



João Marcos Silva Sousa

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Análise da Conectividade Estrutural na Doença de Parkinson

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientadores : Doutor Hugo Alexandre Ferreira, Prof. Auxiliar,
Faculdade de Ciências da Universidade de
Lisboa
Doutora Rita Gouveia Nunes, Prof. Auxiliar Con-
vidada,
Faculdade de Ciências da Universidade de
Lisboa

Co-orientadora : Mestre Sofia Cristina Reimão, Médica Neurorra-
diologista,
Hospital Santa Maria

Júri:

Presidente: Doutor Mário Forjaz Secca

Arguente: Doutor Alexandre Freire de Andrade

Vogais: Doutora Rita Gouveia Nunes
Mestre Sofia Cristina Reimão



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Outubro, 2013



João Marcos Silva Sousa

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Análise da Conectividade Estrutural na Doença de Parkinson

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e
Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para
obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

A presente dissertação foi desenvolvida em colaboração
com o Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica
(IBEB/FCUL) e o Hospital de Santa Maria.

**Orientadores: Professor Doutor Hugo Ferreira
Professora Doutora Rita Nunes**

Co-orientador: Doutora Sofia Reimão



**FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Outubro, 2013

Análise da Conectividade Estrutural na Doença de Parkinson

Copyright © João Marcos Silva Sousa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

*Aos meus pais, por me proporcionarem a oportunidade que
lhes foi negada.*

Agradecimentos

Passaram-se 5 anos e muitas foram as pessoas que de uma maneira ou outra marcaram a minha vida, a nível pessoal e a nível profissional. Com imenso gosto aproveito esta oportunidade para agradecer aos que me ajudaram a passar e a finalizar esta bela fase da minha vida.

A presente dissertação decorreu na Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa e no Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, onde foi possível contar com o apoio de várias pessoas. Desde já quero agradecer às duas instituições pelas oportunidades que me proporcionaram durante a minha estada nestas.

Ao Professor Hugo Ferreira, meu orientador, quero agradecer as longas e produtivas discussões, a possibilidade de integrar uma equipa que me tratou não como um aluno mas como um amigo e colega e aos desafios que lançou durante o tempo em que estive com ele. Este foi um grande desafio que me permitiu olhar para a imagem médica de uma maneira diferente e adquirir novas capacidades para um futuro profissional mais rico.

À Professora Rita Nunes, minha orientadora, agradeço a paciência, a disponibilidade, as ideias e o desafio de aplicar as técnicas em estudo a um caso real.

À Dr^a Sofia Reimão pelo apoio clínico na temática da Doença de Parkinson.

Ao Luís Lacerda, ao André Ribeiro e Rafael Henriques por me terem aceite na equipa de trabalho e por me terem orientado nas técnicas de processamento e análise de imagens médicas. Também gostava de agradecer pela amizade, paciência e companheirismo que demonstraram.

À Dona Beatriz, Dona Lurdes, Dona Iveta e Carolina Fernandes por alegrarem o dia com a sua simpatia e boa disposição.

Aos meus amigos que incansavelmente me acompanharam em mais esta etapa: Pedro Sousa, Vitor Abreu, Ana Sofia, Sara Freitas, Raquel Silva, Gonçalo Cachola, João Tiago, João Carmo, Ricardo Filipe, Inês Neiva e a todos os que fizeram parte da minha vida académica: Joana Simões, Valter Fernandes, Guilherme Coutinho entre outros o meu muito obrigado. De forma particular gostaria de agradecer a boa disposição que a Ana Ruxa (minha amiga e companheira de trabalho) trazia todos os dias para o IBEB, sem

esquecer as sobremesas que muitas vezes adoçavam o dia.

Aos meus colegas do Núcleo de tiro com arco pela amizade e pelas horas de diversão que me ajudavam a relaxar quando mais precisava.

À minha família, principalmente aos meus pais, Rita Silva e Rui Aguiar e ao meu pai David Sousa, pela paciência, esforço, apoio e por tudo o que fizeram por mim e que em parte levou a me tornar na pessoa que sou hoje. Aos meus avós, Maria e João, por me terem acompanhado e ajudado todos estes anos. A todos estes quero expressar o meu mais profundo agradecimento e gratidão.

Por último, quero agradecer à minha melhor amiga pelo apoio, pelo incentivo, por me manter com os pés na terra, pela preocupação e carinho, pela amizade e por ser a melhor amiga que se pode ter. Obrigado por tudo Isabel Silva (Izzy)!

Este trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) e Ministério da Ciência e Educação (MCE) Portugal (PIDDAC) integrado nos projectos PTDC/SAU-ENB/120718/2010 and PEst-OE/SAU/UI0645/2011.

"Once we accept our limits, we go beyond them", Albert Einstein

Resumo

A Doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais comum em pessoas com mais de 50 anos. Esta está relacionada com a degeneração dos neurónios dopaminérgicos. O seu diagnóstico é clínico e apenas possível quando os doentes já apresentam sintomas motores, o que implica que grande parte da *substantia nigra pars compacta* e neurónios dopaminérgicos já apresentem um estado de degeneração avançada. Esta patologia caracteriza-se por tremores nas extremidades distais dos membros superiores em repouso, rigidez dos membros, alterações da postura e alterações na marcha.

A possibilidade de conseguir um diagnóstico em estados iniciais da DP permitiria aos clínicos uma mais rápida e eficiente intervenção no tratamento da doença e proporcionaria uma melhor qualidade de vida ao doente. De forma a conseguir um diagnóstico na fase inicial da DP efectuou-se um estudo da conectividade estrutural com recurso à imagem por tensor de difusão (DTI) e à teoria de grafos. Este tinha por premissa encontrar estruturas cerebrais que apresentassem alterações ao nível das métricas de conectividade.

Como resultado deste estudo foram encontradas alterações ao nível das métricas de conectividade para o *Globus Pallidus*. Tais alterações são congruentes com resultados obtidos através de parâmetros de DTI de anisotropia fraccional (FA) e difusividade média (MD) obtidos também neste estudo e conhecidos da literatura publicada. Adicionalmente, foram encontradas alterações de conectividade noutras regiões também associadas à DP. Em particular, foi possível constatar que a análise de conectividade permite identificar alterações que não são detectáveis com recurso apenas aos parâmetros de DTI. Por conseguinte, sugere-se que a análise de conectividade poderá ter utilidade na identificação de biomarcadores para diagnóstico precoce da DP e novos estudos são recomendados que incluam um número mais alargado de doentes.

Palavras-chave: Conectividade, Imagem por Tensor de Difusão, Doença de Parkinson Parkinson, Imagiologia por Ressonância Magnética

Abstract

Parkinson's Disease (PD) is the second most common neurodegenerative disease in people older than 50 years. This pathology is associated with dopaminergic neuron degeneration. It has a clinical diagnosis, however by the time it's done patients present an advanced stage of degeneration of dopaminergic neurons and substantia nigra pars compacta. This condition is characterized by tremors in the distal regions of superior limbs when at rest, limb rigidity, posture alterations and gait freezing.

The possibility of having a diagnosis in the earlier stage of the disease would allow the clinical staff to intervene faster in the treatment of this pathology and would proportionate a better quality of life to the patient. To investigate the possibility of an earlier diagnosis using new processing techniques, a structural connectivity study with diffusion tensor image (DTI) and graph theory analysis was performed. The goal of this study was to find and report structural connection alterations on connectivity measures.

As a result, changes in connectivity measures were found in Globus Pallidus. This result is plausible when compared with DTI parameters such as mean diffusivity (MD) and fractional anisotropy (FA) obtained in this study and reported in published articles. Additionally, other regions, also involved in PD related, presented changes in connectivity measures. Particularly, it was possible to conclude that connectivity analysis allowed to identify alterations that DTI parameters did not seem to be sensitive to. Consequently, connectivity analysis may be useful in earlier DP diagnosis biomarkers research, and for this reason new studies are recommended with a larger number of patients.

Keywords: Structural connectivity, Parkinson Disease, Magnetic Resonance Imaging , Diffusion Tensor Imaging

Conteúdo

1	Introdução	1
1.1	Enquadramento e Estado da Arte	1
1.2	Estrutura da Tese	2
2	Princípios de MRI, Difusão e Conectividade	3
2.1	Introdução	3
2.2	Princípios Básicos de Ressonância Magnética	4
2.2.1	Propriedades do Spin, B0 e RF	4
2.2.2	Sequências e Gradientes	6
2.3	Imagem ponderada em Difusão	9
2.3.1	Princípios Básicos	10
2.3.2	Pulsed gradient spin echo (PGSE)	10
2.3.3	Diffusion-Weighted Single-shot Echo-Planar Imaging (DW-SS-EPI)	12
2.4	Imagem por tensor de difusão	14
2.5	Tractografia	18
2.5.1	Algoritmo Determinístico - FACT	18
2.5.2	Observação	20
2.6	Conectividade	20
2.6.1	Introdução	20
2.6.2	Redes - Definição e propriedades	20
2.6.3	Rede estrutural do cérebro	21
2.6.4	Medidas de caracterização da rede	22
3	Neuroanatomia e Parkinson	25
3.1	Parkinson	26
3.2	Neuroanatomia	26
3.3	Diagnóstico	29

4	Materiais e Métodos	31
4.1	Recrutamento	31
4.2	Critérios de seleção	31
4.3	Critérios de Exclusão	32
4.4	Aquisição de Imagens	32
4.5	Processamento de Imagem	32
4.5.1	Pré-Processamento	33
4.5.2	Processamento	33
4.6	Regiões de Interesse (ROIs)	34
4.7	Estatísticas	34
4.7.1	Teste de Kolmogorov-Smirnov e teste de Shapiro-Wilk	35
4.7.2	Teste de Mann-Whitney	35
4.7.3	Correlação de Spearman	36
5	Resultados Experimentais	37
5.1	Resultados dos testes de aderência à Normalidade	37
5.2	Análise comparativa entre grupos	37
5.2.1	Comparação de valores difusão entre grupos	38
5.3	Comparação de métricas de conectividade entre grupos	41
5.3.1	Comparação de métricas de conectividade entre Hemisférios	42
6	Discussão de Resultados	43
6.1	Métricas de Difusão	43
6.2	Métricas de Conectividade	44
6.2.1	Análise Global	44
6.2.2	Análise entre hemisférios	45
7	Conclusão	47
7.1	Limitações e Trabalho Futuro	47
7.2	Conclusão	47
	Bibliografia	49
	Apêndice	58
A	Análise de Difusão	59
A.1	Tabelas de Correspondência de regiões cerebrais no estudo das métricas de difusão.	59
A.2	Valores de MD e FA entre Grupos e Hemisféricos	60
A.2.1	Valores de FA e MD: Comparação entre grupos para cada região	60
A.3	Valores de MD e FA: Comparação entre hemisférios para cada região	62
A.4	Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade	64

A.5	Teste de Normalidade às variáveis : Teste de Kolmogorov - Smirnov	64
A.6	Teste de Normalidade às variáveis : Teste de Shapiro - Wilk	65
B	Análise de Conectividade	67
B.1	Tabela de Correspondência para métricas de conectividade.	67
B.2	Métricas de Conectividade	69
B.2.1	Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade	69
B.2.2	Comparação entre Grupos	69
B.2.3	Comparação entre Hemisférios	70
B.3	Correlações	71

