções avançadas para controlar melhor o resultado desejado. No entanto, para estudos funcionais a aplicação que permite maior controlo sobre o *output* é o SPM.

Desta forma, a escolha do pacote mais indicado para estudos de neuroimagem depende, mais uma vez, das necessidades do laboratório em questão, da capacidade de programação dos seus intervenientes e da disponibilidade que os seus colaboradores tenham para aprender uma nova aplicação, pois qualquer uma delas leva bastante tempo. Por outro lado, a duração de algumas rotinas de processamento é elevada o que afeta diretamente a escolha da aplicação.

Em termos de duração dos estudos, um estudo funcional com o SPM (depois da aprendizagem) pode demorar entre 30 a 45 minutos (análise individual). Já com o BrainVoyager, na mesma análise, cada sujeito demora cerca de 30 minutos. No FSL, a análise funcional de cada individuo demora em média 40 minutos (se for analisado um caso de cada vez) ou pode demorar, dependendo na máquina utilizada, cerca de 7 horas (se forem processados mais que 5 casos simultaneamente). Não obstante, das 3 aplicações referidas a que exige menos intervenção do utilizador é o FSL.

Nas análises estruturais utilizando o SPM cada sujeito leva em média 45 minutos a ser processado (incluindo a quantificação dos volumes). No FSL a segmentação cortical demora menos mas, na segmentação subcortical, como é preciso quantificar os volumes manualmente, demora em média 60 minutos por sujeito. O tempo de processamento no FreeSurfer é o mais elevado e está dependente do tipo de máquina utilizada, mas demora é média de 18 horas a processar cada sujeito, no entanto, não foram feitas correções que, caso fossem necessárias, aumentariam o tempo de processamento.

A necessidade de conversão já não é um assunto tão relevante na escolha do *software* pois existem ferramentas grátis, como o MRICron, que o fazem em dois minutos.

Em todas as aplicações a melhor forma de aprender o seu funcionamento é através da experimentação por “tentativa e erro”, lendo os *tutoriais* disponíveis, consultando listas de discussão *online* quando surgem dúvidas e solicitando a ajuda de colegas com maior conhecimento.

É ainda relevante salientar que todas estas aplicações têm sofrido melhorias contínuas estando os seus autores particularmente ativos.

## 5.2. SEGMENTAÇÃO CORTICAL

A segmentação automática das estruturas corticais foi efetuada utilizando as três aplicações selecionadas para análise de dados de RMe. Na *Tabela 5.2*, são apresentados os resultados da média e desvio padrão dos volumes quantificados, em  $\text{mm}^3$ , obtidos pelas aplicações selecionadas para as substâncias cinzenta e branca tendo em conta a distinção entre géneros.

Como esperado, nos dez indivíduos testados foram quantificados valores de substância cinzenta maiores que os valores de substância branca (Courchesne, et al., 2000) (Lüders, et al., 2002). Do mesmo modo, os indivíduos do sexo masculino apresentaram volumes de substâncias cinzenta e branca superior aos volumes obtidos no sexo feminino.

Tabela 5.2. Média e desvio padrão ( $\text{mm}^3$ ) dos resultados volumétricos com distinção entre géneros

		Média ( $\text{mm}^3$ ) $\pm$ Desvio padrão ( $\text{mm}^3$ )			
		Masculino (n=5)		Feminino (n=5)	
		Substância cinzenta	Substância branca	Substância cinzenta	Substância branca
Aplicações	FSL	691069 $\pm$ 33236	563992 $\pm$ 34420	647395 $\pm$ 24438	522582 $\pm$ 44664
	SPM	771025 $\pm$ 43241	510520 $\pm$ 32314	735772 $\pm$ 53057	475539 $\pm$ 41255
	FreeSurfer	715019 $\pm$ 32789	525290 $\pm$ 41236	665327 $\pm$ 27099	493928 $\pm$ 43010

No entanto, analisando somente as médias dos volumes obtidos não é possível afirmar que a proporção de substância cinzenta existente nos homens é superior à das mulheres, pois estes resultados não exprimem a percentagem de volume de substância branca ou cinzenta ocupada no volume total do cérebro. Assim, foi necessário calcular o volume total cerebral (VTC), que resulta da adição dos volumes de substâncias branca e cinzenta. Seguidamente, os volumes das substâncias branca e cinzenta foram expressos, em percentagem, em termos do volume ocupado no VTC. As percentagens de volume de substâncias branca e cinzenta no VTC são apresentadas na *Tabela 5.3*

Tabela 5.3. Volume ocupado pelas substância branca e cinzenta no volume total do cérebro

		Média (%) ± Desvio padrão (%)			
		Masculino (n=5)		Feminino (n=5)	
		Substância cinzenta	Substância branca	Substância cinzenta	Substância branca
Aplicações	<b>FSL</b>	57,48 ± 2,76	46,91 ± 2,86	53,85 ± 2,03	43,46 ± 3,71
	<b>SPM</b>	60,17 ± 2,76	44,20 ± 3,47	55,99 ± 2,28	41,56 ± 3,62
	<b>FreeSurfer</b>	61,94 ± 3,47	41,01 ± 2,60	59,11 ± 4,26	38,20 ± 3,31

Tendo em conta o VTC, em ambos os sexos, a percentagem de substância cinzenta é superior em cerca de 15%. Nos indivíduos do sexo masculino, a substância cinzenta é cerca de 4% maior que nos indivíduos do sexo feminino enquanto, a substância branca é aproximadamente 2% superior.

A análise destas percentagens tem como objetivo provar que os resultados obtidos encontram-se bastante próximos dos referenciados na literatura para indivíduos saudáveis (Courchesne, et al., 2000) (Lüders, et al., 2002).

Nesta análise inicial de dados, os sexos dos sujeitos foram diferenciados, no entanto, não trouxe nenhuma mais valia estatística tendo em conta os objetivos da dissertação; esta centra-se essencialmente na avaliação da consistência e fiabilidade dos *software* escolhidos e não no cálculo dos volumes cerebrais e da sua variação com o sexo dos sujeito de testes. Assim, na *Tabela 5.4* são apresentadas as médias e

os desvios-padrão dos resultados de volume quantificados para as substâncias branca e cinzenta em cada uma das aplicações.

Os dados apresentados na *Tabela 5.4* reiteram as observações anteriores relativas aos resultados das diferenças entre volumes de substância branca e substância cinzenta e apresentados na *Tabela 5.2*. Assim, reafirma-se que os volumes de substância cinzenta são superiores aos volumes de substância branca independentemente da aplicação a ser analisada.

Tabela 5.4. Valores de média e desvio padrão para as substância branca e cinzenta sem distinção entre gêneros

		<b>Média (mm<sup>3</sup>) ± Desvio padrão (mm<sup>3</sup>)</b>	
		Substância cinzenta (n=10)	Substância branca (n=10)
<b>Aplicações</b>	<b>FSL</b>	669232 ± 35864	543287 ± 43468
	<b>SPM</b>	753399 ± 49268	493029 ± 39502
	<b>FreeSurfer</b>	690173 ± 38602	509609 ± 43025

Ainda analisando a *Tabela 5.4*, verifica-se que na quantificação da substância cinzenta a aplicação que tem um menor desvio padrão é o FSL, seguido do FreeSurfer e terminando com o SPM. Já, no que se refere à substância branca a aplicação com menor desvio padrão é o SPM seguido pelo FreeSurfer e do FSL. Em qualquer um dos casos os valores de desvio padrão do FSL e do FreeSurfer são sempre muitos próximos enquanto o valor do SPM distancia-se um pouco destes dois (seja para valores de desvio padrão mais baixos seja para valores mais elevados).

A *Figura 5.1* expressa no *box-plot* a distribuição dos dados quantificados para o volume de substância branca para as três aplicações testadas. Utilizando este tipo de representação gráfica, é possível visualizar a dispersão dos dados, ter uma ideia da posição e da existência ou não de *outliers* nos dados quantificados.

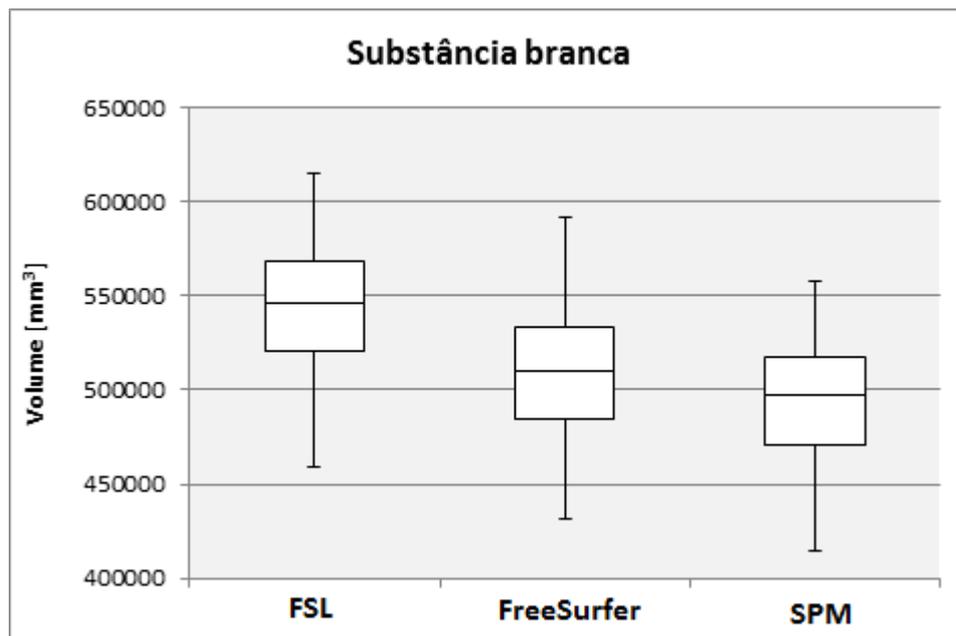


Figura 5.1. *Box-plot* para a distribuição de dados da substância branca

É possível observar que o volume mediano de substância branca decresce nitidamente do FSL para o FreeSurfer e SPM, estando praticamente ao mesmo nível nestas duas aplicações. A dispersão dos dados é semelhante nas três aplicações que apresentam uma simetria na distribuição dos seus dados. A aplicação que obteve volumes de substância branca mais elevados foi o FSL e a que obteve menores valores foi o SPM.

Como referido, a discrepância dos dados é bastante semelhante nas três aplicações, pois a amplitude total e a dispersão dos valores centrais é basicamente a mesma. Se também levarmos em consideração os valores do desvio padrão facilmente se conclui que a aplicação mais consistente é o SPM. Analogamente, a aplicação com maior dispersão é o FSL e o FreeSurfer logo, são as aplicações menos consistentes para quantificação de volumes de substância branca.

No entanto, o FSL é a aplicação que apresenta o volume médio de substância branca mais próximo dos valores referenciados na literatura (Barra, et al., 2007) (Klauschen, et al., 2009).

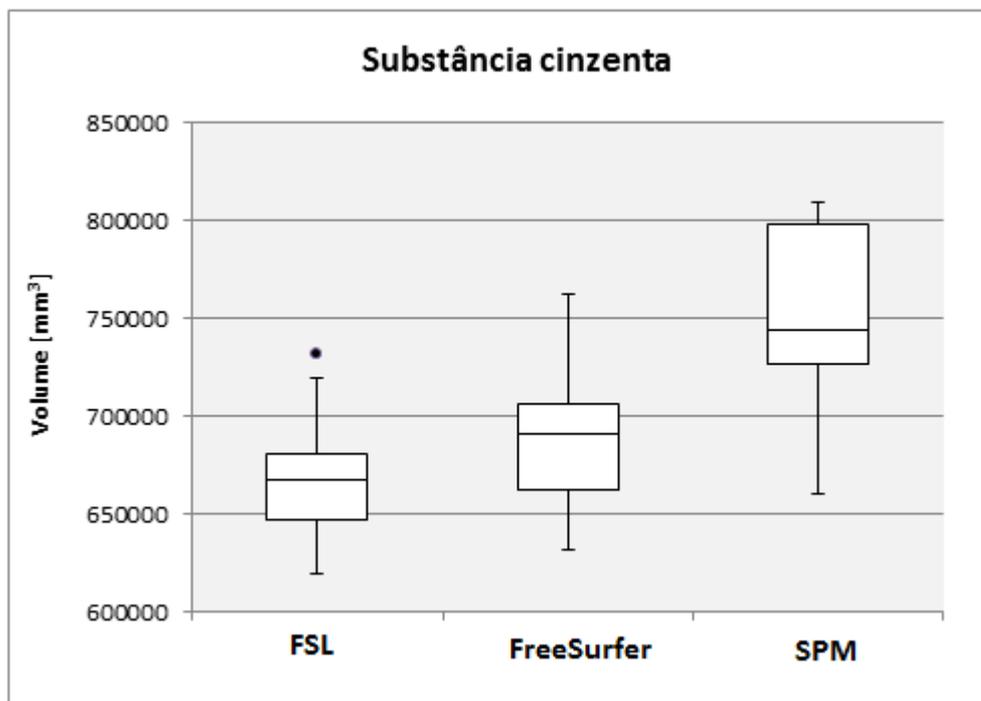


Figura 5.2. Box-plot para a distribuição de dados da substância cinzenta

A variação da dispersão dos dados obtidos na quantificação da substância cinzenta para as três aplicações é apresentada na *Figura 5.2*. O único *outlier* verificado pertence à aplicação FSL e não perturba o sentido geral da comparação das três aplicações. Pode-se verificar que o volume mediano de substância cinzenta cresce do FSL para o FreeSurfer e sofre um aumento significativo do FreeSurfer para o SPM. A dispersão é maior no SPM e menor para o FSL. Os dados apresentam uma assimetria negativa no FSL e no FreeSurfer o que significa que existe uma maior concentração dos valores acima da mediana, enquanto no SPM apresentam uma nítida assimetria positiva, pois há uma concentração dos valores abaixo da mediana. O SPM apresenta a maior amplitude total e o FSL a menor. A dispersão dos valores centrais é bastante superior no SPM que no FreeSurfer e no FSL.

Os valores de substância cinzenta mais elevados são obtidos pelo SPM enquanto os mais baixos pertencem ao FSL. Também se verifica que a dispersão de dados no FSL é a menor. Assim, como a dispersão é menor no FSL e maior no SPM logo, a aplicação mais consistente para a quantificação da substância cinzenta é o FSL e a menos consistente é o SPM.

O FreeSurfer apresenta resultados medianos para a segmentação das substâncias branca e cinzenta, a sua discrepância não é muito elevada em qualquer uma das situações e ocupa sempre o segundo lugar na lista de aplicações mais consistentes para a quantificação de volumes da segmentação cortical. Logo, caso se deseje utilizar somente uma aplicação, o FreeSurfer é a mais indicada para quantificação dos volumes de substância corticais.

### **5.3. SEGMENTAÇÃO SUBCORTICAL**

A segmentação automática de estruturas subcorticais foi efetuada utilizando as aplicações FSL e FreeSurfer. No FSL a segmentação subcortical foi efetuada recorrendo a uma ferramenta de segmentação diferente da utilizada na segmentação cortical. No primeiro caso foi utilizado o FIRST e no segundo caso o FAST. Já, no FreeSurfer a segmentação de estruturas subcorticais foi efetuada na mesma rotina da segmentação cortical.

Na *Tabela 5.5*, são apresentados a média dos volumes obtidos para as diferentes estruturas subcorticais segmentadas, assim como os respetivos desvios padrão. As médias obtidas são semelhantes às referidas na literatura e o desvio padrão obtido para cada estrutura não é elevado tendo em conta que o número de casos estudados é reduzido (Morey, et al., 2009) (Delaloye, et al., 2011) (Fellgiebel, et al., 2011).

Analisando os resultados obtidos é muito difícil concluir quanto à melhor ferramenta para segmentação subcortical, uma vez que dependendo da estrutura e da aplicação utilizada os desvios-padrão variam sem nenhum padrão específico. Não é possível referir a aplicação que teve um maior desvio padrão porque para o tálamo esquerdo o FreeSurfer teve menor mas para a área accumbens direita já foi o FSL. Sendo ainda importante ressaltar que as diferenças dos desvios-padrão para ambas as aplicações são realmente bastante pequenas.

Quanto às médias obtidas foi verificado que as estruturas pálido, área accumbens, núcleo caudado e tálamo (de ambos os hemisférios) apresentam valores de volume médio superior no FSL as restantes apresentam um volume superior no FreeSurfer.

Tabela 5.5. Volumes das estruturas subcorticais segmentadas com o FSL e o FreeSurfer

	Aplicações	
	FSL	FreeSurfer
Média (mm <sup>3</sup> ) ± Desvio padrão (n=10)		
Tálamo esquerdo	8676 ± 551	7245 ± 440
Núcleo caudado esquerdo	3735 ± 422	3643 ± 437
Putâmen esquerdo	5508 ± 469	5947 ± 829
Pálido esquerdo	1958 ± 123	1857 ± 149
Hipocampo esquerdo	4155 ± 390	4210 ± 281
Amígdala esquerda	1414 ± 260	1518 ± 169
Área accumbens esquerda	651 ± 100	613 ± 66
Tronco cerebral	21039 ± 2279	21211 ± 1999
Tálamo direito	8332 ± 453	7247 ± 469
Núcleo caudado direito	3848 ± 358	3838 ± 475
Putâmen direito	5695 ± 775	5706 ± 789
Pálido direito	2025 ± 122	1626 ± 114
Hipocampo direito	4037 ± 400	4196 ± 406
Amígdala direita	1372 ± 299	1545 ± 161
Área accumbens direita	514 ± 87	696 ± 89

É ainda importante referir que o FreeSurfer efetua a segmentação de estruturas subcorticais além das referidas no trabalho, mas o mesmo não acontece no FSL (i. e., este último é muito mais limitado neste aspeto).

De forma semelhante à segmentação cortical foram utilizados *box-plots* para facilitar o estudo da dispersão dos dados obtidos para cada estrutura subcortical. Foram analisadas as estruturas tálamo, hipocampo e amígdala, pois a maioria dos estudos médicos e científicos centram-se nestas estruturas devido à sua importância fisiológica. No entanto, os restantes *box-plots* são apresentados no Anexo B.

Analisando a *Figura 5.3*, verifica-se que tanto no tálamo esquerdo como no direito os volumes medianos quantificados foram superiores na aplicação FSL que na aplicação FreeSurfer. No tálamo esquerdo o valor de dispersão no FreeSurfer é inferior às restantes. No entanto, verifica-se que os resultados relacionados com o

tálamo esquerdo são muito semelhantes nas duas aplicações diferenciando apenas no valor mediano, que no FSL é superior.

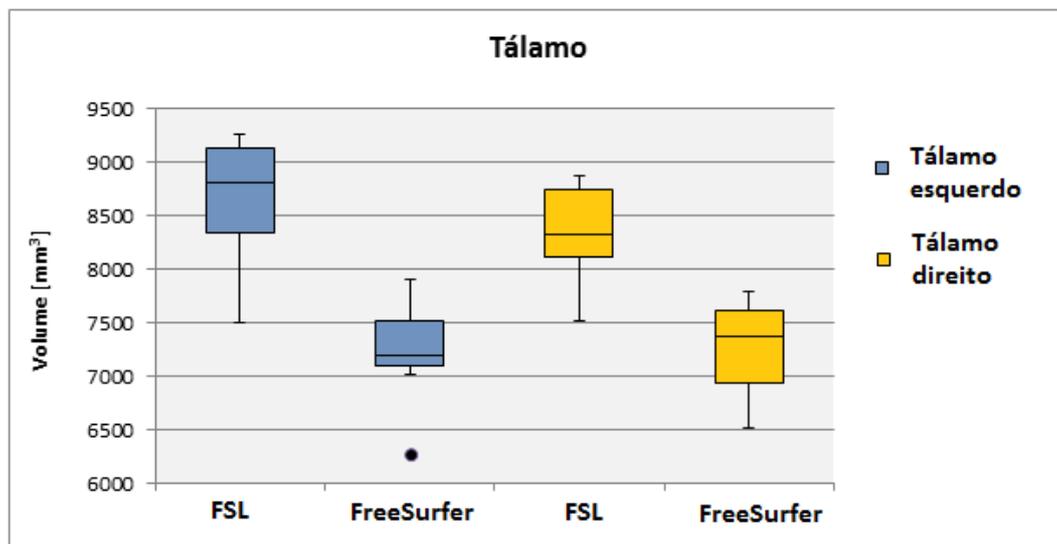


Figura 5.3. Box-plot para a distribuição dos dados obtidos na segmentação do tálamo

Na Figura 5.4, são apresentados os resultados relacionados com a segmentação do hipocampo. Verifica-se que os valores medianos dos volumes obtidos são muito semelhantes. Mas nota-se uma grande dispersão de dados no FSL para o hipocampo esquerdo que no caso do FreeSurfer, apesar de apresentar dois outliers, é bastante mais pequena. Por outro, no hipocampo direito, ambas as aplicações apresentam níveis de dispersão de dados bastante semelhantes.

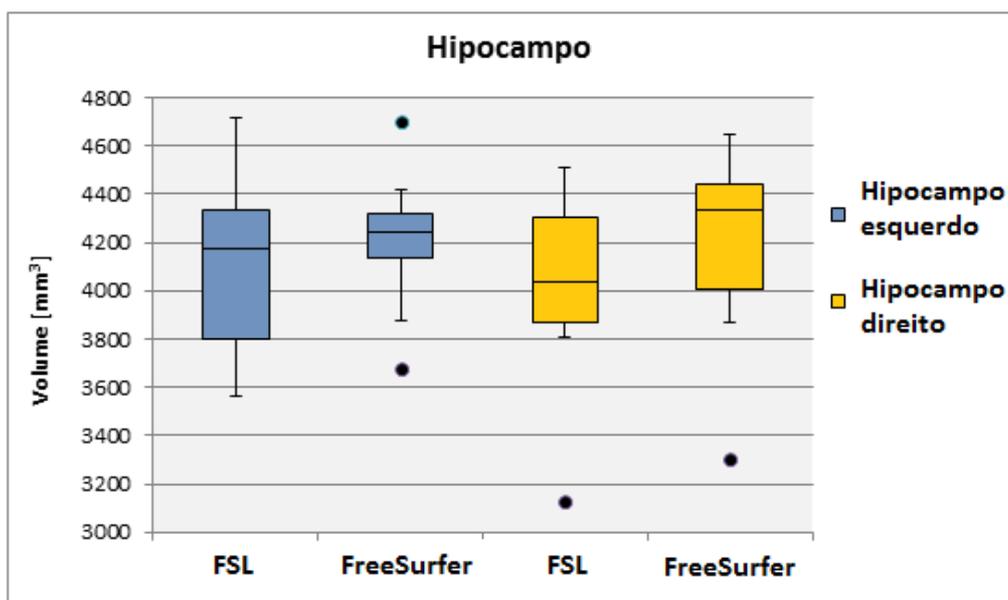


Figura 5.4. Box-plot para a distribuição dos dados obtidos na segmentação do hipocampo

A última estrutura subcortical analisada nesta discussão corresponde à amígdala cuja *box-plot* é apresentada na *Figura 5.5*. Aqui verifica-se que em qualquer um dos hemisférios a aplicação que obteve maior dispersão nos seus resultados foi o FSL. No FreeSurfer a dispersão dos resultados é menor e a mediana dos volumes obtidos um pouco superior.