Lista de Figuras

2.1	(a) Alinhamento dos núcleos no estado Natural; (b) Após aplicação de um campo magnético, \mathbf{B} . Os spins são forçados a adquirir uma de duas configurações: paralela ou antiparalela ao campo. Como a configuração mais estável é preferível o vector de magnetização da rede, \mathbf{M} , também é paralelo a \mathbf{B} [1, 2]	4
2.2	Mecanismo de Recuperação de magnetização longitudinal (esquada) e Mecanismo de Recuperação de magnetização transversal (direita) [1].	5
2.3	Quando o campo \mathbf{B} é desligado, \mathbf{M} continua a precessar em torno de \mathbf{B}_0 , à frequência de Larmor, produzindo um campo oscilante que pode ser detectado por uma bobine de RF. Por sua vez, a magnetização também sofre um relaxamento na sua componente transversal, \mathbf{M}_{xy} , levando à atenuação do FID. O núcleo perde energia para o meio até atingir o equilíbrio, \mathbf{M}_0 [2].	6
2.4	Exemplo da obtenção de um eco de spin. Adaptado de [2].	7
2.5	Sequência Spin Eco. Nesta imagem é possível ver quando ocorre a aplicação dos gradientes em função da aplicação dos impulsos de RF [2].	8
2.6	Em (a) com a aplicação do GS é selecionado um corte, na figura (b) a aplicação do GP fará com que os prótons adquiram uma frequência diferente ao longo do eixo. Em (c) o gradiente GF é aplicado ortogonalmente aos eixos definidos por GS e GP com alteração da frequência dos spins nesse eixo. Adaptado de [3].	8
2.7	A 1ª Lei de Fick carrega o conceito de que as partículas vão das regiões de alta concentração para as de baixa. De forma análoga ao que ocorre com o calor, como descrito pelas leis de Fourier para a transferência de calor, nas quais as leis de Fick se basearam [4].	9
2.8	Função de distribuição do deslocamento para vários valores do coeficiente de difusão, considerando um tempo de difusão fixo [4].	10
2.9	Pulsed Gradient Spin Echo (PGSE). Adaptado de [5].	11

2.10	Por cada TR, várias linhas do espaço - k são adquiridas. Gx - Codificação em frequência, Gy - Codificação de fase, Gz - gradiente de seleção de corte. Adaptado de [6].	13
2.11	Nesta figura podemos ver (a) um impulso de excitação e a diferença entre a aquisição de um (b) eco de gradiente puro e de uma (c) EPI. Adaptado de [5].	13
2.12	Diferenças com a variação do número de direções aplicadas. Adaptado de [7].	14
2.13	Relação entre difusão e meio isotrópico e anisotrópico (linha superior), elipsoides de difusão (linha do meio), tensor de difusão (linha inferior); Quando o meio é isotrópico (a), as moléculas difundem de igual forma nas várias direções, a elipsoide de difusão neste caso é uma esfera e a difusão é descrita por uma constante D . Quando o meio é anisotrópico, a elipsoide de difusão é alongada e tem três eixos λ_1 , λ_2 e λ_3 . A forma de caracterizar este sistema é com um tensor 3 x 3 e os valores dos nove elementos depende da orientação do eixo principal. Adaptado de [8].	15
2.14	Extração dos valores escalares do tensor.(a) Imagem de MD. (b) Imagem de FA. Imagem de FA com codificação de cor, a intensidade é proporcional ao FA [9].	16
2.15	Nesta imagem é possível observar a diferença entre o <i>fiber tracking</i> da DTI e da DSI. É fácil de perceber que em DSI o <i>crossing</i> não apresenta o problema da DTI possibilitando ver as zonas de <i>crossing</i> sem problema [10].	17
2.16	Comparação entre DTI e DSI em regiões de <i>crossing</i> . Em A, temos uma imagem coronal que mostra a protuberância(B) e o centro semi-oval (C). As restantes imagens permitem observar a diferença da forma do tensor nas duas regiões para as duas técnicas [10].	17
2.17	Várias fibras observáveis em tractografia. Da esquerda para a direita temos fibras associação, fibras de projeção e fibras de comissurais [11].	18
2.18	Propagação da <i>Streamline</i> [12]	19
2.19	Em A podemos observar uma <i>streamline</i> . B e C mostra como o algoritmo reconstrói a <i>streamline</i> com base a equação 2.16 [12]	19
2.20	Representação gráfica de uma rede (grafo). Adaptado de [13].	21
2.21	Representação gráfica de matrizes de conectividade [14].	21

2.22	Três tipos básicos de rede. Começando pelo gráfico da esquerda as conexões são estabelecidas ao acaso com uma probabilidade p . para $p=0$, a rede é regular, para $p=1$ a rede apresenta um comportamento aleatório. As redes intermédias consistem em misturas destas duas. Os gráficos, na região inferior, mostram o <i>clustering</i> , C , e o comprimento do conexão, L , ambos normalizados a $p=0$. Neste gráfico é possível observar que há um grande intervalo em que as redes têm um coeficiente de <i>clustering</i> similar às rede regulares, $p=0$, e um comprimento de conexão parecido ao de uma rede aleatória, $p=1$. Entre estes dois intervalos, qualquer possível rede apresenta características de <i>small – world</i> . Adaptado de [15].	22
2.23	Medidas da rede. Estas têm normalmente por base propriedades básicas de conectividade (cinzento). Assim, as medidas de integração baseiam-se em comprimentos de caminho mais curtos (verde), enquanto medidas de segregação são muitas vezes baseadas no coeficiente de <i>clustering</i> (azul), mas também incluem divisão em módulos mais sofisticados (ovais). Medidas de centralidade podem ter por base o grau de nodo (vermelho) ou o comprimento e o número de caminhos mais curtos entre os nodos. Os Hubs (preto) participam muitas vezes num elevado número de caminhos mais curtos e, conseqüentemente, têm <i>Betweenness centrality</i> alta. Os padrões de conectividade local são quantificados por motivos da rede (amarelo) [14]. . .	24
3.1	Localização ilustrativa dos núcleos da base. Adaptado de [16].	28
3.2	Ilustração da localização das regiões do Córtex Motor (vista lateral, dorsal e medial). O Córtex Motor Primário está localizado anteriormente ao Sulco Central. Adaptado de [17].	28
3.3	Ilustração da localização das regiões do córtex associativo. À esquerda temos o Córtex Pré-Frontal e à direita o Córtex Parietal posterior. Adaptado de [17].	29
5.1	Comparação entre Valores de FA ao nível do NAc esquerdo	38
5.2	Comparação entre valores de MD ao nível do GP direito	39
5.3	Comparação entre valores de MD ao nível do GP esquerdo	40
5.4	Comparação entre valores de grau ao nível do GP para os grupos em estudo.	41
A.1	Comparação entre valores de MD para o hemisfério direito para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$	60
A.2	Comparação entre valores de MD para o hemisfério esquerdo para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$	60
A.3	Comparação entre valores de FA para o hemisfério direito para os grupos em estudo.	61
A.4	Comparação entre valores de FA para o hemisfério esquerdo para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$	61

A.5	Comparação de valores de FA entre hemisférios para o gupo de Doentes. . .	62
A.6	Comparação de valores de MD entre hemisférios para o gupo de Doentes. .	62
A.7	Comparação de valores de FA entre hemisférios para o gupo de Controlo. .	63
A.8	Comparação de valores de MD entre hemisférios para o gupo de Controlo. .	63
A.9	Localização das ROIs GP esquerdo e direito, azul e amarelo respectivamente. Por fim, a vermelho podemos observar a ROI NAc esquerda. . . .	64
B.1	Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade. Comparação de métricas de conectividade entre grupos.	69
B.2	Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade. Comparação de métricas de conectividade entre hemisférios.	69
B.3	Correlação entre BC e grau do nodo, com $p=0.00$, para o giro hipocampal anterior, para os doentes.	71
B.4	Correlação entre BC e grau do nodo, com $p=0.00$, para o giro hipocampal posterior, para os doentes.	71
B.5	Correlação entre BC e <i>Clustering</i> , com $p=0.01$, para o Giro Pré-Central, para os doentes.	72
B.6	Correlação entre o grau do nodo e <i>Clustering</i> , com $p=0.03$, para o Giro Pré-Central, para os doentes.	72

Lista de Tabelas

5.1	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de difusão. FA - Anisotropia Fracional, MD - Difusibilidade Média, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, C - grupo de controlo, R - Lado direito, L - Lado Esquerdo.	39
5.2	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade. B.C - <i>Betweenness Centrality</i> , Clust - <i>Clustering</i> , E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, p - valor p, P - grupo de doentes, C - grupo de controlo, r.p - região posterior, r.a - região anterior e r.s - região superior.	41
5.3	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade em cada hemisfério. B.C - <i>Betweenness Centrality</i> , Clust - <i>Clustering</i> , E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, p - valor p, P - grupo de doentes, C - grupo de controlo, r.i - região inferior, r.a - região anterior, r.s - região superior, L - lado esquerdo e R - lado direito.	42
A.1	Tabela de correspondência para as métricas de difusão.	59
A.2	Teste aderência à normalidade de Kolmogorov - Smirnov. Valores p para métricas de difusão e grupos.	64
A.3	Teste aderência à normalidade de Shapiro - Wilk. Valores p para métricas de difusão e grupos.	65
B.1	Tabela de correspondência para métricas de conectividade (continua). r.a - região anterior, r.p - região posterior, r.t.o - região temporo-ocipital, p.o - <i>pars opercularis</i> e p.t - <i>pars triangularis</i>	67
B.2	Tabela de correspondência para métricas de conectividade (continuação). r.i - região inferior, r.s - região superior, r.a - região anterior, r.p - região posterior, T.F - temporal fusiforme e r.t.o - região temporo-ocipital.	68
B.3	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade. B.C - <i>Betweenness Centrality</i> , n.s - não significativo, DP - grupo de doentes.	69

B.4	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade (continuação). Clust - <i>Clustering</i> , E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes.	70
B.5	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade entre hemisférios. B.C - <i>Betweenness Centrality</i> , n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, L - lado esquerdo e R - lado direito.	70
B.6	Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade entre hemisférios (continuação). Clust - <i>Clustering</i> , E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, L - lado esquerdo e R - lado direito.	70



Introdução

1.1 Enquadramento e Estado da Arte

A doença de Parkinson (DP) é uma das patologias neurodegenerativas mais comuns entre a população com mais de 50 anos podendo esta levar à demência. As manifestações mais comuns desta patologia são verificadas ao nível da marcha sendo que nesta fase o doente já sofreu algumas perdas significativas a nível do sistema dopaminérgico[18, 19].

Os sintomas iniciais de PD são de difícil perceção sendo que o diagnóstico no estado inicial da doença é muito difícil. O diagnóstico é normalmente clínico sendo o paciente avaliado por um médico especialista ao longo de várias tarefas específicas, sendo que aos pacientes é dado uma classificação segundo a *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* (UPDRS).[20, 21, 22, 23]

Com o objectivo de facilitar a identificação da DP no seu estado inicial e como forma de diagnóstico, têm sido realizados estudos com o objectivo de encontrar biomarcadores relevantes para o diagnóstico da patologia.[22, 24] Com recurso à imagem de difusão por ressonância magnética e imagem estrutural têm sido pesquisadas regiões que apresentem alterações tanto a nível volumétrico como a nível de parâmetros de difusão.[25, 26] Nestes estudos, foram encontradas regiões que podem ser possíveis marcadores da DP. Contudo, estes baseiam-se em alterações nas vias de transmissão, substância branca, e não nas regiões que fazem parte das via de modulação e transmissão do sinal.

Mais recentemente vários estudos têm olhado para este tópico de uma maneira mais geral e estudado a conectividade entre as várias regiões corticais e subcorticais. No entanto, estes estudo focam-se essencialmente em análise funcional da conectividade, não considerando a análise estrutural.[27, 28]

Nesta dissertação e utilizando uma técnica análise por regiões de interesse (*ROI based*)

pretende-se investigar regiões corticais e sub-corticais onde ocorram alterações significativas ao nível das métricas de difusão como a difusibilidade média (MD) e a anisotropia fracional (FA). Posteriormente, pretende-se utilizar a teoria de grafos, que é um ramo da matemática que estuda relações entre os objectos de um dado conjunto, para estudar as relações estruturais nos vários grupos de sujeitos e pesquisar um novo biomarcador à luz desta teoria.

Esta investigação insere-se dentro de um estudo imagiológico alargado decorrente no Hospital Santa Maria que tem por objectivo encontrar alterações significativas na estrutura cerebral de Doentes de Parkinson.

1.2 Estrutura da Tese

Para compreender melhor os vários tópicos desta tese e posterior interpretação dos resultados adquiridos, esta dissertação inicia-se com a apresentação de um conjunto de conceitos considerados importantes na compreensão da Ressonância magnética e no tipo de dados que é possível obter. O segundo capítulo apresenta, de uma forma simples, as bases e técnicas usadas no desenvolvimento desta investigação.