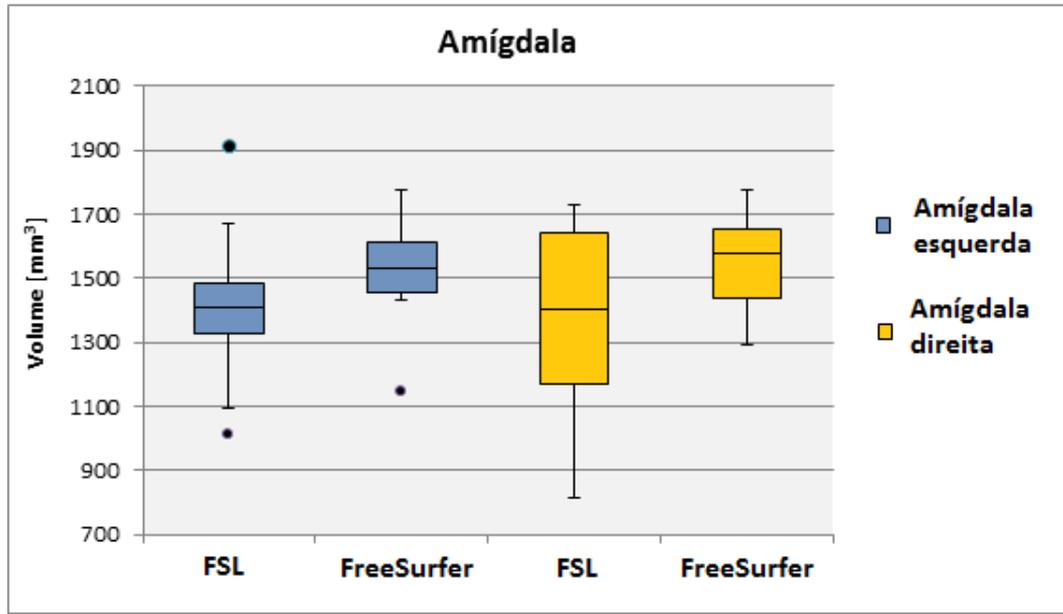


Figura 5.5. *Box-plot* para a distribuição dos dados obtidos na segmentação da amígdala

Dados os resultados obtidos, não é possível avaliar as aplicações a nível de maior consistência. Ambas as aplicações apresentam resultados consistentes e podem ser utilizadas de forma eficiente na segmentação subcortical. A escolha da aplicação mais indicada deve centrar-se noutros parâmetros de avaliação (e. g., interface gráfica, tempo de processamento, facilidade de acesso e utilização).

#### 5.4. ANÁLISE FUNCIONAL

A análise funcional envolveu a aplicação de um caso de estudo constituído por 10 amostras utilizando 3 aplicações distintas (i.e., FSL, SPM e BrainVoyager) o que fez um total de 60 testes. Antes da análise individual foram aplicadas etapas de pré-processamento que envolveram correção de movimentos, co-registo e transformação para o espaço de *template* padrão e suavização com um filtro FWHM de 8mm.

No estudo foram definidas 4 condições: “zero”, “um”, “dois” e “repouso”. A condição “zero” corresponde às ativações de 0-back, “um” às ativações de 1-back, “dois” às ativações de 2-back e “repouso” corresponde ao estado de repouso do sujeito. Utilizando as condições anteriores, foram definidos 3 contrastes que pretendem mapear regiões cerebrais, ou seja, foram definidas as análises: “dois > repouso” que representa as regiões cerebrais onde a condição “dois” está mais ativa que a condição “repouso”; “um > repouso” que representa as ativações onde a condição “um” está mais ativa que a condição “repouso”; e “zero > repouso” que contrasta uma maior ativação da condição “zero” com a “repouso”.

A comparação entre os diferentes contrastes resultou da implementação do teste estatístico “one sample t-test” na análise de grupo RFX. O resultado desta análise estatística é apresentado no *Anexo C*.

Com o objetivo de analisar o contraste “dois > repouso” foi definido, nas 3 aplicações, um  $p < 0.001$  *uncorrected* com um *extent threshold* de 10 vóxeis para a análise de todo o cérebro. O resultado visual destas ativações é apresentado na *Figura 5.6*, em que (A) corresponde à aplicação FSL, (B) ao SPM e (C) ao BrainVoyager.

Analisando as áreas ativas obtidas verifica-se para estas se centram principalmente na região frontal e temporal do cérebro. No SPM foram ativadas 23 regiões diferentes, no FSL foram ativadas 14 e no BrainVoyager foram ativadas 4 regiões. Os *clusters* identificados como ativos são constituídos no mínimo por 10 vóxeis.

A aplicação que apresenta um *cluster* com maior número de vóxeis juntos é o BrainVoyager, pois no núcleo caudado esquerdo foi identificado um *cluster* constituído com 4852 vóxeis e outro constituído por 1197 vóxeis. Nas restantes aplicações, nesta mesma região, foi identificado um *cluster* com 133 vóxeis e no FSL não foi identificado nenhum. No FSL, o *cluster* com maior número de vóxeis encontra-se na parte triangular do giro frontal inferior esquerdo e é constituído 3990 vóxeis ativos e no SPM, o maior número de vóxeis juntos foi identificado em dois *clusters* diferentes situados na área motora superior esquerda e na região frontal superior medial esquerda e direita e constituídos por 1982 vóxeis cada.

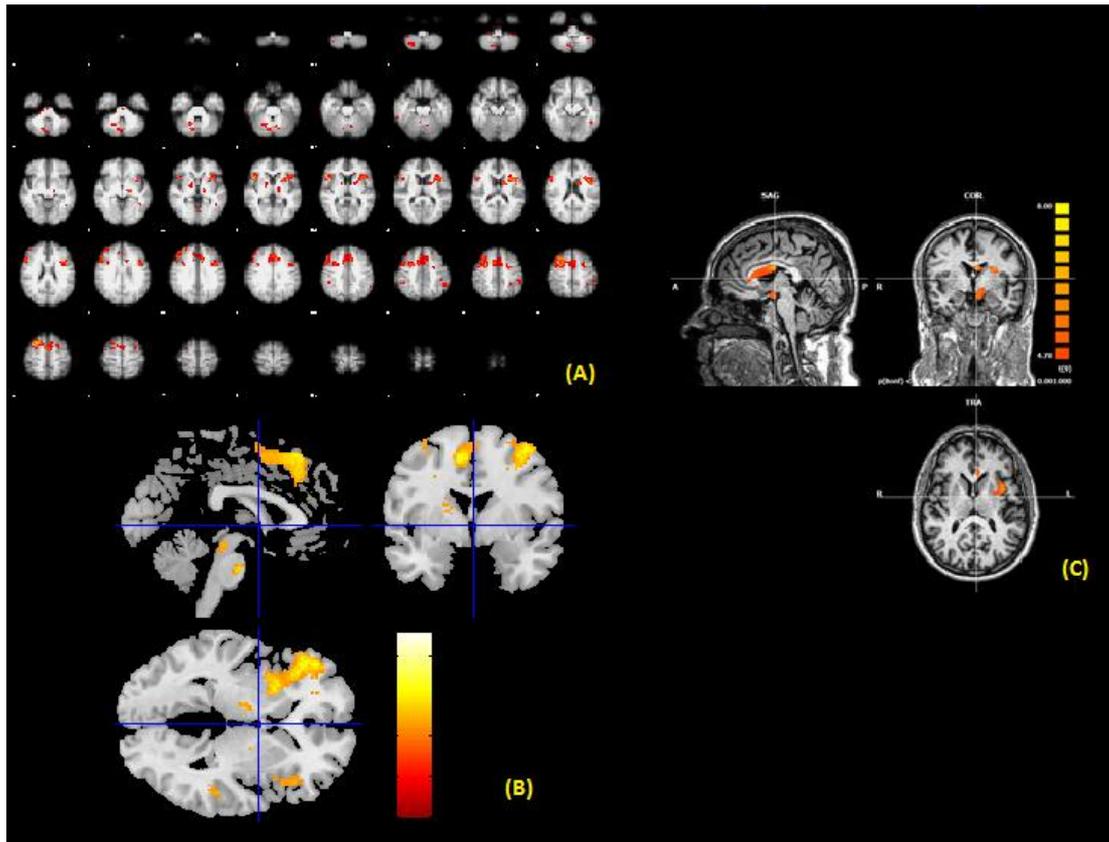


Figura 5.6. Regiões ativas pelo contraste “dois > repouso” com  $p < 0.001$  uncorrected nas aplicações FSL (A), SPM (B) e BrainVoyager (C).

Quanto ao *Z-score* obtido (i. e., significância estatística), no SPM varia entre 3.18 e 4.49. Sendo importante salientar que o maior valor de *Z-score* corresponde à região frontal medial direita e é constituído por 1887 vóxeis. No FSL o *Z-score* varia entre 3.16 e 4.68. Já no BrainVoyager o valor de *Z-score* é muito semelhante variando entre 4.26 e 4.43, denota-se que nesta aplicação o valor de *Z-score* mínimo é mais elevado que nas restantes conseguindo aproximar-se no valor máximo obtido no SPM, isto leva-nos a suspeitar que o BrainVoyager efetua correções estatísticas além das que foram selecionadas pelo utilizador. É ainda importante referir que o *Z-score*, das 3 aplicações, é mais elevado no FSL.

A segunda análise efetuada corresponde ao contraste “um > repouso” e foi utilizado um  $p < 0.001$  uncorrected nas três aplicações. O mapa de ativações obtidas é apresentado na *Figura 5.7*, em que (A) corresponde ao FSL, (B) ao SPM e (C) ao BrainVoyager. Tal como na análise anterior verifica-se que a maioria das ativações está situada na região frontal do cérebro. No SPM foram obtidas ativações em 30 regiões diferentes e *clusters* constituídos por 1972 vóxeis (dois na estrutura insula

esquerda e outro cluster no putâmen esquerdo). Já no FSL foram encontrados *clusters* em 12 zonas diferentes num total de 14 ativações, o cluster com maior número de vóxeis é constituído por 1478 e foi identificado no pálido esquerdo. Já no BrainVoyager somente foram identificadas 3 ativações no entanto, uma delas apresenta um número bastante elevado de vóxeis (i. e., 13166). No que se refere ao Z-score, no BrainVoyager varia entre 4.27 e 4.33. Já no FSL, este valor varia entre 3.28 e 4.43. No SPM, o Z-score máximo situa-se entre 3.22 e 4.98, sendo esta aplicação com o Z-score mais elevado.

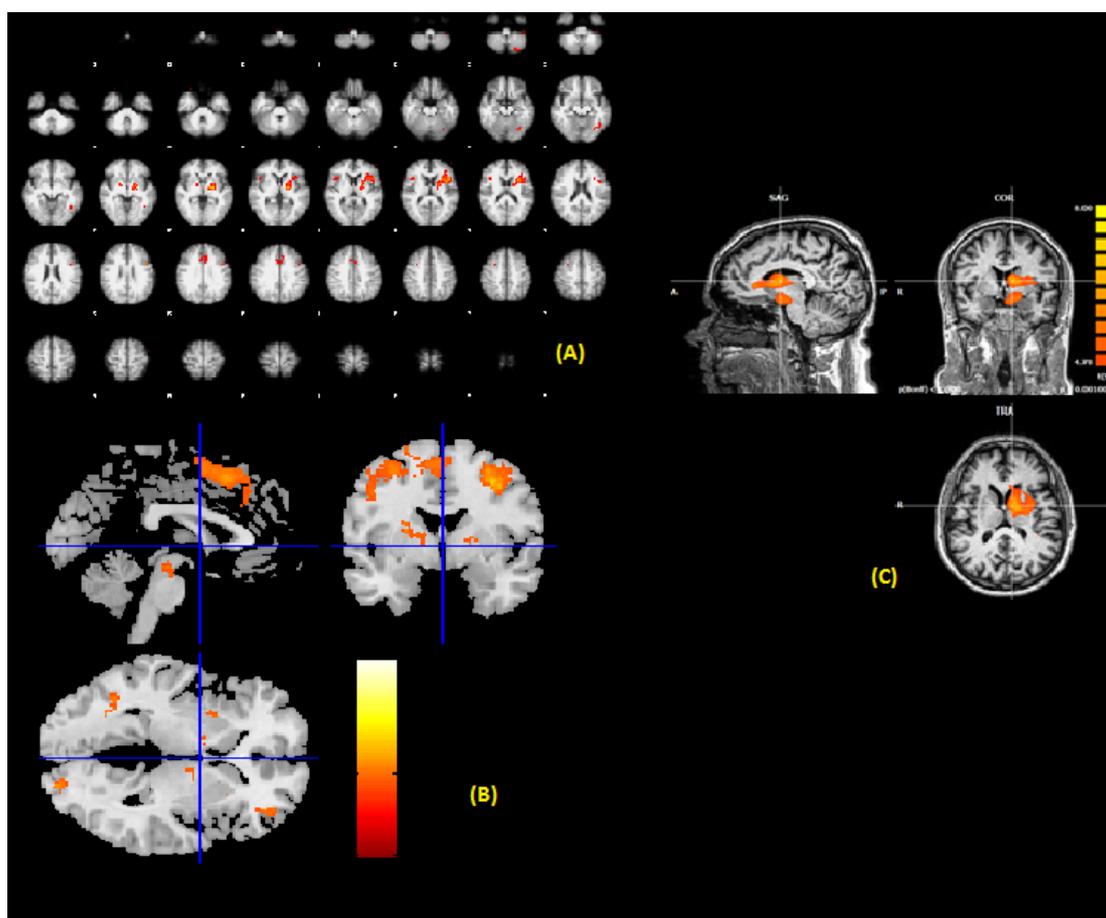


Figura 5.7. Regiões ativas pelo contraste “*um* > *repouso*” com  $p < 0.001$  *uncorrected* nas aplicações FSL (A), SPM (B) e BrainVoyager (C).