No terceiro capítulo é feita uma apresentação da Doença de *Parkinson*, a sua epidemiologia, neuroanatomia e os métodos e dificuldades de diagnóstico.

As metodologias utilizadas neste trabalho encontram-se descritas no capítulo quatro, sendo que os resultados são apresentados no capítulo seguinte.

O capítulo seis apresenta a análise aos resultados obtidos e no capítulo sete são apresentadas as conclusões gerais, bem como o trabalho futuro a desenvolver.



Princípios de MRI, Difusão e Conectividade

2.1 Introdução

A imagem por ressonância magnética (MRI) é uma técnica de diagnóstico não invasiva que tem apresentado grandes desenvolvimentos nas últimas décadas. Esta tem por objetivo a aquisição de imagens morfológicas de grande resolução e elevada sensibilidade ao contraste entre diferentes tecidos moles do corpo humano [11]. Aliado ao facto de não utilizar radiação ionizante, esta técnica baseada no princípio de ressonância magnética nuclear, descrita por Felix Bloch e Edward Purcel em 1946 [29], tem suplantado outras técnicas como por exemplo a Tomografia Computorizada (TC)[30, 31]. A evolução constante a nível de hardware, software e sequências, tem levado a uma melhoria na aquisição e qualidade das imagens, tornando a MRI uma técnica ímpar na aquisição de imagens estruturais [31]. Na MRI são relevantes as propriedades magnéticas dos núcleos atômicos, e dada a grande quantidade de água no nosso corpo, é dado grande ênfase aos átomos de hidrogénio e às suas propriedades, tal como o número quântico de spin. A MRI permite-nos obter imagens com diferentes contraste, que permitem melhor visualização de estruturas, estas podem ser obtidas com pequenas alterações nos parâmetros de aquisição.

2.2 Princípios Básicos de Ressonância Magnética

2.2.1 Propriedades do Spin, B_0 e RF

Os átomos são constituídos por prótons, nêutrons e elétrons. O interior de um núcleo atômico é constituído por prótons e nêutrons, ao conjunto destes denomina-se número de massa. Por sua vez, os elétrons orbitam em torno do núcleo. Os constituintes do núcleo atômico apresentam um movimento de spin, no entanto este ocorre apenas para núcleos cuja soma dos nêutrons com os prótons seja ímpar, ou seja, o número de massa é ímpar. Isto acontece uma vez que os spins não se anulam reciprocamente, fazendo com que o núcleo tenha um movimento de rotação [1, 32]. Todos os isótopos com número de massa ímpar são denominados *MR Active* sendo o H^1 , C^{13} , F^{19} e P^{31} exemplos disso [1, 32, 33].

Um núcleo como o do átomo de hidrogénio é composto apenas por um próton, o qual possui um spin ou momento angular. Este leva ao aparecimento de um momento magnético permitindo que o próton se comporte como um dipolo magnético que precessa em torno de um eixo [1, 32, 33]. O vector soma do momento magnético de um dado volume é denominado magnetização macroscópica, representada por \mathbf{M} [1, 32], e é uma quantidade de grande relevância em MRI, também chamado de Magnetização Resultante (VMR) [34].

Normalmente, o momento magnético de um núcleo *MR Active* encontra-se orientado segundo uma direção aleatória, alterando-a conforme as trocas térmicas com o meio. Considerando um conjunto elevado de núcleos, tal significa que não se produz nenhum efeito magnético, $\mathbf{M}=0$ [1].

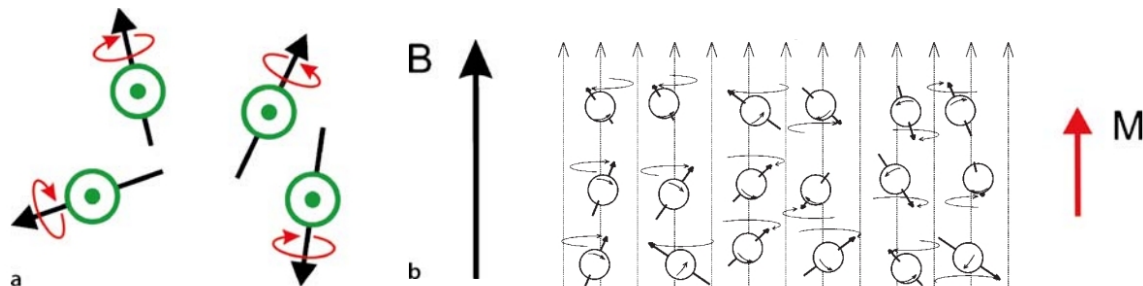


Figura 2.1: (a) Alinhamento dos núcleos no estado Natural; (b) Após aplicação de um campo magnético, \mathbf{B} . Os spins são forçados a adquirir uma de duas configurações: paralela ou antiparalela ao campo. Como a configuração mais estável é preferível o vector de magnetização da rede, \mathbf{M} , também é paralelo a \mathbf{B} [1, 2]

Se colocarmos uma amostra contendo um núcleo *MR Active* num campo de intensidade \mathbf{B}_0 , este vai exercer um torque nos momentos magnéticos. Fazendo com que o vector de magnetização da rede, \mathbf{M} , se alinhe com o campo \mathbf{B}_0 . Isto implica que os spins passem a girar em torno do eixo de aplicação de \mathbf{B}_0 . A este movimento chama-se precessão e a sua

frequência, ω , pode ser obtida através da equação de Larmor [1, 2, 35].

$$\omega = B_0 \times \gamma \quad (2.1)$$

Onde B_0 representa a intensidade do campo magnético em Tesla ($1\text{T} = 10,000\text{ G}$), γ é a frequência de precessão de um núcleo específico a 1T, apresentando unidades Mhz/T [1, 32, 2].

Considerando que o campo B_0 é aplicado paralelamente ao eixo dos z's então, em equilíbrio, a componente de magnetização da rede M_z será não nula (magnetização longitudinal) não havendo componente M_{xy} (magnetização transversal) segundo o plano transversal. No entanto, em *MRI* medimos as perturbações de campo e não os campos magnéticos, pelo que temos de perturbar o equilíbrio de M . Para tal, um impulso de Rádio Frequência (RF), com uma frequência igual à de Larmor, é aplicado perpendicularmente ao eixo longitudinal (M_z), fazendo com que os prótons precessem coerentemente numa nova direção [1, 2, 35]. A duração e intensidade de um impulso de RF permite o controlo do ângulo de nutilação (*flip angle*), o qual se caracteriza como sendo uma medida da extensão com que o vector de magnetização é desviado do seu alinhamento de equilíbrio devido à aplicação do campo magnético.

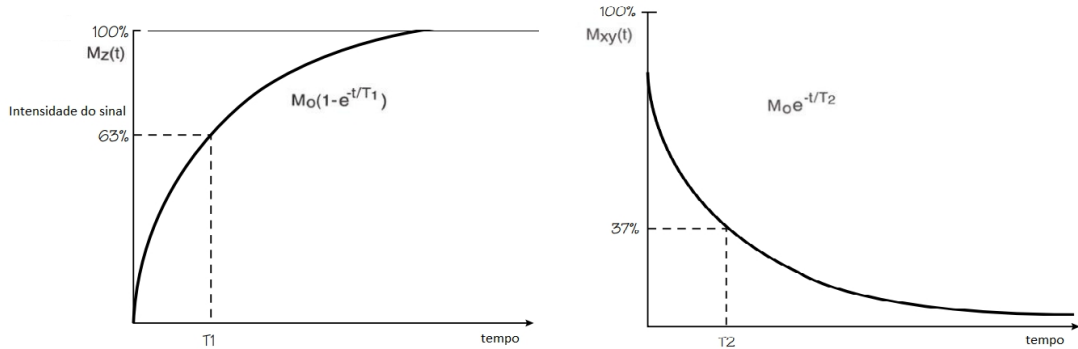


Figura 2.2: Mecanismo de Recuperação de magnetização longitudinal (esquada) e Mecanismo de Recuperação de magnetização transversal (direita) [1].

Após desligar o impulso RF tornam-se relevantes dois tempos de relaxação, os quais possuem grande importância na *MRI*.

O tempo de relaxação T_1 , também denominado *spin-lattice relaxation*, é responsável pela restauração de M_z ao seu valor de equilíbrio M_0 . Se considerarmos a aplicação de um impulso de 90° , a magnetização da rede, M , deixa de estar paralela ao campo B_0 e passa a estar perpendicular a este, assim a componente $M_z(t=0) = 0$ e a componente $M_{xy}(t=0) = \text{máx } M_0$ (valor máximo de magnetização). A partir deste momento, com o cessar do impulso de excitação, começa o período T_1 caracterizado pelo tempo que a componente M_z da magnetização de rede leva a recuperar 63% do seu estado de equilíbrio, M_0 . O valor da magnetização M_0 depende da intensidade do campo B_0 , sendo que o tempo T_1 depende da mobilidade dos prótons no tecido [1, 33, 2].

Por sua vez, o tempo de relaxação T_2 ou *spin-spin relaxation* consiste no tempo que a componente de magnetização \mathbf{M}_{xy} leva a reduzir o seu valor inicial em 63%, devido à perda de coerência causada pelas interações spin-spin dos núcleos. Esta constante reflete a capacidade de um tecido manter o seu sinal, sendo que, quanto maior for a velocidade de desfaseamento dos spins menor será o valor de T_2 .

Uma vez que o campo magnético estático está sujeito a heterogeneidade, que contribuem para o decaimento da componente \mathbf{M}_{xy} , é necessário definir uma nova constante de tempo T_2^* , que expressa a influência das heterogeneidades do campo e se relaciona com T_2 :

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'} \quad (2.2)$$

A variação da componente \mathbf{M}_{xy} é detetada com recurso a uma bobina e com base na lei de indução de Faraday.

$$\epsilon = \frac{d\phi_B}{dt} \quad (2.3)$$

O fluxo magnético na bobina varia no tempo devido à precessão da Magnetização induzindo, uma corrente elétrica. Esta decai exponencialmente conforme a relaxação. A este sinal chamamos *Free Induction Decay* (FID) dado que o núcleo precessa "livremente" quando não sujeito a um impulso de RF [1, 11, 33]. Este sinal é uma onda sinusoidal, resultante da indução de corrente associada ao movimento de precessão dos spins, que decai com a constante de tempo T_2 , se estivermos na presença de um campo homogêneo, ou T_2^* , caso o campo seja heterogêneo [1, 33, 36].

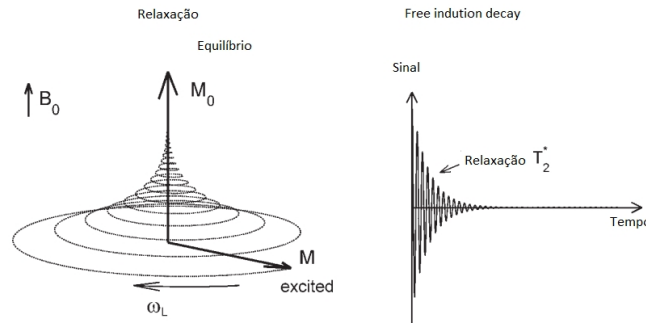


Figura 2.3: Quando o campo \mathbf{B} é desligado, \mathbf{M} continua a precessar em torno de \mathbf{B}_0 , à frequência de Larmor, produzindo um campo oscilante que pode ser detectado por uma bobina de RF. Por sua vez, a magnetização também sofre um relaxamento na sua componente transversal, \mathbf{M}_{xy} , levando à atenuação do FID. O núcleo perde energia para o meio até atingir o equilíbrio, \mathbf{M}_0 [2].