A última análise efetuada corresponde ao contraste “*zero* > *repouso*”. Nesta análise foi difícil definir um valor de  $p$  igual nas 3 aplicações, pois o BrainVoyager só apresentava ativações analisáveis com  $p < 0.06$  *uncorrected* e com este nível de significância, nas outras aplicações, as ativações constituíam todo o cérebro o que,

numa análise funcional, não é viável. Assim sendo, foram comparadas as aplicações FSL e SPM com  $p < 0.0001$  *uncorrected*.

Assim para o BrainVoyager com  $p < 0.06$  *uncorrected* foram ativadas 8 regiões, apresentadas na *Figura 5.8*, cerebrais de um total de 10 ativações. Os *clusters* obtidos variam entre 18 e 625 e o valor do Z-score é elevado e varia entre 4.63 e 4.76. As zonas ativadas tal como nas outras aplicações centram-se na zona frontal do cérebro.

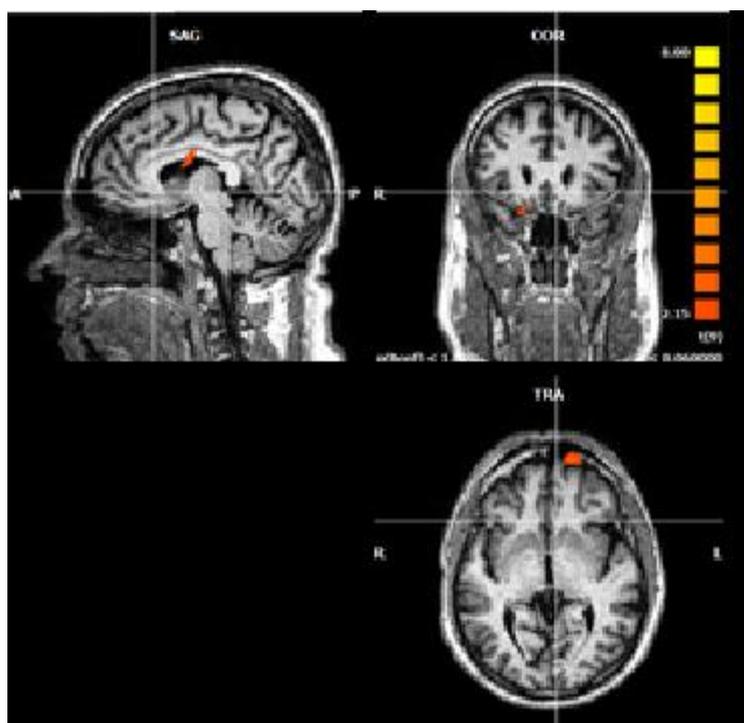


Figura 5.8. Regiões ativas pelo contraste “zero> repouso” com  $p < 0.06$  *uncorrected* na aplicação BrainVoyager.

Nas restantes aplicações foi utilizado  $p < 0.0001$  *uncorrected* e os resultados obtidos são apresentados na *Figura 5.9* em que (A) corresponde ao SPM e (B) ao FSL. No FSL foram obtidas 18 ativações em regiões diferentes de 21 ativações totais em que as áreas mais ativas estão na região frontal do cérebro. Já no SPM, foram obtidas 21 ativações em regiões diferentes. O maior número de vóxeis existentes num *cluster* é de 3958 no SPM e 722 no FSL. No SPM o z-score varia entre 3.79 e 5.95 e no FSL varia entre 3.22 e 5.67, o Z-score mais elevado é obtido no SPM no entanto, no SPM e no FSL os comportamentos são semelhantes.

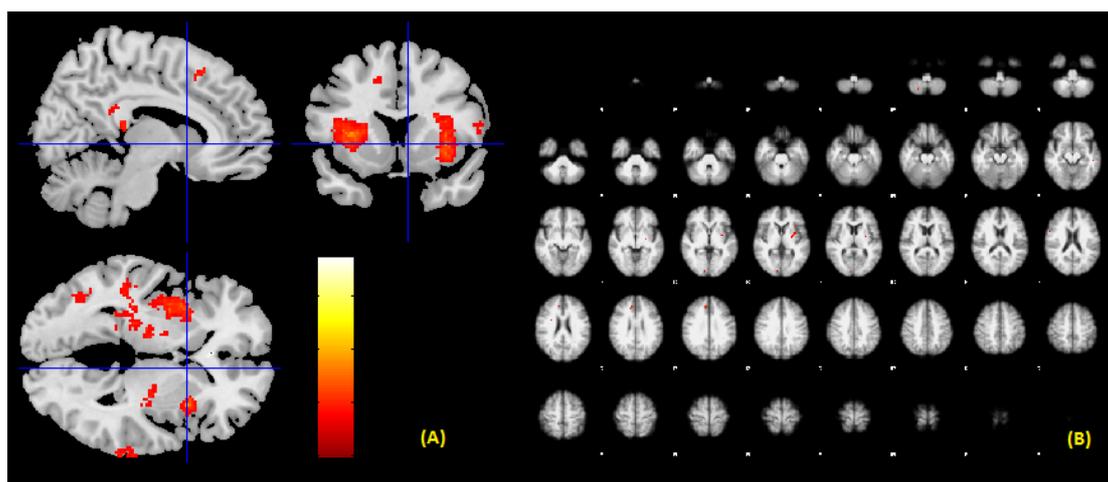


Figura 5.9. Regiões ativas pelo contraste “zero > repouso” com  $p < 0.0001$  *uncorrected* na aplicação SPM (A) e FSL (B).

## 5.5. SINOPSE

O trabalho desenvolvido centrou-se no estudo da consistência e fiabilidade de ferramentas informáticas aplicadas em casos de estudo de neuroimagem. Desta forma, com o intuito de selecionar as aplicações a serem testadas, foram identificadas os diversos pacotes de *software* disponíveis para neuroimagem e destes foram selecionadas 3 para um estudo estrutural e outros 3 para um estudo funcional. Os critérios de inclusão das aplicações nos estudos estão relacionados com a existência de documentação acessível e com uma elevada frequência de utilização destas aplicações em estudos científicos.

Por outro lado, foi feita uma exploração bibliográfica extensiva relacionada com a RM, nomeadamente: a RMf e a RMe. São apresentados os princípios básicos relacionados com a técnica de RM convencional, principais protocolos utilizados, principais aplicações, ferramentas que se associam diretamente ao estudo de RM e definições relacionadas com os métodos de análise estrutural e funcional.

Com o desenvolvimento do trabalho foi surgindo a necessidade de dominar os procedimentos efetuados nos estudos estruturais e funcionais, assim, foi necessário distinguir conceitos como morfometria, segmentação ou volumetria e entender melhor os princípios de RMf (e.g., efeito BOLD, análise GLM).

Na análise volumétrica cerebral foi estudado o desempenho dos *software* FSL, SPM e FreeSurfer através da aplicação de cada ferramenta ao mesmo caso de estudo, constituído por 10 sujeitos. Assim, foi efetuada a segmentação cortical dos 10 sujeitos, cujo resultado final foi a quantificação dos volumes de SB e SC. O processo repetiu-se, mas para a segmentação subcortical, e aqui não foi utilizado o SPM, pois não apresenta ferramentas capazes de segmentar estruturas subcorticais.

Tal como no estudo anterior, a análise funcional iniciou-se com a seleção de três aplicações (i.e., SPM, FSL e BrainVoyager) e, seguidamente, foram efetuados 10 casos de estudo tendo em conta a análise individual e um estudo de grupo RFX baseado nesses resultados individuais.

Assim, foram pré-processados os 10 indivíduos aplicando etapas de correção de movimentos e suavização utilizando um filtro FWHM de 8mm. Após o pré-processamento dos dados funcionais é feito o co-registo com os dados anatómicos e a transformação destes dados para um espaço de *template* padrão (i. e., para o espaço MNI no SPM e FSL e para o espaço de Talairach no BrainVoyager). Foram efetuadas análises estatísticas de grupo utilizando um nível de significância de 0.001 *uncorrected* para os contrastes “*dois > repouso*” e “*um > repouso*”. Para o terceiro contraste estudado, “*zero > repouso*”, só foram comparadas as aplicações FSL e SPM devido ao facto de ter sido impossível obter o mesmo nível de significância nas 3 aplicações. As razões desta impossibilidade no BrainVoyager prendem-se no facto de esta aplicação ser comercial e de código fechado e o utilizador não tem acesso a todas as “decisões” que a aplicação toma na análise estatística. Do mesmo modo, nos estudos individuais o BrainVoyager faz a correção FWE automaticamente e isto leva a que o valor de  $p$  seja mais elevado nesta aplicação que nas restantes, para as mesmas ativações. A verificação das regiões ativas foi feita recorrendo ao *template* “*aal*” disponível no MRICron. Foi ainda necessário converter as coordenadas que se encontravam no espaço de Talairach para o espaço de MNI utilizando a rotina “*tal2mni*” disponível para o MatLab e também foi necessária a conversão do valor de  $T$  máximo para o  $Z$ -score.

O trabalho culminou com a análise estatística dos resultados volumétricos através de médias, desvios-padrão e estudo da dispersão dos dados. Os resultados funcionais

foram avaliados consoante a semelhança dos resultados do estudo de grupo (i.e., região ativada no estudo, número de clusters ativos e tamanho dos mesmos). Por fim, foram descritas todas as decisões tomadas e os resultados obtidos.

## 5.6. CONCLUSÕES

A aplicação da RM em neuroimagem está diretamente relacionada com o desenvolvimento de tecnologias e aplicações informáticas que facilitem o processo de estudo do cérebro. Como tal, foram desenvolvidas ferramentas informáticas capazes de processar dados anatómicos e funcionais do cérebro humano. No entanto, este processo de análise ainda não se encontra perfeitamente padronizado e consequentemente as diversas ferramentas não apresentam interoperabilidade entre elas.

Este problema é particularmente relevante quando é necessário escolher a aplicação informática mais indicada para um estudo de RM estrutural ou funcional, pois nem todas as aplicações funcionam da mesma forma e consequentemente os resultados finais variam de aplicação para aplicação.

Com o presente trabalho pretendeu-se apresentar as principais características das ferramentas informáticas previamente selecionadas e aplicadas em casos de estudo de neuroimagem funcional e estrutural, verificar qual a ferramenta que mais se adequa para este tipo de estudos e indicar qual a aplicação mais consistente em termos de resultados volumétricos e funcionais.

O trabalho culminou com a quantificação dos volumes de SB, SC e estruturas subcorticais, que resultou da segmentação dos 10 casos práticos, utilizando as 3 ferramentas selecionadas para análise estrutural. Na análise funcional, foi efetuado um estudo de grupo constituído por 10 casos práticos aplicados em 3 ferramentas de *software* distintas e foram obtidos os mapas das ativações em todo o cérebro, assim como as coordenadas centrais dessas ativações, o valor do *Z-score* relacionado com a análise estatística da mesma e com a utilização da ferramenta MRICron foram identificadas as regiões onde pertencem as respetivas ativações.