2.2.2 Sequências e Gradientes

2.2.2.1 Sequências

Ao que foi apresentado na alínea anterior consideremos que é adicionado um novo impulso de RF de 180° , a este chamemos impulso de refocagem. Tal que, o campo \mathbf{B}_1 gerado por

este impulso está alinhado com o eixo de rotação y . Este impulso vai provocar uma rotação de 180° nos vectores de magnetização. Tal faz com que os spins que estão a precessar com frequência inferior a w_0 invertam de fase. Acontecendo o mesmo para os que possuem frequência superior a w_0 , mas no sentido inverso. O resultado é que se esperarmos tanto tempo quanto o intervalo entre a aplicação dos dois impulsos, os vectores voltam a estar em fase. Assim, considerando que é aplicado um impulso de RF de 90° , produzindo uma componente M_{xy} máxima, seguida do desfasamento dos spins devido à relaxação transversal, o tempo entre este máximo e o aparecimento de um novo máximo chama-se tempo de eco (TE) e ao tempo entre dois impulsos de 90° tempo de repetição (TR). Para tal o impulso de 180° de refocagem, deverá ser aplicado no instante $TE/2$; este fará com que os spins voltem a entrar em fase e compensará o efeito das heterogeneidades do campo magnético estático, fazendo com que o pico do eco apenas dependa de T2. Esta sequência denomina-se de *Spin – Echo* (SE) [1, 2, 5].

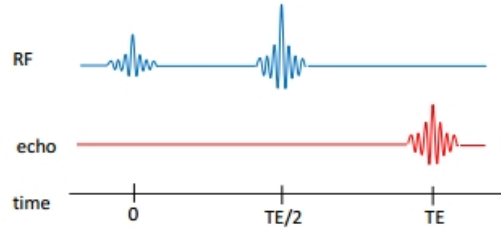


Figura 2.4: Exemplo da obtenção de um eco de spin. Adaptado de [2].

Frequentemente, é usada a sequência de Fast Spin Echo (FSE) que não é mais que uma variação da sequência SE. Esta permite a redução do tempo de aquisição das sequências de SE. Esta redução é proporcional ao número de ecos gerados, ou seja, ao número de impulsos de 180° aplicados após o impulso de 90° [1, 5].

2.2.2.2 Gradientes

O FID resulta da contribuição de todos os prótons, sem qualquer tipo de discriminação espacial. Para que tal não ocorra e seja possível obter uma imagem, é necessário distinguir as diferentes contribuições em função da posição inicial do sinal com recurso a gradientes. Estes não são mais que uma perturbação espacial no campo magnético, a qual consiste num aumento ou diminuição da intensidade do mesmo segundo a direcção de cada gradiente.

A frequência de precessão dos prótons é proporcional à intensidade do campo magnético, como é possível verificar pela equação de Larmor. Assim, a frequência do sinal obtido pode ser alterada em função da sua posição ao longo do gradiente e, por sua vez, a fase de precessão também pode ser alterada, conforme o tempo que o gradiente está ligado. Em função destas propriedades podemos realizar uma codificação espacial 3D do sinal obtido [35].

A técnica de codificação espacial assenta em 3 gradientes: Gradiente de Seleção de

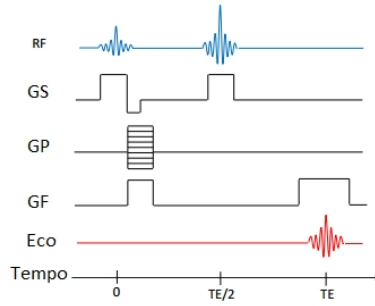


Figura 2.5: Sequência Spin Eco. Nesta imagem é possível ver quando ocorre a aplicação dos gradientes em função da aplicação dos impulsos de RF [2].

Corte (GS), Gradiente de Codificação de Fase (GP) e Gradiente de Codificação em Frequência (GF) [37].

Inicialmente, a aquisição de dados começa com a ativação do GS. No caso de um corte axial, este gradiente é aplicado na mesma direção que o campo magnético (eixo z) e permite a seleção do corte, simultaneamente com a aplicação do impulso RF de 90° . Este impulso é aplicado com uma certa largura de banda (centrada na frequência w_0), excitando apenas uma certa espessura Δz da região, de tal forma que apenas nesta zona os prótons se encontram em ressonância. Tendo sido selecionado um corte podemos olhar para este como uma matriz, e, como tal, necessitamos ainda de discriminar espacialmente cada ponto desse plano. Para tal, entre o primeiro impulso de RF e o TE, outro gradiente, GP, é aplicado, o que fará com que os prótons precessem a uma frequência diferente ao longo deste eixo. Sendo o gradiente GP aplicado durante um determinado período, quando este é desligado, os spins apresentarão uma frequência diferente em função da sua posição. A aplicação do último gradiente, GF, ocorre durante a aquisição do eco e é aplicado ortogonalmente aos eixos definidos por GS e GP, alterando a frequência dos spins ao longo deste eixo [1, 11, 35, 38]. Com a aplicação destes gradientes, variamos linearmente a frequência em função da posição espacial [37].

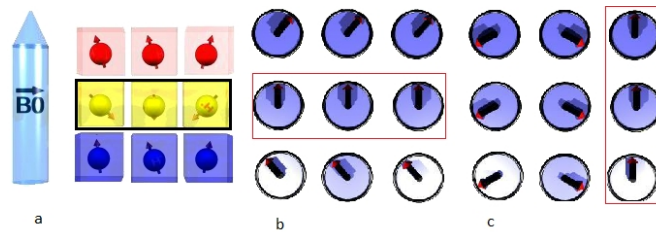


Figura 2.6: Em (a) com a aplicação do GS é selecionado um corte, na figura (b) a aplicação do GP fará com que os prótons adquiram uma frequência diferente ao longo do eixo. Em (c) o gradiente GF é aplicado ortogonalmente aos eixos definidos por GS e GP com alteração da frequência dos spins nesse eixo. Adaptado de [3].

2.3 Imagem ponderada em Difusão

Em 1828, Robert Brown, durante um estudo observou que a difusão é um processo de deslocamento aleatório de partículas num fluido. No entanto, só em 1855, Adolf Fick, descreve as leis que regem este tipo de movimento, estabelecendo que a difusão da matéria é proporcional ao gradiente da sua concentração, originando uma rede de deslocamento de regiões de grande concentração para regiões de baixa concentração [4]. Este formalismo levou à formulação da primeira lei de Fick:

$$J = -D\nabla C \quad (2.4)$$

No entanto, só após os estudos de Einstein, em 1905, foi possível quantificar e calcular o movimento Browniano e coeficiente de difusão, D , com recurso à avaliação do deslocamento médio ponderado das partículas, ou seja, deslocamento espacial médio percorrido pelas partícula, R , num dado período de tempo, t [4].

$$D = \frac{\langle R^2 \rangle}{6t} \quad (2.5)$$

É de referir que o coeficiente de difusão é uma propriedade intrínseca do meio que depende da temperatura, do tamanho das moléculas e da viscosidade do meio [4, 39]. A nível molecular a 1ª lei de Fick não consegue descrever o processo de difusão em equilíbrio termodinâmico, visto que implica que quando a temperatura ou concentração é nula não há fluxo. Atualmente, com novas definições sabe-se que apesar de não ocorrer fluxo, o movimento das partículas persiste [4].

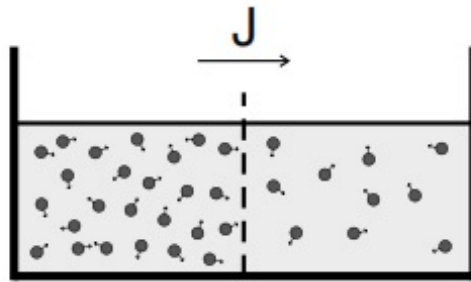


Figura 2.7: A 1ª Lei de Fick carrega o conceito de que as partículas vão das regiões de alta concentração para as de baixa. De forma análoga ao que ocorre com o calor, como descrito pelas leis de Fourier para a transferência de calor, nas quais as leis de Fick se basearam [4].

Associando os conceitos da difusão e da MRI foi conseguida uma técnica não invasiva que permite quantificar o movimento das moléculas de água. Permitindo obter informação sobre as microestruturas tecidulares através da imagem ponderada em difusão (DWI) [7].

2.3.1 Princípios Básicos

Se considerarmos um meio sem barreiras, a mobilidade molecular é idêntica para todas as direções, ou seja, estamos perante um meio isotrópico. Num meio homogêneo a difusão apresenta uma distribuição Gaussiana, na qual a largura a meia altura pode ser maior ou menor conforme a variação da temperatura do meio, tamanho das moléculas e tempo de difusão Δt [4].

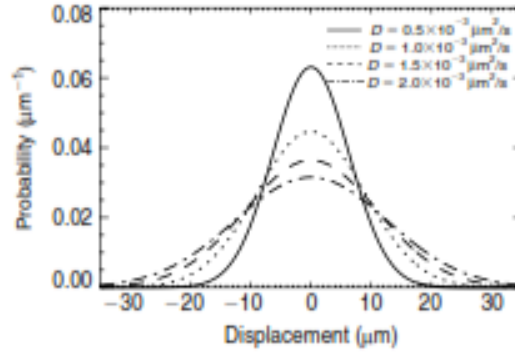


Figura 2.8: Função de distribuição do deslocamento para vários valores do coeficiente de difusão, considerando um tempo de difusão fixo [4].

A variância (σ^2) é o único parâmetro que define a dispersão da função e que depende neste caso de D e Δt .

$$\sigma^2 = 2.D.\Delta t \quad (2.6)$$

No entanto, o corpo humano apresenta barreiras à difusão tais como membranas celulares, fibras axonais entre outras, que vão provocar alterações no perfil de difusão. Estas barreiras vão provocar um encurtamento na distância de difusão média, comparativamente à que seria observada se não existissem quaisquer obstáculos. Como resultado, e se considerarmos uma fibra axonal, as moléculas deslocar-se-ão, de modo preferencial, paralelamente à fibra. Assim, o deslocamento molecular paralelo à fibra tenderá a ser maior do que perpendicularmente a esta [4, 40, 10].

Visto que a difusão passa a ser preferencial numa certa direção em detrimento de outras, a este perfil chamamos anisotrópico, ou seja, a difusão não é constante em todas as direções [39, 40, 10, 41].

2.3.2 Pulsed gradient spin echo (PGSE)

Dadas as limitações, *in vivo*, é difícil separar a difusão pura de outras fontes de mobilidade molecular, tal como o transporte ativo. Desta forma a maneira que temos para caracterizar a mobilidade das moléculas de água é com recurso ao coeficiente de difusão aparente (ADC). De forma a se calcular o ADC é necessário sensibilizar o sinal de MRI à difusão. Através da aplicação de gradientes de difusão em diferentes direções, podemos extrair

diferentes valores de ADC que refletem a micro-estrutura subjacente. Algo que em meio isotrópico não se verifica, sendo que as medidas efetuadas serão iguais independentemente da direção do gradiente [5, 40].

Na imagem seguinte pode ser observada a sequência original desenhada por Stejskal & Tanner (1965).

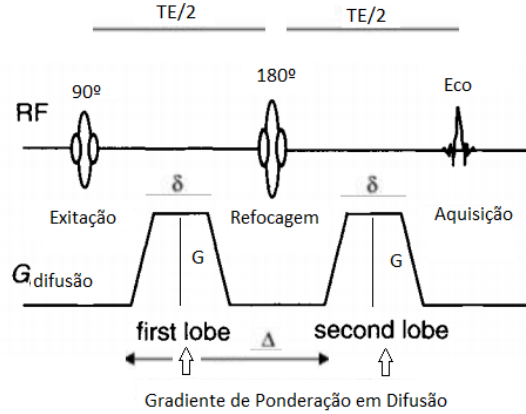


Figura 2.9: Pulsed Gradient Spin Echo (PGSE). Adaptado de [5].

Uma sequência típica de DWI é uma extensão da sequência de Eco de Spin, com a adição de um par de gradientes de sensibilização à difusão que são aplicados antes e após o impulso de RF de 180° . Devido à influência do movimento dos spins na aquisição de medidas é aplicado um gradiente com determinada intensidade (G) e duração (δ) que vai induzir uma alteração na fase dos spins de cada voxel. Após um tempo $TE/2$ é aplicado um impulso de RF de 180° o qual é responsável pela inversão da fase na população de spins. Depois de um intervalo de tempo $(\Delta)t$ desde o início da aplicação do primeiro gradiente, é aplicado um segundo gradiente que provoca o refasamento dos spins. No entanto, os spins que se deslocarem das suas posições iniciais vão manter um desfasamento residual que permitirá a quantificação da difusão ocorrida [11].