Dos resultados obtidos na quantificação da SB e SC verifica-se que a aplicação mais consistente para segmentação da SC é o FSL e a mais consistente para a SB é o SPM. No entanto, como na quantificação de estruturas cerebrais a segmentação subcortical também é relevante então, se levarmos este aspeto em consideração, o SPM, apesar de apresentar bons resultados na segmentação cortical, é excluído da lista dos mais adequados para a segmentação cerebral, ficando a decisão entre o FSL e o FreeSurfer.

O FSL apresenta-se como sendo de apreensão mais difícil que o FreeSurfer, pois é menos automático que este último. No entanto, o FSL consegue ser mais rápido e dá ao utilizador um maior controlo sobre as opções de segmentação e ainda permite fazer *scripts* que automatizam imenso o processo de segmentação. Por outro lado, a aplicação BET no FSL, essencial na análise estrutural, necessita de uma constante intervenção do utilizador para avaliar a correta extração do crânio. Do mesmo modo as restantes ferramentas do FSL exigem a constante presença do utilizador em todas as etapas de segmentação para avaliar a qualidade dos resultados e iniciar a etapa seguinte. Por outro lado, isto não acontece no FreeSurfer, este é automatizado e os resultados só podem ser avaliados e corrigidos no final da aplicação executar a segmentação. Quanto à quantificação dos dados, no FSL é necessária a introdução constante de instruções a partir linha de comandos para cada estrutura segmentada enquanto no FreeSurfer estes volumes são exportados para um ficheiro de texto que pode ser acedido em qualquer SO.

O tempo de processamento necessário nestes estudos é bastante elevado. No FreeSurfer a análise volumétrica individual demora cerca de 18 horas (dependendo da máquina utilizada), no FSL e no SPM a mesma análise é bastante mais rápida e não depende tanto da máquina utilizada, mas sim do correto domínio, por parte do utilizador, das ferramentas necessárias na análise. No entanto, em qualquer uma das aplicações a quantificação dos volumes é bastante morosa, principalmente para os volumes subcorticais, porque exige a consulta de cada estatística individualmente.

Analisando estes fatores, conclui-se que tanto o FSL como o FreeSurfer são as mais indicadas para a segmentação cerebral, no entanto como o FreeSurfer é mais consistente, comparando as diferentes estruturas analisadas (e.g., SB, SC e

subcorticais), conclui-se que esta é a aplicação mais indicada para análises estruturais centradas na segmentação de estruturas corticais e subcorticais.

Tendo em conta os resultados obtidos na análise funcional, conclui-se que o BrainVoyager não é o mais adequado para este tipo de estudo, apesar de ter outras aplicações extremamente interessantes e apresentar as melhores ferramentas para visualizações dos resultados e ainda é a aplicação mais agradável ao utilizador.

O SPM é a aplicação que apresenta mais *clusters* ativos em qualquer uma das condições. Em ambas as aplicações as regiões ativas são semelhantes e centram-se nas regiões frontal e temporal do cérebro. O valor do *Z-score* mais elevado para os contrastes “zero> repouso” e “um> repouso” pertence à aplicação SPM e o maior *Z-score* obtido para o contraste “dois> repouso” pertence à aplicação FSL. Além do mais, tendo em conta o fluxo de processamento, a aplicação SPM é mais rápida e fornece, ao utilizador, um maior controlo dos diferentes parâmetros do estudo, que as restantes aplicações.

Deste modo, tanto o FSL como o SPM são indicados para análises de grupo, no entanto aconselha-se a utilização do SPM para este tipo de estudo porque tem a ele associado diversas ferramentas acessórias (e.g., XJView para visualização de resultados) que potenciam melhores resultados, é mais rápido e fornece ao utilizador um maior controlo sobre os resultados.

No estudo funcional salienta-se a falta de interoperabilidade entre as aplicações, até mesmo na diferença entre termos utilizados para descrever as mesmas situações de imagiologia.

Por fim, a presente dissertação permitiu o acesso às mais diversas aplicações de análise funcional e estrutural de neuroimagens, tanto ferramentas de conversão de formatos e de *templates*, como ferramentas para análise estrutural e análise funcional.

Concluindo, os resultados deste trabalho têm especial importância como contributo na seleção da ferramenta de análise de RMe e RMf indicada para cada tipo de situação, daí que todas as opções tomadas tenham sido descritas com bastante detalhe.

## 5.7. TRABALHO FUTURO

Como término do trabalho desenvolvido é salientada a necessidade de que as diferentes ferramentas de análise de RMf e RMe necessitam de ser padronizadas. O mesmo se pode aferir relativamente às técnicas utilizadas neste tipo de análise.

Durante todo o trabalho experimental foram surgindo possíveis melhoramentos das aplicações estudadas, no entanto como a neuroimagem ainda está a sofrer um profundo desenvolvimento tecnológico verifica-se que estas aplicações têm acompanhado esta mesma evolução e têm fornecido aos utilizadores constantes atualizações que visam a melhoria estatística, dos algoritmos e das interfaces disponíveis.

De forma a alargar o estudo efetuado além da análise funcional e estrutural pode ser feito um estudo relacionado com a imagem por tensor de difusão. Dentro de cada estudo podem ainda ser estudadas outras técnicas (e.g., VBM para estudos estruturais). No entanto, este tipo de estudos seria bastante moroso devido à existência de protocolos de processamento bastante complexos.

Outra forma de melhorar o estudo feito é analisar mais aplicações para cada tipo de análise, assim como o número de casos de aplicações devia ser maior e aplicado a outras idades e situações clínicas para assim se ter uma melhor noção do comportamento dos diferentes *software* e melhor avaliar a consistência destas aplicações.

---

## REFERÊNCIAS

---

- Alonso, Á. D. C., 2011. *Improvement of MRI brain segmentation*, Dinamarca: Informatics and Mathematical Modelling - MSC.
- Ambarki, K. et al., 2012. Evaluation of Automatic Measurement of the Intracranial Volume Based on Quantitative MR Imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*.
- Analyze, 2012. *ANALYZE 7.5 File Format*. [Online] Available at: <http://eeg.sourceforge.net/ANALYZE75.pdf> [Acedido em 9 Setembro 2012].
- Ashburner, J. & Friston, K. J., 2005. Unified segmentation. *NeuroImage*, Volume 26, pp. 839-851.
- Bandettini, P., 2007. *Functional MRI today*. s.l.:Elsevier.
- Bandettini, P. A. et al., 1992. *Time course epi of human brain function during task activation*.
- Barker, G. J. & Amaro, E., 2006. Study design in fMRI: Basic principles. *Brain and Cognition*, pp. 220-232.
- Barra, V., Klauschen, F. & Lundervold, A., 2007. *Evaluation of MR-brain-volumetry methods*. [Online] Available at: <http://limos.isima.fr/IMG/pdf/RR-07-08.pdf>[Acedido em 26 Maio 2012].
- Belliveau, J. W. et al., 1990. Functional cerebral imaging by susceptibility contrast NMR. *Magn Resn Med*, Volume 14, pp. 538-546.
- Borsook, D., Beccera, L., Bullmore, E. & Hargreaves, R., 2012. *Imaging in CNS Drug Discovery and Development*. EUA: Springer.
- Brain Research Imaging Centre, 2012. *Functional MR Imaging*. [Online] Available at: <http://www.sbirc.ed.ac.uk/research/techniques/functional.html> [Acedido em 25 Março 2012].
- Brown, M. A. & Semelka, R. C., 2003. *MRI: Basic Principles and Applications*. 3ª Ed. ed. EUA: Wiley-Liss.
- Bui, A. T. & Taira, K. R., 2010. *Medical Imaging Informatics*. s.l.:Springer.
- Byrum, C. E. et al., 1996. Accuracy and reproducibility of brain and tissue volumes using a magnetic resonance segmentation method. *Psychiatry Res.*, Volume 67, pp. 215-234.

Caviness, V. et al., 1999. *MRI-based brain volumetrics: emergence of a developmental brain science*. s.l., Elsevier.

Center for Advanced Brain Imaging, 2011. *The DICOM Standard*. [Online] Available at: <http://www.cabiatl.com/micro/dicom/index.html> [Acedido em 9 Setembro 2012].

Chard, D. T. et al., 2002. The Reproducibility and Sensitivity of Brain Tissue Volume Measurements Derived From an SPM-Based Segmentation Methodology. *J Magn Reson Imaging*, Volume 15, pp. 259-267.

Clark, K. A. et al., 2006. Impact of acquisition protocols and processing streams on tissue segmentation of T1 weighted MR images. *NeuroImage*, Volume 20, pp. 185-202.

Courchesne, E. et al., 2000. Normal Brain Development and Aging: Quantitative Analysis at in Vivo MR Imaging in Healthy Volunteers. *Neuroradiology*, Volume 216, pp. 672-682.

Delaloye, C. et al., 2011. Longitudinal analysis of cognitive performances and structural brain changes in late-life bipolar disorder. *Int J Geriatr Psychiatry*.

Evans, A. C., Janke, A. L., Collins, D. L. & Baillet, S., 2012. Brain templates and atlases. *NeuroImage*, Volume 62, pp. 911-922.

Faro, S. H. & Mohamed, F. B., 2006. *Functional MRI*. s.l.:Springer.

Fellgiebel, A., Wolf, D. O., Kolodny, E. & Müller, M. J., 2011. Hippocampal atrophy as a surrogate of neuronal involvement in Fabry disease. *J Inherit Metab Dis*.

Filippi, M., 2009. *fMRI Techniques and Protocols*. s.l.:Humana Press.

FIRST, 2012. *First/ User Guide*. [Online] Available at: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST/UserGuide>

FIRST, 2012. *Labels*. [Online] Available at: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST/UserGuide#Labels>

Fischl, B., 2010. *Opensubscriber*. [Online] Available at: <http://www.opensubscriber.com/message/freesurfer@nmr.mgh.harvard.edu/14751629.html> [Acedido em 25 09 2012].

FMRIB Centre, 2012. *FEAT*. [Online] Available at: <http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/research/feat/> [Acedido em Setembro 7 2012].

FreeSurfer, 2007. *WM Volume & CSF & BPF*. [Online] Available at: <https://mail.nmr.mgh.harvard.edu/pipermail/freesurfer/2007-October/006411.html>

[Acedido em 25 Setembro 2012].

FreeSurfer, 2012. *FreeSurferWiki*. [Online] Available at: <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki> [Acedido em 31 Outubro 2011].

FreeSurfer, 2012. *Recommended Reconstruction*. [Online] Available at: <http://www.freesurfer.net/fswiki/RecommendedReconstruction> [Acedido em 8 Outubro 2012].

Frisoni, G. B. et al., 2010. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.*, Volume 6, pp. 67-77.

Friston, K. J. et al., 2007. *Statistical Parametric Mapping: The Analysis of Functional Brain Images*. s.l.:Academic Press.

Friston, K. j., Jezzard, P. & Turner, R., 1994. Analysis of functional MRI time series. *Human Brain Mapping*, Volume 1, pp. 153-171.

Functional MRI Research Center, 2011. *About functional MRI (General)*. [Online] Available at: <http://www.fmri.org/fmri.htm> [Acedido em 12 Dezembro 2011].

Giacomantone, J. O., 2005. *Ressonância Magnética Funcional com Filtragem pela Difusão Anisotrópica Robusta*, São Paulo: s.n.

Gitelman, D., 2009. *JiscMail*. [Online] Available at: <https://www.jiscmail.ac.uk/cgi-bin/webadmin?A2=spm;242ede5a.0901> [Acedido em 25 Setembro 2012].

Goebel, R., 2012. *BrainVoyager QX Presentations –Principles of GLM Analysis..* [Online] Available at: <http://www.brainvoyager.com> [Acedido em 20 Junho 2012].

Goebel, R., Esposito, F. & Formisano, E., 2006. Analysis of FIAC data with BrainVoyager QX: From single subject to cortically aligned group GLM analysis and self-organizing group ICA. *Human Brain Mapping*.