Quando falamos de gradientes de difusão e do seu efeito de sensibilização nas moléculas temos de ter em conta a estrutura da sequência subjacente, neste caso uma sequência de Eco de Spin. Assim, o sinal que obtemos, relativamente a um voxel de tecido em que ocorra difusão molecular, é igual a intensidade de uma imagem ponderada em T2, ou seja, igual à que seria obtida se os gradientes de difusão não fossem aplicados, com um decréscimo devido à redução de sinal resultante da perda de coerência, associada à deslocação sofrida pelas moléculas [42, 43].

A expressão que dá a intensidade do sinal medido é então:

$$S = S_0 e^{-bD} \quad (2.7)$$

Onde S_0 é a intensidade do sinal na ausência de ponderação em difusão, D é o coeficiente

de difusão e o b e o coeficiente de ponderação em difusão, que pode ser escrito da forma:

$$b = \int_0^{TE} \vec{k}(t') \cdot \vec{k}(t') dt' = (\gamma G \delta)^2 (\Delta - \frac{\delta}{3}) \quad (2.8)$$

Onde \vec{k} :

$$\vec{k} = \gamma \int_0^t \vec{G}(t') dt \quad (2.9)$$

Sendo \vec{k} o integral do gradiente ao longo do tempo.

Assim, se for considerado um tempo de difusão mais longo, ocorrerá um deslocamento molecular maior o que provoca maior atenuação no sinal ponderado em difusão. Gradientes com amplitude e duração maiores por sua vez são responsáveis pelo aumento de contraste no sinal, visto induzirem uma desfasagem superior nas moléculas que estão sujeitas ao processo de difusão. Contudo, se apresentarmos mapas ADC, as áreas de maior intensidade correspondem a regiões de maior difusibilidade, uma vez que, desta forma estamos a medir a extensão de difusão e não a intensidade do sinal [11, 39, 42, 43].

Para estimar o ADC necessitamos de adquirir no mínimo duas imagens correspondentes a diferentes valores b . Como nota, é de realçar que num meio anisotrópico será ainda necessário repetir a aquisição para várias direções dos gradientes de difusão, dado que, a difusão não é igual em todas as direções [10, 43].

2.3.3 Diffusion-Weighted Single-shot Echo-Planar Imaging (DW-SS-EPI)

Como referido previamente, as DWI fornecem informação sobre a mobilidade de moléculas. Quando introduzidas na prática clínica, a sua aquisição era um processo relativamente demorado e suscetível a artefactos, como batimento cardíaco, fluxo sanguíneo, movimentos involuntários do paciente entre outros, que provocavam artefactos na imagem [6]. Em 1977 foi apresentada a Imagem por eco planar (EPI), que tinha como objetivo reduzir o tempo de aquisição. No entanto, só em 1985 é que ocorreu a grande adesão a esta técnica [44].

A *Diffusion-Weighted Single-Shot Echo-Planar Imaging* (DW-SS-EPI), por sua vez, é uma variação da técnica inicial em que apenas ocorre um impulso de excitação ("shot"). Este representa o número de períodos TR necessários para completar a aquisição da imagem e o número de "shot" é igual ao número total de gradientes de codificação de fase dividido pelo TR. Considerando 256 gradientes e um TR de 8 então o número de "shot" é igual a 256/8 ou 32. Assim, numa DW-SS-EPI, o espaço - K é adquirido na totalidade após um único impulso (em relação ao espaço - K é recomendado a leitura de [34]). Nestes casos, as matrizes não ultrapassam a dimensão de 128 × 128 pixéis. Posteriormente a esta dimensão e à medida que a dimensão da matriz aumenta, as imagens tornam-se mais suscetíveis a artefactos, perda de sinal por diferenças de suscetibilidade, etc... [5]

As sequências baseadas em EPI de impulso único herdam artefactos como distorções causadas pelas flutuações espaciais na suscetibilidade magnética. Estas aumentam com a intensidade do campo B_0 [5, 6, 44, 45].

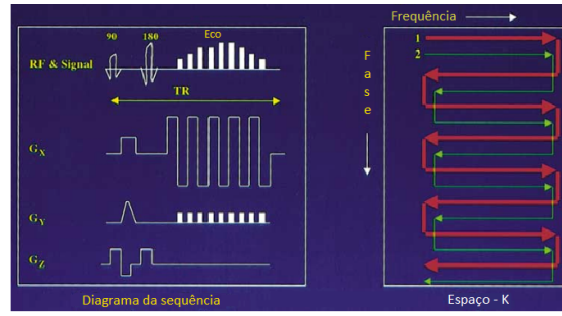


Figura 2.10: Por cada TR, várias linhas do espaço - k são adquiridas. Gx - Codificação em frequência, Gy - Codificação de fase, Gz - gradiente de seleção de corte. Adaptado de [6].

À semelhança da PGSE, é adicionado um par idêntico de gradientes de sensibilização antes e após o impulso de refocagem de 180° , no entanto, após o módulo de difusão, são aplicados uma série de gradientes bipolares para gerar uma série de ecos de gradiente. Cada eco de gradiente é de forma distinta codificado espacialmente permitindo que múltiplas linhas do espaço - k sejam adquiridas por impulso. Nesta sequência, a direção do gradiente é controlada variando os seus componentes nos três eixos ortogonais. Para minimizar o TE, variamos a amplitude do gradiente para obtermos o valor b desejado. A alteração da velocidade de varrimento é também uma opção para minimizar o TE, com a possível consequência de aumentar as distorções pelas correntes de vórtice (*eddy currents*) induzidas pela variação rápida dos gradientes [6, 5, 39].

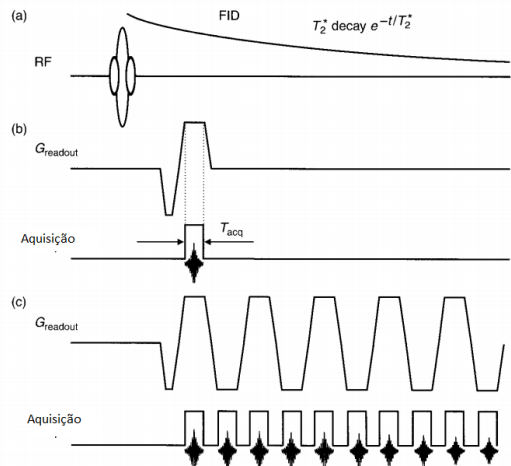


Figura 2.11: Nesta figura podemos ver (a) um impulso de excitação e a diferença entre a aquisição de um (b) eco de gradiente puro e de uma (c) EPI. Adaptado de [5].

Atualmente, com o aparecimento da técnica de aquisição paralela (Parallel Imaging) é possível reduzir cada vez mais os tempos de aquisição. Técnicas de Parallel Imaging como a SENSE permitem reduzir o número de gradientes de codificação de fase, encurtando as janelas de aquisição e diminuindo os artefactos característicos das EPI, assim é possível atingir resoluções espaciais mais altas sem ser necessário a utilização de técnicas de *multi-*

shot [40, 46, 47].

2.4 Imagem por tensor de difusão

Para um meio isotrópico a difusão pode ser descrita usando um único parâmetro escalar D . No entanto, para meio anisotrópico temos de recorrer a um tensor para poder caracterizar a deslocação das moléculas nas diferentes direções. A DTI foi desenvolvida com o objetivo de medir o tensor de difusão em cada voxel da imagem, permitindo depois calcular a difusibilidade média ou o grau de anisotropia em cada voxel, assim como a direção de maior difusibilidade e o valor associado a essa direção [11]. Em DTI a expressão que fornece o sinal obtido é:

$$\ln \frac{S}{S_0} = \sum_i^3 \sum_j^3 b_{i,j} \mathbf{D}_{i,j} \quad (2.10)$$

Onde $b_{i,j}$ é agora definido como uma matriz de valores de b e $\mathbf{D}_{i,j}$ é o tensor de difusão definido como:

$$\mathbf{D} = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix} \quad (2.11)$$

A matrix b é calculada a partir dos gradientes usados na sequência sendo necessário apenas 6 gradientes não colineares para estimar um tensor de difusão, uma vez que este, por ser simétrico, possui apenas 6 parâmetros independentes [4, 8, 39, 48]. No entanto, com a finalidade de melhorar a estimativa do tensor de difusão é usual adquirir mais de 6 direções. Para além das imagens ponderadas em difusão, é ainda necessário adquirir pelo menos uma imagem sem ponderação em difusão de modo a ter em conta a ponderação em T2 [7, 8].

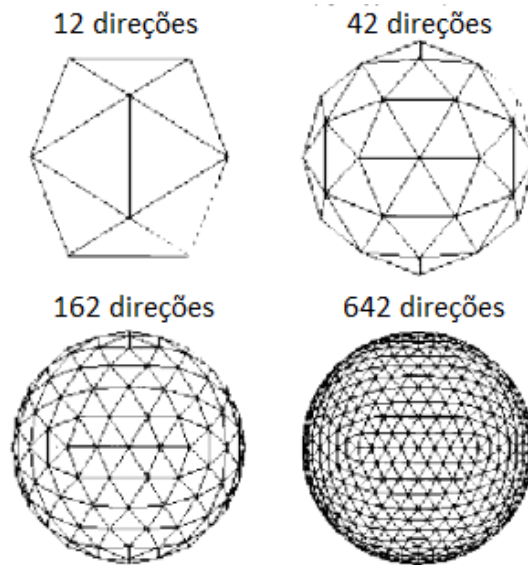


Figura 2.12: Diferenças com a variação do número de direções aplicadas. Adaptado de [7].

No tensor, os elementos presentes na diagonal principal correspondem à difusibilidade ao longo dos três eixos ortogonais do equipamento, por outro lado, os restantes valores correspondem à correlação entre o deslocamento molecular nos eixos representados em índice [4].

Em meio anisotrópico, o perfil do deslocamento não pode ser descrito por uma esfera, este é melhor descrito por uma elipsoide com o eixo de maior comprimento paralelo ao maior eixo do meio. Este elipsoide fornece um molde de referência, ou seja, permite obter a distância média que as moléculas se difundiriam com a mesma probabilidade, se estivessem inicialmente concentradas no mesmo ponto. A este sistema é chamado referencial próprio. Neste, os eixos principais do elipsoide correspondem à direção principal de difusão para um dado voxel; a sua excentricidade traduz o grau de anisotropia e assimetria enquanto a sua dimensão fornece uma medida da difusibilidade nesse voxel [4, 8, 39].

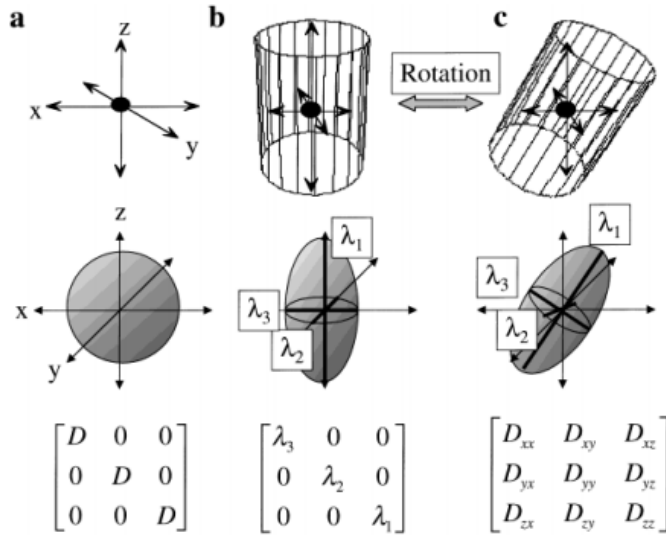


Figura 2.13: Relação entre difusão e meio isotrópico e anisotrópico (linha superior), elipsoides de difusão (linha do meio), tensor de difusão (linha inferior); Quando o meio é isotrópico (a), as moléculas difundem de igual forma nas várias direções, a elipsoide de difusão neste caso é uma esfera e a difusão é descrita por uma constante D . Quando o meio é anisotrópico, a elipsoide de difusão é alongada e tem três eixos λ_1 , λ_2 e λ_3 . A forma de caracterizar este sistema é com um tensor 3×3 e os valores dos nove elementos depende da orientação do eixo principal. Adaptado de [8].

Os vectores próprios deste tensor são ordenado tais que

$$\lambda_1 \geq \lambda_2 \geq \lambda_3$$

e cada um corresponde a um vector próprio específico. Por sua vez, o vector próprio correspondente ao maior valor próprio (λ_1) é a direção principal de difusão [10].

De forma a melhor quantificar a difusão existem várias medidas que se podem obter a partir do tensor de difusão tais com o traço do tensor, difusibilidade média (MD), anisotropia relativa (RA), anisotropia fracional (FA). A primeira medida é a soma dos

três valores próprios e é rotacionalmente invariável [4, 10, 39].

$$Tr(\mathbf{D}) = D_{xx} + D_{yy} + D_{zz} \quad (2.12)$$

Esta está relacionada com a difusibilidade média (MD) dada por: :

$$MD = \frac{D_{xx} + D_{yy} + D_{zz}}{3} = \frac{trace}{3} \quad (2.13)$$

E permite estimar o ADC médio ao longo dos três eixos ortogonais.

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \cdot \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2}{(\lambda_1)^2 + (\lambda_2)^2 + (\lambda_3)^2}} \quad (2.14)$$

$$RA = \sqrt{\frac{1}{3}} \cdot \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2}{\langle \lambda \rangle}} \quad (2.15)$$

Tanto a FA como a RA têm um numerador relacionado com a variância dos três valores próprios. FA mede o grau de anisotropia do voxel, ou seja, em caso de o meio ser infinitamente anisotrópico este apresenta o valor um, caso contrário, se for isotrópico apresenta o valor zero. Associado com o seu comportamento na presença de ruído é a forma de definir o tensor de difusão mais usada em meio clínico [49]. É ainda usual criar um mapa de cores em que a intensidade é dada pelo valor de FA e a cor codificada usando o sistema RGB (*Red, Green, Blue*), de forma a permitir mais diretamente visualizar as direções de difusão, sendo que azul corresponde a difusão inferior-superior, o vermelho a difusão no eixo lateral-medial e a componente verde a difusão segundo o eixo anterior-posterior [8, 11].

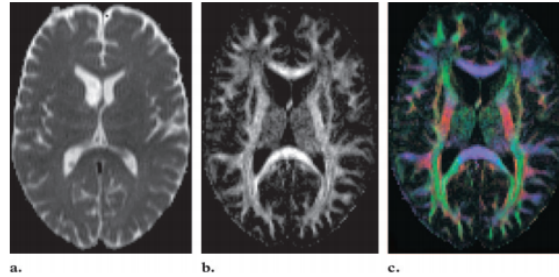


Figura 2.14: Extração dos valores escalares do tensor. (a) Imagem de MD. (b) Imagem de FA. Imagem de FA com codificação de cor, a intensidade é proporcional ao FA [9].

Um problema do DTI advém do facto do modelo Gaussiano não ser capaz de descrever tão bem os dados experimentais em regiões de cruzamento de fibras. Uma vez que, o modelo de DTI pressupõe a existência de uma única população de fibras, os valores estimados para o índice de difusão anisotrópica e a orientação das fibras não correspondem à realidade, dado que deixa de haver uma única fibra para obter orientação e passamos a conjuntos de fibras [8, 10].

Novos métodos têm sido desenvolvidos nos últimos anos, que abordam o problema de cruzamento de fibras e permitem obter informação mais correta sobre a orientação e índice

de difusão destas. Exemplos dessas técnicas são a q-ball, *Spherical Deconvolution* (SD), *Diffusion Spectrum Imaging* (DSI), *Diffusion Kurtosis Imaging* (DKI) [10, 11, 39, 41, 42]

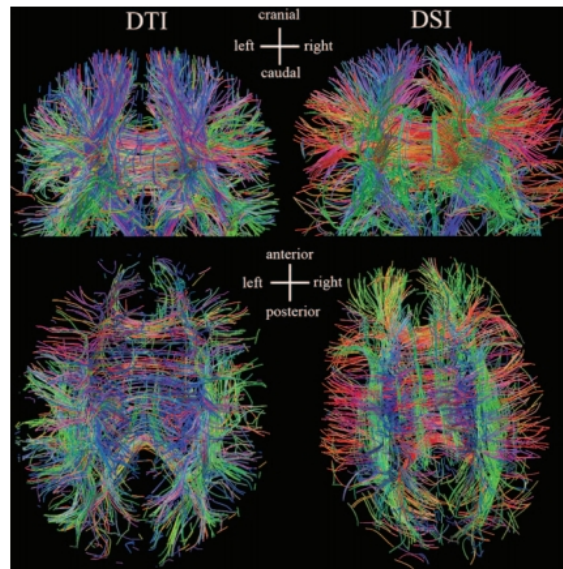


Figura 2.15: Nesta imagem é possível observar a diferença entre o *fiber tracking* da DTI e da DSI. É fácil de perceber que em DSI o *crossing* não apresenta o problema da DTI possibilitando ver as zonas de *crossing* sem problema [10].

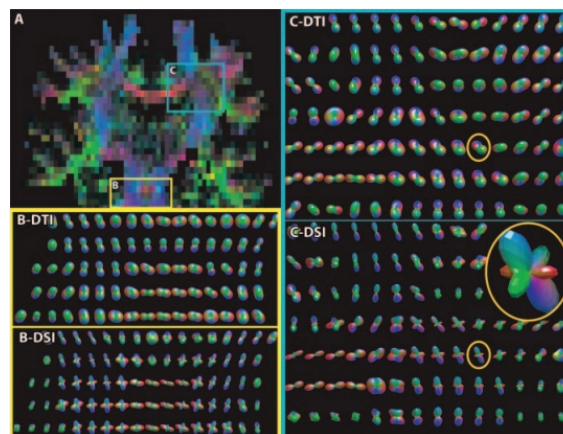


Figura 2.16: Comparação entre DTI e DSI em regiões de *crossing*. Em A, temos uma imagem coronal que mostra a protuberância(B) e o centro semi-oval (C). As restantes imagens permitem observar a diferença da forma do tensor nas duas regiões para as duas técnicas [10].

2.5 Tractografia

A DWI é um método de estudo da microestrutura tecidular e citoarquitettura associada. Um objetivo de grande relevância do estudo do cérebro através da difusão das moléculas de água, mais concretamente da tractografia é a possibilidade de conseguir extrair informação sobre a anatomia e conectividade da substância branca entre as várias regiões do cérebro [11].

Com a reconstrução das fibras, baseada no perfil de difusão, é possível gerar uma imagem de três dimensões que permite visualizar a trajetória das fibras no cérebro [8, 11].

Em tractografia existem três tipos principais de fibras que são nomeadas de acordo com a sua localização e regiões que ligam: fibras associativas, de projeção e comissurais. As fibras associação ligam regiões dentro do mesmo hemisfério com uma direção anterior – posterior, as fibras de projeção são responsáveis pela transmissão de sinais entre a região cortical e subcortical num sentido superior – inferior enquanto as fibras de comissurais conectam ambos os hemisférios [12].

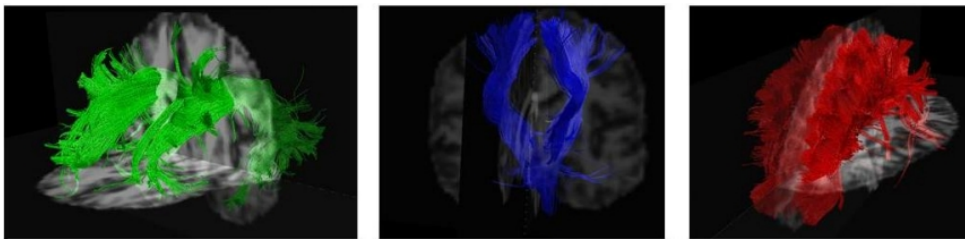


Figura 2.17: Várias fibras observáveis em tractografia. Da esquerda para a direita temos fibras associação, fibras de projeção e fibras de comissurais [11].

Vários algoritmos podem ser usados na reconstrução das fibras, estes estão divididos em determinísticos, probabilísticos e globais. No entanto todos partilham as mesmas regras heurísticas sobre a terminação de uma reconstrução (*streamline*). Assim, a reconstrução termina por uma de duas razões: se a frente da *streamline* chegar a uma região onde o valor de FA é inferior a um valor previamente estabelecido (*threshold*) ou se o ângulo entre voxels superar um pré definido patamar [10, 12].

No âmbito desta tese apenas será considerado o algoritmo determinístico. Para mais informação sobre algoritmos de reconstrução e propagação é recomendado: *Diffusion MRI – From quantitative measurements to in vivo neuroanatomy* [4].

2.5.1 Algoritmo Determinístico - FACT

A reconstrução da *streamline* é um processo de integração voxel a voxel que segue a direção de máxima difusão. Ou seja, em cada voxel do cérebro, a direção de máxima propagação é considerada paralela ao vector próprio principal associado ao valor próprio, λ_1 , tal que a reconstrução da streamline segue a sua direção voxel a voxel em 3 dimensões. Ao chegar ao limite de cada voxel a trajetória muda para coincidir com o novo vector próprio associado

ao novo λ_1 e assim prossegue até ocorrer uma das condições previamente mencionadas. [10, 12]

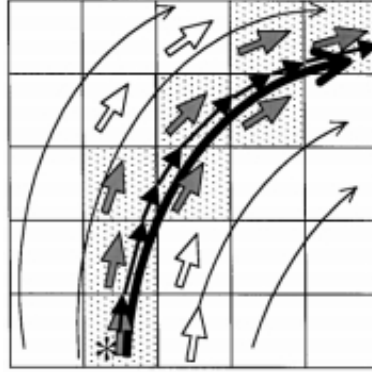


Figura 2.18: Propagação da *Streamline* [12]

Matematicamente a *streamline* pode ser representada como uma curva 3D no espaço. A equação que descreve a curva deriva do facto de que a tangente à *streamline* ter de ser paralela à orientação da fibra. A localização desta, r , é uma função do comprimento do arco s . Assim, para ocorrer a reconstrução da fibra a partir de um vector de campo, a tangente à *streamline* no comprimento de arco s é considerada a estimativa local da orientação da fibra. A equação que descreve a propagação da *streamline* é:

$$\frac{d\mathbf{r}(s)}{ds} = \varepsilon_1(\mathbf{r}(s)) \quad (2.16)$$

Esta técnica apresenta algumas limitações como a definição correta de Regiões de Interesse (ROIs), para que o resultado inclua apenas fibras de interesse, a reconstrução de apenas uma *streamline* por seed, região inicial de propagação, e o facto da reconstrução na substância cinzenta estar comprometida devido à baixa anisotropia [10, 11, 12, 50].

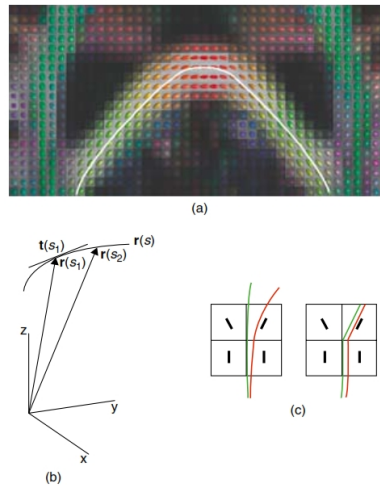


Figura 2.19: Em A podemos observar uma *streamline*. B e C mostra como o algoritmo reconstrói a *streamline* com base a equação 2.16 [12]

2.5.2 Observação

Normalmente, as *streamline* são consideradas como axónios ou fibras nervosas, mas mais corretamente estas devem ser consideradas como linhas de máxima difusão [12, 50].