Góis, J. R., 2007. *Mapeamento de áreas visuais em cérebros sujeitos a reconstrução plana, usando ressonância magnética estrutural e funcional*, Coimbra: Ibili.

Gold, S. et al., 1998. Functional MRI Statistical Software Packages: A Comparative Analysis. Volume 6, pp. 73-84.

Gorgolewski, K. et al., 2011. Nipype: a flexible, lightweight and extensible neuroimaging data processing framework in Python. Volume 5.

Greenspan, H., Ruf, A. & Goldberger, J., 2006. Gaussian mixture model framework for automatic segmentation of MR brain images. *EEE Trans Med Imaging*, Volume 25, pp. 1233-1245.

Guy, C. & Ffytche, D., 2005. *An Introduction to The Principles of Medical Imaging*. London: Imperial College Press.

Jezzard, P., M., M. P. & Smith, S. M., 2001. *Functional MRI: An Introduction to Methods*. Oxford: Oxford University Press.

Keller, S. S. & Roberts, N., 2009. Measurement of brain volume using MRI: software, techniques, choices and prerequisites. Volume 87, pp. 127-151.

Klauschen, F. et al., 2009. Evaluation of Automated Brain MR Image Segmentation and Volumetry Methods. *Hum Brain Mapp*, Volume 30, pp. 1310-1327.

Kowkabzadeh, K., 2012. *Evaluations of Tissue Segmentation of brain MR Images*, Suécia: Chalmers University of Technology.

Kringelbach, M. L., 2003. *FEAT - FMRI Expert Analysis Tool*. s.l.:s.n.

Lüders, E., Steinmetz, H. & Jäncke, L., 2002. Brain size and grey matter volume in the healthy human brain. *Neuroreport*, Volume 13, pp. 2371-2374.

Lundervold, A., Taxt, T., Ersland, L. & Fenstad, A. M., 2000. Volume distribution of cerebrospinal fluid using multispectral MR imaging. *Medical Image Analysis*, Volume 4, pp. 123-136.

Lynei, G., 2006. *MRI in clinical Practice*. UK: Springer.

Max Planck Institute for Neurological Research Cologne, 2012. *Image Formats*. [Online] Available at: <http://www.nf.mpg.de/vinci3/doc/image-formats.html> [Acedido em 9 Setembro 2012].

Mazzola, A., 2009. Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional. *Rev Bras Física Médica*, Volume 3, pp. 117-129.

McCarley, R. W., 2002. Structural Magnetic Resonance Imaging Studies in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*.

McRobbie, D. W., Moore, E. A., Graves, M. J. & Prince, M. R., 2006. *MRI From Picture to Proton*. Reino Unido: Cambridge University Press.

Mietchen, D. & Gaser, C., 2009. Computational morphometry for detecting changes in brain structure due to development, aging, learning, disease and evolution. Volume 3:25.

Morey, R. A. et al., 2009. A comparison of automated segmentation and manual tracing for quantifying hippocampal and amygdala volumes. *NeuroImage*, Volume 45, pp. 855-866.

Morgan, V. L., Dawant, B. M., Li, Y. & Pickens, D. R., 2007. Comparison of fMRI statistical software packages and strategies for analysis of images containing random and stimulus-correlated motion. Volume 31, pp. 436-446.

Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R. & Tank, D. W., 1990. Brain Magnetic Resonance Imaging with Contrast Dependent on Blood Oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Volume 87, pp. 9868-9872.

Ogawa, S. et al., 1992. Intrinsic Signal Changes Accompanying Sensory Stimulation: Functional Brain Mapping with Magnetic Resonance Imaging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Volume 89, pp. 5951-5955.

P., B., 2007. *Functional MRI today*. s.l.:Elsevier.

Pastorello, B. F., 2011. *Em busca região epileptogênica em pacientes com epilepsia do lobo temporal: métodos alternativos baseados em fMRI e EEG - fMRI*, Brasil: s.n.

Poldrack, R. A., Mumford, J. A. & Nichols, T. E., 2011. *Handbook of Functional MRI Data Analysis*. s.l.:Cambridge University Press.

Richardson, F. M. & Price, C. J., 2009. Structural MRI studies of language function in the undamaged brain. *Brain Struct Funct*, Volume 213, pp. 511-523.

Rorden, C., 2002. *The anterior commissure*. [Online] Available at: [http://www.cabiatl.com/micro/anatomy/na\\_ac.html](http://www.cabiatl.com/micro/anatomy/na_ac.html) [Acedido em 4 Outubro 2012].

Seixas, F. L. et al., 2010. *Anatomical Brain MRI Segmentation Methods: Volumetric Assessment of the Hippocampus*. s.l., 17th International Conference on Systems, Signals and Image Processing.

Shah, L. M., Anderson, J. S., Lee, J. N. & Wiggins, R. I., 2010. *Functional Magnetic Resonance Imaging*. Elsevier.

Shen, Q., 2011. *Volumetric Analysis of Brain MRI for alzheimer's Disease*, Miami: University of Miami.

Siemens Corporation, 2012. *MAGNETOM Avanto 1.5T*. [Online] Available at: <http://www.usa.siemens.com/entry/en/?tab=healthcare> [Acedido em 27 Setembro 2012].

Siemens, 2011. *Functional Magnetic*. [Online] Available at: [www.usa.siemens.com/healthcare](http://www.usa.siemens.com/healthcare) [Acedido em 12 Dezembro 2011].

Storey, P., 2006. Introduction to Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy. In: *Magnetic Resonance Imaging: Methods and Biologic Applications*. EUA: Humana Press.

Suetens, P., 2009. *Fundamentals of Medical Imaging*. UK: Cambridge University Press.

Symms, M., Jäger, H. R., Schmierer, K. & Yousry, T. A., 2004. A review of structural magnetic resonance neuroimaging. Volume 75, p. 1235–1244.

The Oxford Centre for Functional MRI of the Brain, 2012. *FAST*. [Online] Available at: <http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/research/fast/> [Acedido em 12 Fevereiro 2012].

Westbrook, C., 2002. *MRI at a Glance*. EUA: Blackwell Science.

Zhanf, Y., Brady, M. & Smith, S., 2001. Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Trans Med Imaging*, Volume 20, pp. 45-57.

# APÊNDICE A

## PACOTES DE APLICAÇÕES DISPONÍVEIS PARA RM

Tabela A.1. Alguns pacotes de *software* disponíveis para transformação de imagens de RMe volumetria

Aplicações	Referência	Compatibilidade	Custo	Funções	Experiência do utilizador
<b>AFNI</b>	Medical College of Wisconsin, Milwaukee, US; <a href="http://afni.nimh.nih.gov/afni/">http://afni.nimh.nih.gov/afni/</a>	Corre em Linux, Mac OS e SUN	Grátis	Visualização 2D e 3D e reformatação	Conhecimentos de orientação de imagem e de alguma neuroanatomia
<b>ANALYZE</b>	MAYO Foundation, Minnesota, US; <a href="http://ndc.mayo.edu/mayo/research/robb_lab/analyze.cfm">http://ndc.mayo.edu/mayo/research/robb_lab/analyze.cfm</a>	Corre em Windows, Linux e SUN	Depende do tipo de licença	Visualização 2D e 3D, reformatação, demarcação de ROI, quantificação de ROI utilizando estereologia e tracing, reconstrução cortical	Conhecimentos de orientação de imagem, alguma neuroanatomia dependendo da necessidade do utilizador
<b>ANIMAL</b>	Montreal Neurological Institute, McGill University, Canada; Collins et al. (1994, 1995); <a href="http://www.bic.mni.mcgill.ca/users/louis/MNI_ANIMAL_home/readme">www.bic.mni.mcgill.ca/users/louis/MNI_ANIMAL_home/readme</a>	Corre em Linux e SUN	Grátis	Normalização espacial de imagens de RM	Procedimento automático
<b>BrainVoyager</b>	Brain Innovation; <a href="http://www.brainvoyager.com">www.brainvoyager.com</a>	Correr em Windows, Linux ou Mac OS	Depende do tipo de licença	Visualização 2D e 3D, reformatação, demarcação e extracção de ROI's, quantificação básica de ROI, segmentação de tecidos e reconstrução cortical	Depende das necessidades do utilizador. A segmentação é automática, mas a demarcação e extracção de ROI's necessita que o utilizador tenha conhecimentos de neuroanatomia

<b>Brains</b>	University of Iowa Hospitals and Clinics, College of Medicine, Iowa City, IA, US; Andreasen et al. (1996); <a href="http://www.nitrc.org/projects/brains">www.nitrc.org/projects/brains</a>	Corre em Mac OS	Grátis	Visualização 2D e 3D, quantificação de ROI's, segmentação de tecidos, reconstrução de superfície	Para a quantificação de ROI's são necessários conhecimentos de neuroanatomia
<b>Easymeasure</b>	MARIARC, University of Liverpool, UK; Keller et al. (2007c); <a href="http://www.liv.ac.uk/mariarc">www.liv.ac.uk/mariarc</a>	Corre em Windows	Grátis	Visualização 2D e medições estereológicas	Conhecimentos gerais de neuroanatomia
<b>FreeSurfer</b>	Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts, US; <a href="http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu">http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu</a>  Artigos: <a href="http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/Articles">http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/Articles</a>	Corre em Linux e Mac OS	Grátis mas a componente FS-FAST requer licença do MatLab	Visualização 2D e 3D, reformatação, extração do cérebro, segmentação de tecidos, normalização espacial, reconstrução cortical, inflação cortical, flatmapping, quantificação de ROI's	Depende das necessidade do utilizador. A maioria da segmentação e normalização é automática, mas a demarcação e quantificação das ROI's necessita que o utilizador tenha conhecimentos profundos em neuroanatomia
<b>FSL</b>	Oxford Centre for Functional MRI of the Brain (FMRIB);  <a href="http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl">www.fmrib.ox.ac.uk/fsl</a>	Corre em Windows, Linux, Mac OS e SUN	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, extração do cérebro, segmentação de tecidos, normalização espacial, suavização, construção de templates estereográficos, VBM	Tem uma interface "button pressing" não é necessária muita interação com a imagem, o utilizador deve ter alguns conhecimentos de neuroanatomia
<b>ImageJ</b>	National Institutes of Health, US ;  <a href="http://rsb.info.nih.gov/ij">http://rsb.info.nih.gov/ij</a>	Corre em Windows, Linux e Mac OS	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, melhoramento, edição e medições básicas	Conhecimentos de orientação de imagem e de neuroanatomia básica dependendo das necessidades do utilizador
<b>LowD</b>	MARIARC, University of Liverpool, UK; Barrick et al. (2005);	Corre em Linux e SUN	Grátis mas utiliza a segmentação no	Extração automática de hemisférios e calculo de volumes,	É utilizada a linha de comandos (processamento de batch) e não

	<a href="http://www.liv.ac.uk/mariarc">www.liv.ac.uk/mariarc</a>		SPM que necessita de licença para o MatLab	análise automática de assimetrias cerebrais	necessita de interação com a imagem de RM
<b>Measure</b>	Centre for Imaging Science, John Hopkin's University, Maryland, US; Barta et al. (1997); <a href="http://cis.jhu.edu">http://cis.jhu.edu</a>	Corre em Windows	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, medições estereológicas e de tracing utilizando secções ortogonais	Conhecimentos de orientação de imagem e de neuroanatomia básica para a quantificação
<b>MRicro</b>	Rorden and Brett (2000); <a href="http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mri-cro.html">www.sph.sc.edu/comd/rorden/mri-cro.html</a>	Corre em Windows, Linux e Sun	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, reconstrução de superfície, stripping do crânio e criação de ROI label	Conhecimentos de orientação de imagens e neuroanatomia básica dependendo das necessidades do utilizador
<b>SPM</b>	Wellcome Department of ImagingNeuroscience, University College London; <a href="http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm">www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm</a>	Corre em Windows, Linux, Mac OS ou SUN	Grátis mas necessita de licença para MatLab ( <a href="http://www.mathworks.com">www.mathworks.com</a> ) cujo o preço depende do tipo de licença	Visualização 2D e 3D, reformatação, extração do cérebro, segmentação de tecidos, normalização espacial, suavização, construção de templates esteriográficos e VBM	Tem uma interface "button pressing" não é necessária muita interação com a imagem, o utilizador deve ter alguns conhecimentos de neuroanatomia e conhecimentos de MatLab pode ser vantajoso