As técnicas de tractografia têm evoluído nos últimos anos, no entanto ainda resta muita coisa por descobrir acerca do cérebro humano e o impacto desta técnica nesses avanços. A única certeza é que esta técnica tem demonstrado grande aplicabilidade na localização de tratos para estudos de alterações de conectividade estrutural causada por quebras nas vias de transmissão [10].

2.6 Conectividade

2.6.1 Introdução

Nas últimas décadas houve um aumento exponencial na investigação em neurociência. Este aumento deveu-se em parte à proliferação de técnicas não invasivas de análise da estrutura e actividade cerebral. As técnicas de neuro-imagem encontram-se neste grupo e têm gerado imensos conjuntos espaciotemporais de dados. Atualmente, uma das áreas com mais avanços técnicos e que está gerando muito interesse na comunidade científica é a conectividade cerebral [9, 13, 14, 51].

O córtex cerebral do cérebro humano consiste em milhões de neurónios organizados numa complexa rede de circuitos locais e fibras de longo alcance. Esta rede forma o substrato que permite a interação entre regiões especializadas do cérebro [9, 14, 51].

Os estudos de conectividade nestas redes pode ser dividida em três tipos: estrutural, funcional e efetiva [9, 15]. A conectividade estrutural refere-se a conexões anatómicas existentes entre regiões do cérebro, normalmente associadas a tratos de substância branca. A conectividade funcional, por sua vez, corresponde a correlação temporal entre a atividade de duas regiões, independentemente da existência ou não de ligação anatómica. Por último, a conectividade efetiva baseia-se na influência causal de uma região em relação a outra [4, 9, 13, 51].

2.6.2 Redes - Definição e propriedades

Uma rede é um modelo matemático representativo de uma rede real. Este é definido por uma coleção de nodos (vértices) e conexões (arestas) entre pares de nodos. Se for considerado um cérebro real, os nodos representam regiões cerebrais enquanto as arestas representam conexões estruturais, anatómicas ou efetivas [9, 14, 15]. Em função do objetivo desta tese, serão consideradas apenas as conexões anatómicas, que representam as fibras de substância branca que ligam regiões.

As características das conexões definem as propriedades da rede. Assim, se considerarmos uma rede indireta e não ponderada (*unweighted undirected network*) as conexões tem a mesma força ou comprimento; se uma determinada conexão existir esta é representada

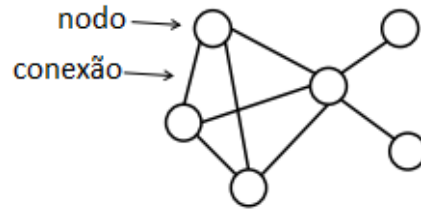


Figura 2.20: Representação gráfica de uma rede (grafo). Adaptado de [13].

pelo valor um, caso contrário pelo valor zero. Neste caso as conexões são bidirecionais, o que significa que a informação tanto vai de A para B como ao contrário. Se a rede for ponderada (*weighted*) então não é possível dizer que as conexões são iguais. Aqui, existem conexões com mais força que outras. Assim, a força de cada conexão representa a ponderação desta. Finalmente, se a matriz for direcional (*directed*) então as suas conexões são unidirecionais, isto significa que o fluxo de informação pode ir de A para B mas que não tem necessariamente que existir correspondência inversa [9, 13, 14, 51]. Na figura seguinte é possível ver a representação gráfica dos vários tipos de matrizes de conectividade.

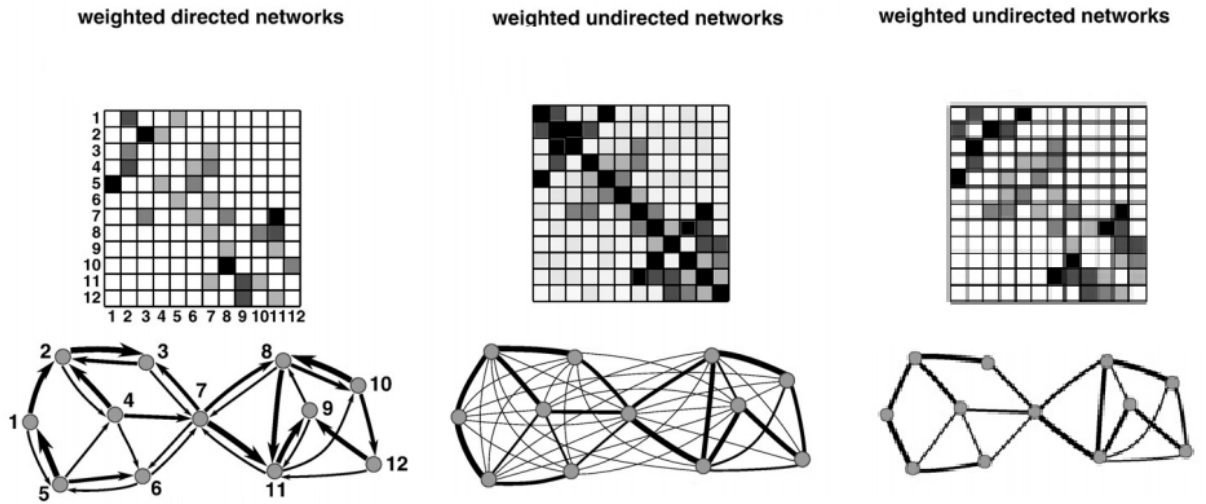


Figura 2.21: Representação gráfica de matrizes de conectividade [14].

A análise dos grafos, apesar de poder ser feita pelo método gráfico, normalmente é feita em forma de matriz. A esta chama-se matriz adjacente (*adjacency matrix*) e é do tipo n por n , sendo esta o número de nodos da rede [9].

2.6.3 Rede estrutural do cérebro

Estas matrizes permitem quantificar uma ampla gama de características da rede. Trabalhos demonstram que o córtex cerebral é composto por *clusters* agrupados em regiões corticais que estão interligadas [9, 14]. Várias configurações para a organização da rede cerebral foram propostas, no entanto a que mais se adequa, por partilha de atributos é a

de rede *small-world*. Nesta configuração, existem densas aglomerações de conexões entre nós vizinhos com distância curta entre pares de nodos. Apesar disso, também ocorrem algumas conexões de longa distância. As redes *small-world* apresentam elevados coeficientes de *clustering*, percursos característicos curtos e ainda apresentam motivos, padrões de conectividade que se repetem na rede. No estudo de uma rede é frequente encontrar nodos com grande número de conexões e que partilham uma localização muito central, estes são denominados de *hubs* [9, 13, 14, 51]. Na figura seguinte são mostradas diferentes configurações para uma rede, sendo a configuração de interesse a rede *small-world*.

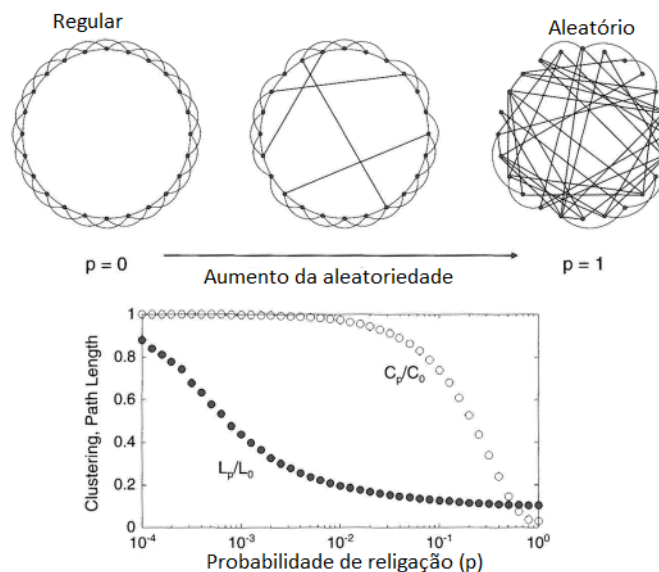


Figura 2.22: Três tipos básicos de rede. Começando pelo gráfico da esquerda as conexões são estabelecidas ao acaso com uma probabilidade p . para $p=0$, a rede é regular, para $p=1$ a rede apresenta um comportamento aleatório. As redes intermédias consistem em misturas destas duas. Os gráficos, na região inferior, mostram o *clustering*, C , e o comprimento do conexão, L , ambos normalizados a $p=0$. Neste gráfico é possível observar que há um grande intervalo em que as redes têm um coeficiente de *clustering* similar às rede regulares, $p=0$, e um comprimento de conexão parecido ao de uma rede aleatória, $p=1$. Entre estes dois intervalos, qualquer possível rede apresenta características de *small-world*. Adaptado de [15].

2.6.4 Medidas de caracterização da rede

A grande vantagem da análise das redes é a quantificação precisa dos parâmetros que permitem examinar a topologia e eficiência da rede. Apesar de haver grande número de parâmetros de quantificação e análise apenas serão enunciados alguns. Para mais informação recomenda-se a leitura de [9, 15]. Na figura 2.23 será possível integrar de forma gráfica algumas das métricas que serão seguidamente descritas.

Nodo: Cada neurónio ou grupo de neurónios pode ser considerado um nó independente e homogéneo. Assim, um nodo é idealmente uma representação de uma região cerebral com conexões anatómicas e funcionais [9, 15].

Conexão: A nível celular, as conexões são usualmente definidas como as sinapses entre neurónios. A nível da macro-escala poderão representar tractos axonais [9, 15].

Grau de um nodo: Número de conexões que o ligam ao resto da rede. Esta é a medida fundamental da rede e a maioria das outras medidas são dependentes do grau do nodo [9, 15].

Força: Soma das ponderações das ligações conectadas ao nodo [9, 15].

Assortatividade: é o coeficiente de correlação entre graus e nodos conectados. Assortatividade positiva indica que os nodos tendem a ligar-se a outros nodos com o mesmo grau [9, 15].

Coefficiente de *clustering*: Fração dos triângulos à volta do nodo (equivalente à fração dos nós vizinhos que são vizinhos uns dos outros). A ponderação do coeficiente de *clustering* é a média da intensidade dos triângulos à volta do nó (movitos) [9, 15].

Eficiência local: A eficiência local é equivalente à eficiência global computada nos nodos vizinhos e está relacionado com o coeficiente de *clustering* [9, 15].

Modularidade: A modularidade é uma estatística que quantifica o número de sub-grupos claramente delineados em que a rede pode ser dividida [9, 15].

Raio: Excentricidades mínima, ou seja, a distância mínima entre dois vértices [9, 15].

Diâmetro: Excentricidade máxima, ou seja, a distância máxima entre dois vértices [9, 15].

Distância (λ): A matriz de distância contém comprimentos de caminhos entre todos os pares de nós. O comprimento do percurso característico é a média do comprimento do caminho mais curto na rede. A rede pode assim caracterizar-se pelo λ , pela eficiência global, pela excentricidade, pelo raio (raio do grafo) e pelo diâmetro (diâmetro do grafo) [9, 15].

Eficiência global: Média do inverso do comprimento do caminho mais curto na rede, e é inversamente relacionado com o comprimento característico do caminho [9, 15].

Excentricidade: Comprimento do caminho curto máximo entre um nodo e qualquer outro nodo [9, 15].

Densidade: Fração das conexões presentes relativamente a todas as conexões possíveis. As ponderações das conexões são ignoradas nos cálculos [9, 15].

***Betweenness centrality*:** Fração de todos os caminhos mais curtos da rede que contêm um dado nodo. Nodos com grandes valores de *betweenness centrality* participam num grande número de caminhos característicos [9, 15].

***Edge betweenness centrality*:** Fração de todos os caminhos mais curtos da rede que contêm uma dada conexão. Conexões com altos valores de *betweenness centrality* participam num grande número de caminhos curtos [9, 15].

Hub: O hub é um nodo que apresenta um elevado grau e que por isso funciona como a peça central de um aglomerado conectivo, que recebe os sinais transmitidos pelos neurónios e os retransmite para todos os demais. Todos os axónios são ligados ao hub ou *switch*, que serve como uma central, de onde os sinais são retransmitidos para os demais [9, 15].