Tabela A.2. Alguns pacotes de *software* disponíveis para transformação de imagens de RMf

<b>Aplicações</b>	<b>Referência</b>	<b>Compatibilidade</b>	<b>Custo</b>	<b>Funções</b>	<b>Experiência do utilizador</b>
<b>AFNI</b>	Medical College of Wisconsin, Milwaukee, US; <a href="http://afni.nimh.nih.gov/afni/">http://afni.nimh.nih.gov/afni/</a>	Corre em Linux, Mac OS e SUN	Grátis	Conversão de formato, correção de tempos de aquisição, filtragem, suavização, normalização, operações variadas.	Conhecimentos de orientação de imagem e de alguma neuroanatomia

<b>AIR</b>	<a href="http://bishopw.loni.ucla.edu/air5/">http://bishopw.loni.ucla.edu/air5/</a> <sup>v</sup>	Corre em Windows, Linux e Mac OS X	Grátis	Registo automática de imagem	Conhecimentos informáticos de UNIX e C
<b>BrainVoyager</b>	Brain Innovation; <a href="http://www.brainvoyager.com">www.brainvoyager.com</a>	Correr em Windows, Linux ou Mac OS X	Depende do tipo de licença	Visualização 2D e 3D, definição de protocolos de estimulação, pré-processamento de imagens funcionais, análise estatística	Depende das necessidades do utilizador. A maioria das funcionalidades são automáticas mas as transformações espaciais necessitam de conhecimentos de neuroanatomia básicos
<b>FreeSurfer</b>	Athinoula A. Martinos Center for Biomedical Imaging, Massachusetts, US; <a href="http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu">http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu</a>  Artigos: <a href="http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/Articles">http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/Articles</a>	Corre em Linux e Mac OS	Grátis mas a componente FS-FAST requer licença do MatLab	Visualização 2D e 3D, normalização, ferramentas para análise funcional	Depende das necessidades do utilizador, mas as maiorias das funcionalidades são automáticas
<b>FSL</b>	Oxford Centre for Functional MRI of the Brain (FMRIB);  <a href="http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl">www.fmrib.ox.ac.uk/fsl</a>	Corre em Windows, Linux, Mac OS e SUN	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, pré-processamento de dados de RM, análise estatística individual e de grupos	Tem uma interface “button pressing” não é necessária muita interação com a imagem, o utilizador deve ter alguns conhecimentos de neuroanatomia
<b>ImageJ</b>	National Institutes of Health, US ;  <a href="http://rsb.info.nih.gov/ij">http://rsb.info.nih.gov/ij</a>	Corre em Windows, Linux e Mac OS	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, melhoramento, edição e medições básicas	Conhecimentos de orientação de imagem e de neuroanatomia básica dependendo das necessidades do utilizador

<sup>v</sup> Acedido em 21 de Outubro 2012

<b>MRICro</b>	Rorden and Brett (2000); <a href="http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html">www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html</a>	Corre em Windows, Linux e Sun	Grátis	Visualização 2D e 3D, conversão de formatos	Conhecimentos de orientação de imagens e neuroanatomia básica dependendo das necessidades do utilizador
<b>Osirix</b>	<a href="http://www.osirix-viewer.com/">http://www.osirix-viewer.com/</a>	Corre em Mac OS X	Grátis	Visualização 2D e 3D, reformatação, anotações	Conhecimentos de orientação de imagens e neuroanatomia básica dependendo das necessidades do utilizador
<b>SPM</b>	Wellcome Department of ImagingNeuroscience, University College London;  <a href="http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm">www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm</a>	Corre em Windows, Linux, Mac OS ou SUN	Grátis mas necessita de licença para MatLab ( <a href="http://www.mathworks.com">www.mathworks.com</a> ) cujo o preço depende do tipo de licença	Visualização 2D e 3D, Correção de tempos de aquisição, correção de movimentos, normalização, suavização e outras etapas de pré-processamento de RM, análise estatística (GLM, por exemplo)	Tem uma interface “button pressing” não é necessária muita interação com a imagem, o utilizador deve ter alguns conhecimentos de neuroanatomia e conhecimentos de MatLab pode ser vantajoso



# APÊNDICE B

## RESULTADOS SUBCORTICAIS

---

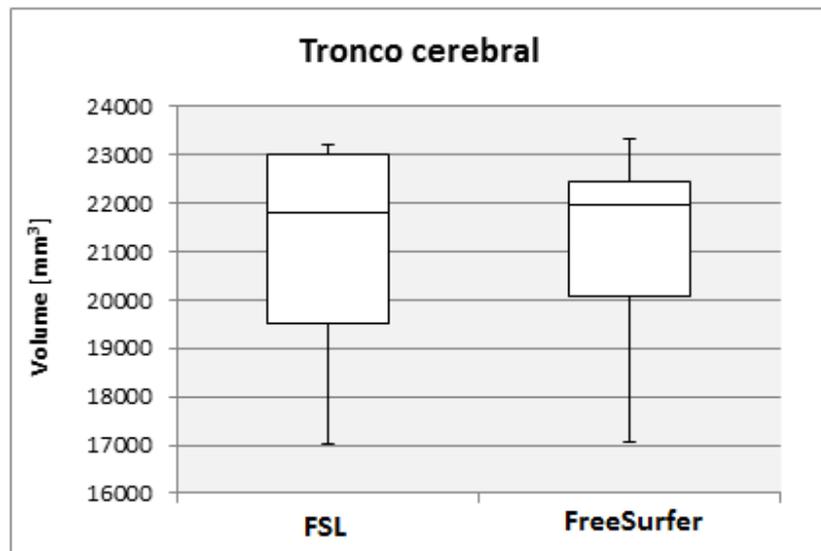


Figura B.1. Box-plot do tronco cerebral

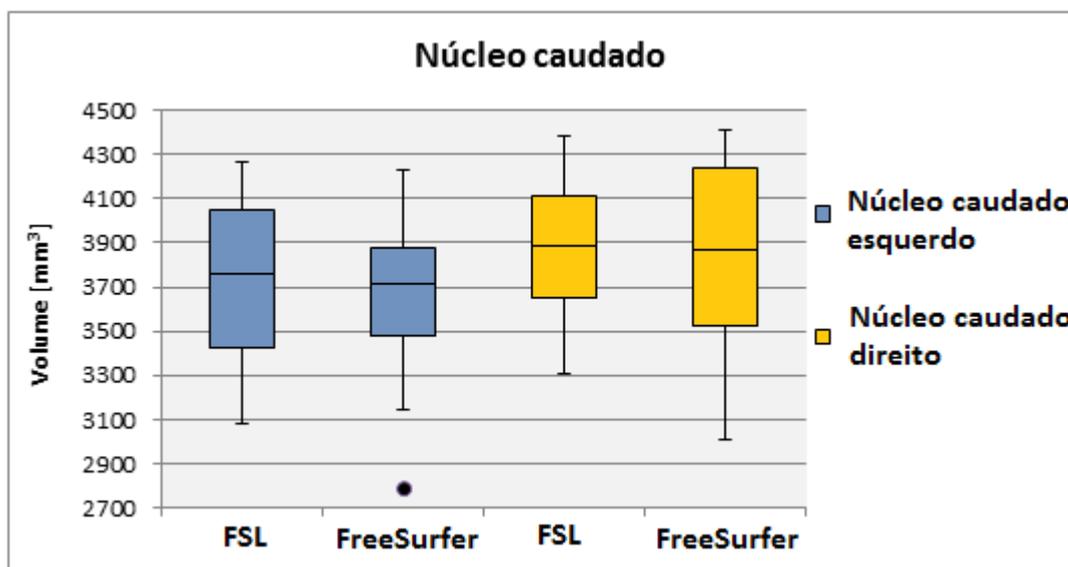


Figura B.2. Box-plot do núcleo caudado

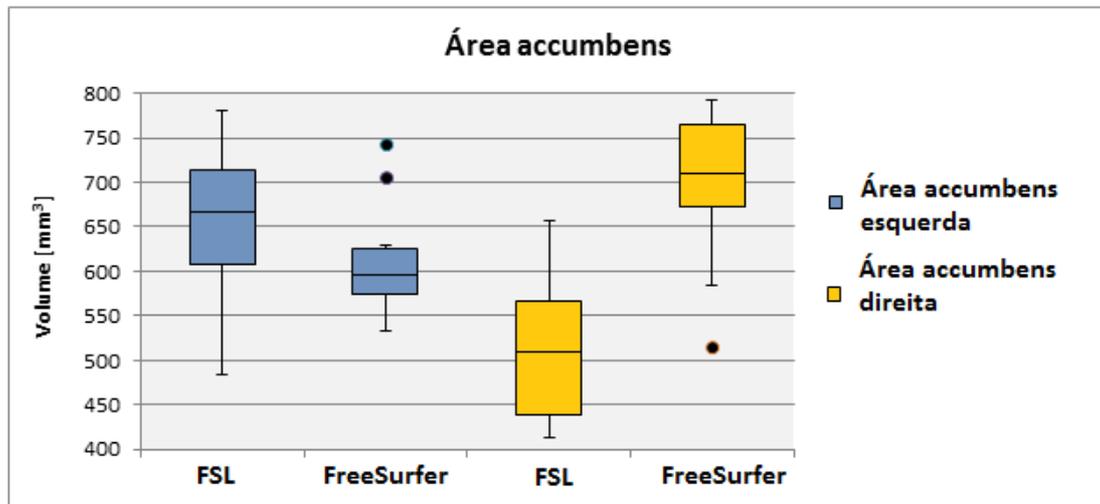


Figura B.3. Box-plot da área accumbens

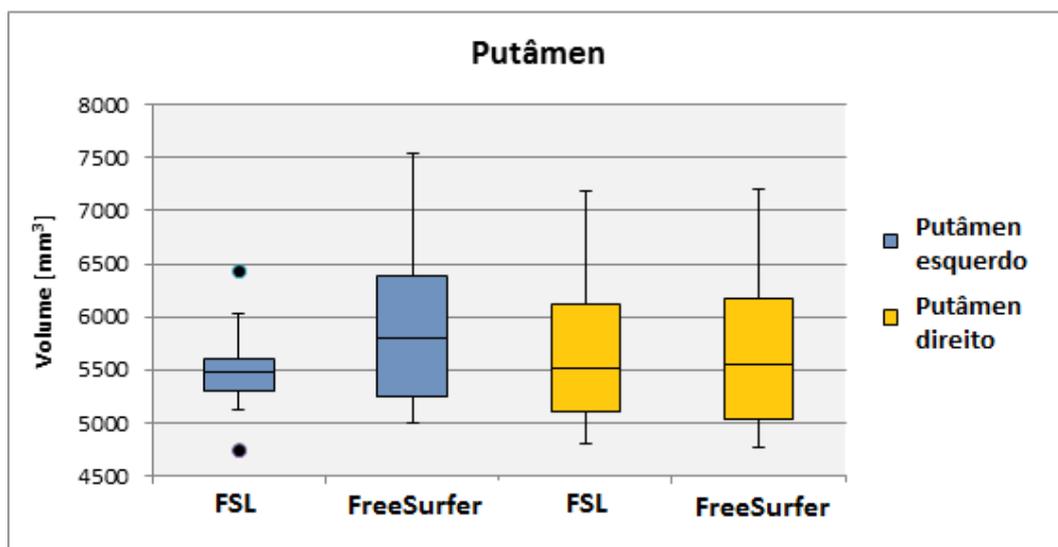


Figura B.4. Box-plot do putâmen

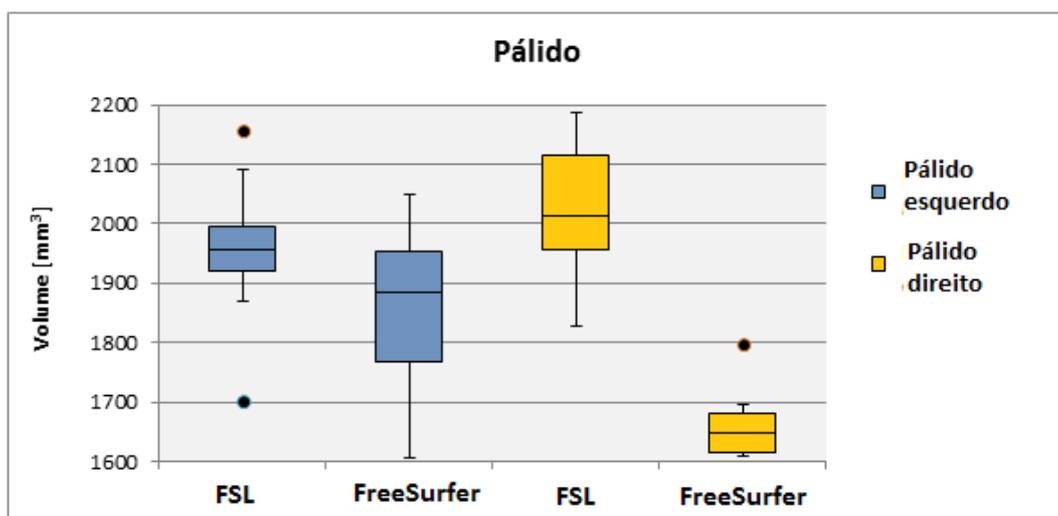


Figura B.5. Box-plot do pálido

# APÊNDICE C

## ATIVAÇÕES OBTIDAS DA ANÁLISE RMf

Tabela C.1. Resultados da RMf com a aplicação SPM para “Dois> Repouso” ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Frontal medial direita	38	6	52	4,49	1887
	-24	46	0	3,55	11
Frontal Inferior Opercular direita	52	12	18	4,49	1887
Rolândica Opercular direita	44	6	14	4,27	
Área Motor Suplementar esquerda	-8	4	52	4,42	1982
Frontal Superior Medial direita	10	30	46	3,85	
Frontal Superior Medial esquerda	2	30	54	3,85	
Lingual esquerdo	-12	-88	-10	4,33	604
Occipital Inferior esquerda	-32	-86	-8	3,91	
Fusiforme esquerda	-20	-86	-8	3,83	
Tálamo direito	4	-14	-32	4,30	83
	6	-18	-40	3,53	
Precentral esquerda	-34	4	66	4,08	72
	-34	0	54	3,18	
	-46	4	54	3,24	10
Temporal Superior esquerda	-50	-32	20	4,02	308
	-58	-32	12	3,28	
SupraMarginal esquerda	-46	-32	28	3,48	
	-40	-28	30	3,39	
Frontal Inferior Triangular esquerda	-48	36	2	3,92	1723
	-40	30	0	3,79	
Pólo Temporal Superior esquerdo	-50	22	-10	3,78	
Tálamo direito	18	-10	-4	3,59	22
Cíngulo Anterior esquerdo	-8	36	20	3,58	37
Temporal Inferior direita	56	-42	-16	3,56	74
Temporal Medial direita	58	-28	-12	3,31	
	56	-34	-6	3,37	75
	48	-36	2	3,35	
Temporal Inferior esquerda	-42	-56	-6	3,49	38
Amígdala esquerda	-20	-2	14	3,39	133
Tálamo esquerdo	-12	-8	0	3,39	
Caudado esquerdo	-20	4	22	3,38	

Tabela C.2. Resultados da RMf com a aplicação SPM para "Um> Repouso" ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Temporal Superior esquerda	-54	-38	14	4,98	194
Frontal Medial direita	34	6	40	4,37	980
	34	6	50	4,15	
	38	42	6	3,84	261
Precentral direita	34	-6	44	4,08	1972
Insula esquerda	-34	12	12	4,27	
	-32	22	16	4,11	
Putâmen esquerdo	-32	10	4	3,85	1511
Cíngulo Medial direito	12	18	28	4,26	
Área Motora suplementar esquerda	-6	8	52	4,02	
Parietal Inferior esquerda	-32	-52	52	4,22	489
Fusiforme esquerda	-32	-58	-4	3,96	134
Temporal Inferior esquerda	-44	-54	-6	3,84	
		-42	-32	-26	3,75
Temporal Medial esquerda	-40	-56	2	3,45	134
Frontal Inferior Triangular direita	36	34	10	3,54	261
Frontal Medial Orbital direita	36	50	-4	3,41	
Frontal Inferior Opercular direita	50	10	14	3,84	213
	50	6	24	3,52	
Frontal Medial esquerda	-42	50	16	3,77	159
Calcarino direito	18	-92	2	3,71	75
Pallidum esquerdo	-28	-6	18	3,65	179
Putâmen esquerdo	-24	0	12	3,52	
Pallidum direito	20	2	4	3,56	46
Tálamo direito	8	-6	-2	3,51	
	16	-4	0	3,26	
Insula direita	30	20	12	3,46	30
Puttâmen direito	28	16	4	3,30	
SupraMarginal direita	54	-36	44	3,45	149
	48	-42	46	3,42	
Parietal Inferior direita	40	-42	40	3,28	
Occipital Inferior esquerda	-48	-72	-8	3,41	67
Tálamo esquerdo	-18	-18	12	3,37	18
Parietal Inferior esquerda	-42	-38	44	3,36	52
Cerebelo 8 esquerdo	-26	-68	-48	3,34	42
Frontal Medial esquerda	-34	36	32	3,26	11
Occipital Inferior esquerdo	-26	-90	-10	3,22	14

Tabela C.3. Resultados da RMf com a aplicação SPM para “Zero> Repouso” ( $p < 0.0001$  – uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Insula esquerda	-36	8	8	5,95	3958
Temporal Medial esquerda	-62	-32	10	5,44	
Temporal Superior esquerda	-60	-46	22	5,31	
SupraMarginal direita	60	-22	38	5,26	122
	58	-30	34	4,15	
Insula direita	38	4	18	4,94	827
	34	16	10	4,85	
	34	-16	4	4,72	447
Temporal Medial direita	68	-26	-4	4,72	126
	70	-34	2	4,28	
	58	-28	-12	4,05	
Hipocampo direito	30	-32	-6	4,54	45
	34	-24	-8	4,09	
Área Motora Suplementar direita	16	-2	56	4,14	76
	8	20	50	4,33	32
Vermis 4 5	0	-44	-2	4,49	33
Cerebelo 4 5	-6	-40	-6	3,93	
Frontal Superior esquerda	-14	16	44	4,36	92
Cíngulo Medial esquerdo	-12	22	32	4,32	
Frontal Superior Medial esquerda	-10	30	36	3,79	
Frontal Inferior Opercular direita	56	10	12	4,34	61
Rolândica Opercular direita	50	4	10	4,15	
Fusiforme direita	40	-40	-20	4,32	35
Temporal Inferior direita	46	-44	-14	4,05	
Lingual direito	12	-42	-4	4,29	43
Cerebelo 4 5 direito	12	-48	-10	3,91	
Temporal Superior direito	38	-38	12	4,17	32
	40	-32	6	3,85	
Cíngulo Anterior esquerdo	-6	38	28	4,17	27

Tabela C.4. Resultados da RMf com a aplicação FSL para “Dois> Repouso” ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Frontal Inferior Triangular direita	64	22	10	4.68	3990
Insula esquerda	-30	16	16	4.26	1442
Cerebelo 8 R	26	-66	-54	3.71	534
	38	-44	-52	3.47	20
Frontal Medial esquerda	-26	2	48	3.48	252
Parietal Inferior esquerda	-54	-38	52	3.65	178
	-34	-46	52	3.49	39

Tálamo esquerdo	-16	-16	-1	3.82	136
Cerebelo 8 esquerdo	-40	-42	-44	4.07	111
Pallidum direito	16	2	2	3.48	107
Temporal Inferior esquerdo	-44	-54	-8	3.62	83
Cerebelo 6 esquerdo	-10	-62	-25	3.69	76
SupraMarginal direita	62	-30	-36	3.86	56
	48	-40	42	3.24	38
Frontal Inferior Triangular esquerda	-58	20	32	3.76	27
Lingual esquerdo	-2	-72	2	3.44	21
Vermis 4 5	6	-56	-22	3.16	12

Tabela C.5. Resultados da RMf com a aplicação FSL para "Um> Repouso" ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Pallidum esquerdo	-26	-12	-2	4.2	1478
Temporal Inferior esquerdo	-42	-56	-7	3.7	226
Cíngulo Medial esquerdo	-10	28	34	3.35	166
Frontal Inferior Opercular direita	38	20	14	3.45	125
Cerebelo 7b esquerdo	-40	-34	-41	4.43	76
	-24	-76	-50	3.67	37
Frontal Medial esquerda	-50	52	4	3.69	72
Pólo Temporal Medial direito	32	27	-34	4.17	64
Pólo Temporal Superior esquerdo	-32	28	-35	4.43	58
Frontal Medial direita	30	10	47	3.37	32
Frontal Inferior Triangular direito	64	22	12	3.8	32
	44	34	8	3.28	11
Pallidum direita	16	2	-2	3.41	25
Frontal Inferior Orbital direita	26	30	-23	3.63	11

Tabela C.6. Resultados da RMf com a aplicação FSL para "Zero> Repouso" ( $p < 0.0001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			Z-score máximo	Tamanho do cluster
Putâmen esquerda	-32	-2	2	4.5	722
Tálamo direito	6	-14	-1	3.85	318
Cíngulo Medial direito	12	36	32	4.95	278
	0	4	32	3.62	65
Insula direita	37	14	-2	3.53	173
Precentral direito	56	8	18	3.88	158
Calcarino direito	10	-94	4	4.18	146
Caudado esquerdo	-10	16	16	3.74	141
Cíngulo Medial esquerda	-12	-4	42	3.59	129
Temporal Medial esquerda	-40	-56	-2	3.6	101

	-52	-28	-10	4.03	57
Frontal Inferior Opercular direita	37	7	25	3.89	79
Cerebelo 8 direito	22	-62	-54	5.67	46
Temporal Inferior direita	66	-48	-20	4.13	35
Fusiforme esquerda	-32	-68	-10	3.62	33
Lingual direito	12	-66	-22	3.86	20
Pólo Temporal Medial esquerda	32	26	-34	3.7	18
Área Motor Suplementar direita	6	4	56	3.22	14
Lingual esquerdo	-18	-86	-16	3.23	12
	0	-72	4	3.25	11
ParaHippocampal esquerda	-20	-22	-26	3.53	12

Tabela C.7. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Dois> Repouso" ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			T máximo	Tamanho do cluster
Cerebelo 6 direito	30	-49	-27	4,43	796
Caudato esquerdo	-12	0	23	4,26	4852
	-6	8	-7	4,34	1197
Insula esquerda	-33	22	-8	4,37	244
Temporal Superior esquerda	-42	-32	11	4,40	93

Tabela C.8. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Um> Repouso" ( $p < 0.001$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			T máximo	Tamanho do cluster
ParaHippocampal esquerda	-16	-3	-32	4,27	13166
Frontal Inferior Orbital esquerda	-27	25	-10	4,28	1225
Frontal Inferior Triangular esquerda	-38	-35	14	4,33	481

Tabela C.9. Resultados da RMf com o BrainVoyager para "Zero> Repouso" ( $p < 0.06$  - uncorrected)

Região	Coordenadas MNI			T máximo	Tamanho do cluster
Cerebelo 6 direito	30	-46	-30	4,73	361
Frontal Superior Orbital direito	21	63	-7	4,69	165
Insula direito	25	25	-10	4,68	308
Frontal Medial Orbital direito	9	51	-7	4,71	476
	6	63	-5	4,75	18
Caudado esquerdo	-10	-3	21	4,71	625
Frontal Superior Orbital esquerda	-21	63	-5	4,68	462
	-21	40	-21	4,63	150
Putâmen esquerda	-27	-8	16	4,76	38
Insula esquerda	-30	14	9	4,73	95