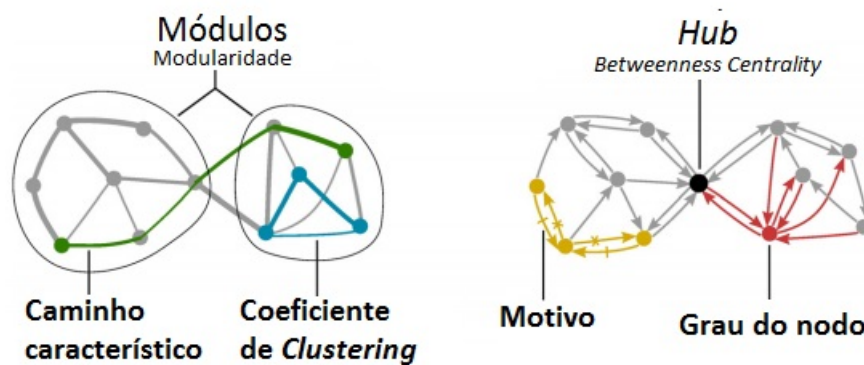


Figura 2.23: Medidas da rede. Estas têm normalmente por base propriedades básicas de conectividade (cinzento). Assim, as medidas de integração baseiam-se em comprimentos de caminho mais curtos (verde), enquanto medidas de segregação são muitas vezes baseadas no coeficiente de *clustering* (azul), mas também incluem divisão em módulos mais sofisticados (ovais). Medidas de centralidade podem ter por base o grau de nodo (vermelho) ou o comprimento e o número de caminhos mais curtos entre os nodos. Os Hubs (preto) participam muitas vezes num elevado número de caminhos mais curtos e, consequentemente, têm *Betweenness centrality* alta. Os padrões de conectividade local são quantificados por motivos da rede (amarelo) [14].

Em breve, novos métodos de estudo da conectividade permitirão análises mais completas com melhor visualização e de mais fácil interpretação e análise. Tais métodos vão permitir uma rápida análise dos parâmetros mais importantes nas neurociências como volume da substância cinzenta, espessura média de substância cinzenta, grau de conectividade entre outras [52].



Neuroanatomia e Parkinson

A Doença de Parkinson (DP) foi descrita pela primeira vez, há cerca de 200 anos, por James Parkinson em *An Essay On The Shaking Palsy* [53]. Tendo sido descrita inicialmente como "Movimento trémulo involuntário, com força muscular diminuída, em partes que não estão em acção e até mesmo quando suportado, com uma propensão para dobrar o tronco para frente e para passar de um andar para uma passada de corrida: os sentidos e intellecto ficam ilesos"[53]. Desde então muita coisa mudou em relação ao nosso entendimento científico sobre a doença.

Actualmente, a DP é a segunda doença neurodegenerativa mais comum em todo o mundo, precedida apenas pela doença de Alzheimer. Na Europa estima-se que tenha uma incidência de cerca de 11 a 19 novos casos por cada 100,000 habitantes por ano e uma prevalência de 108 a 257 casos por cada 100,00 habitantes por ano.[18, 21, 54, 55, 56] No entanto, estes valores tendem a aumentar quando se consideram idades superiores a 60 anos. Em Portugal a prevalência é de cerca de 130 casos por cada 100,000 habitantes por ano [55].

Esta é uma patologia neurodegenerativa crónica progressiva e parece ter um pico de incidência entre os 60 e 65 anos, tendendo a aparecer mais cedo nos homens do que nas mulheres (rácio, 1.5 a 2.0) [21, 55, 57]. Certos autores como *Massano* referem nos seu trabalhos que alguns factores como a exposição a pesticidas, chumbo e hipertensão arterial podem ser responsáveis pelo aumento do risco de DP [21, 58]. Outros referem que as pessoas sujeitas ao tabaco, os consumidores de chá, café, as mulheres que realizam tratamento hormonal de substituição pós menopausa e indivíduos com níveis séricos elevados de ácido úrico têm um risco diminuído de desenvolver DP [21, 58].

3.1 Parkinson

A Doença de Parkinson (DP) é uma patologia neurodegenerativa do sistema nervoso central (SNC). Caracteriza-se clinicamente por quatro sintomas principais: o tremor em repouso predominante nas regiões distais dos membros superiores, bradicinesia que é uma diminuição da velocidade e/ou amplitude de movimento, rigidez que é caracterizada por resistência na movimentação passiva dos membros e, por fim, instabilidade. Estas manifestações conjugam-se levando a alterações posturais e de marcha muitas vezes acentuada, caracterizando-se por uma postura flectida mas rectificadora quando em decúbito, marcha lenta com redução do movimento dos membros superiores, podendo ainda ocorrer bloqueios de marcha, principalmente no início da mesma [21, 54, 59, 60].

Além dos sintomas motores, a doença manifesta-se por um grande número de sintomas não motores. Alguns dos sintomas não motores podem preceder os motores em alguns anos, destacando-se as alterações olfativas. Outras alterações frequentes no período inicial da doença são a depressão e alterações do sono REM [60, 61, 62, 63, 64]. A DP associa-se a alterações progressivas dos neurónios dopaminérgicos do mesencéfalo afectando várias partes do complexo nigroestriado com diferentes graus de gravidade, sendo a perda mais severa na porção ventrolateral da *substantia nigra pars compacta*, sendo esta alteração considerada como uma das marcas identificativas da doença. [61, 65, 66] Os processos patológicos que levam ao aparecimento da DP iniciam-se muito tempo antes do aparecimento dos sintomas motores. Tal leva a que, quando é feito o diagnóstico grande parte das fibras e da *substantia nigra* já se tenham degenerado [60, 65]. Na grande parte dos casos de DP ocorre a presença de inclusões citoplasmáticas que contêm proteínas, chamadas corpos de *Lewy*, identificáveis em estudos de neuropatologia, sendo estas inclusões um meio ímpar de diagnóstico. No entanto, só podem ser observados *post-mortem* [61].

3.2 Neuroanatomia

São várias as estruturas que sofrem alterações quando um sujeito tem DP. Começando pelo tronco cerebral, passando pela região sub-cortical e terminando no córtex serão apresentadas as regiões onde é mais comum ocorrerem alterações num sujeito com esta patologia.

Mesencéfalo: Uma das regiões do tronco cerebral, situada por cima da protuberância e abaixo do diencéfalo. Esta região é atravessada por tractos nervosos em ambos os sentidos, nomeadamente da via auditiva, controlo dos movimentos oculares. Fazendo um corte horizontal nesta região, podemos encontrar os seus constituintes, onde os mais importantes, para a DP, são os núcleos rubros, responsáveis pela regulação e controlo inconsciente de actividades motoras, e a *substantia nigra* responsável pela manutenção do tónus muscular e coordenação de movimentos, ambas partes do sistema dopaminérgico [67].

Núcleos da Base: São um conjunto de núcleos de substância cinzenta do telencéfalo, diencéfalo e mesencéfalo localizados na região mais interna do encéfalo dos vertebrados, mais concretamente na região subcortical-basal do encéfalo. Estas estruturas controlam

a actividade motora por meio da regulação de impulsos neuro motores que facilitam a sua actividade tónica, auxiliando o planeamento e execução de movimentos sequenciados, sendo um exemplo a marcha [68]. Deste conjunto de estruturas fazem parte:

Striatum: Composto pelo núcleo caudado, o *Putamen*, os *Globus Pallidus* e *Nucleus Accumbens* [17]. O *Putamen* é responsável pela regulação dos movimentos amplos e exerce influência nos vários tipos de aprendizagem. O núcleo caudado está associado com mecanismos de aprendizagem e memória [69]. Os *Globus Pallidus* é uma das estruturas que regulam o movimento em conjunto com o cerebelo é responsável pela movimentação equilibrada [17]. O *Nucleus Accumbens* associado com mecanismos de regulação motivacional e recompensa, através da literatura sabe-se que alterações nesta região podem, muito frequentemente, levar a quadros clínicos de depressão [70, 71].

Substantia nigra já falado anteriormente.

Núcleos subtalâmico: estes actuam como moduladores das acções de todos os outros núcleos da base, lesões nesta estrutura levam a movimentos desordenados e de grande amplitude [72].

Na figura 3.1 é possível observar a localização das regiões que constituem os núcleos da base.

Outra região de grande interesse é o Tálamo, a maior região do diencefalo, influencia o humor e o movimento associados a emoções fortes, como medo e raiva. À excepção dos neurónios olfativos todos neurónios sensitivos que são projectados para o cérebro passam por aqui, transformando-o num grande centro de transmissão de informação [67].

Finalmente a nível subcortical temos: O hipocampo, que é uma das maiores componentes do cérebro humano, responsável pela consolidação de informação proveniente da memória de curta duração em memórias de longa duração e também apresenta um papel importante a nível da navegação espacial.[73]. A Amígdala é o centro de integração de emoções, comportamento emocional e motivação. O que leva a que lesões/alterações nesta região impliquem alterações de humor ou mesmo distúrbio bipolar [74].

Uma das regiões corticais mais relevantes no âmbito desta dissertação é o córtex motor. Este está localizado no lóbulo frontal e engloba três estruturas: o córtex motor primário, o Córtex Pré-motor e a Área motora suplementar. Estas regiões são responsáveis pelo planeamento de acções voluntárias, coordenação de sequências de movimentos, avaliação de um movimento face ao contexto ambiental e funcionam como centro de envio de comandos para os neurónios motores para execução de acções desejadas. A figura 3.2 permite a localização destas regiões no cérebro humano.

Geralmente, o córtex motor primário não controla o sujeito directamente, mas sim os movimentos individuais ou sequências de movimentos que requerem actividade muscular. Por sua vez, o Córtex Pré-Motor possui tractos que se ligam ao Córtex Motor Primário e à Medula directamente e permite a realização de movimentos mais complexos que o Córtex Motor Primário. Finalmente a Área Motora Suplementar está relacionada com sequências complexas de movimentos e coordenação bilateral. Parece apresentar selecção de sequências de movimentos face a um estímulo visual [17, 75].

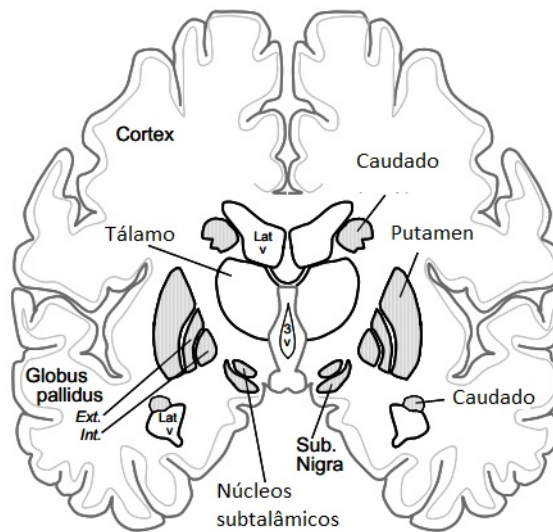


Figura 3.1: Localização ilustrativa dos núcleos da base. Adaptado de [16].

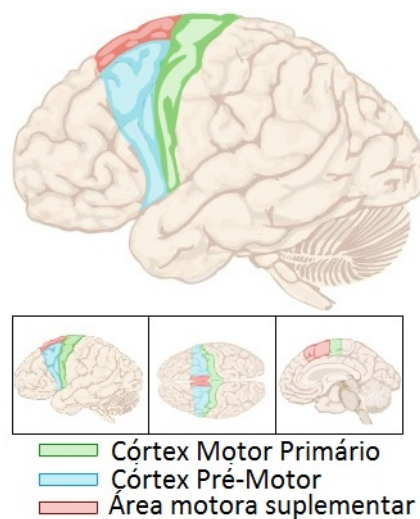


Figura 3.2: Ilustração da localização das regiões do Córtex Motor (vista lateral, dorsal e medial). O Córtex Motor Primário está localizado anteriormente ao Sulco Central. Adaptado de [17].

Relativamente a este tópico ainda é necessário referir o córtex associativo, constituído pelo córtex pré-frontal e pelo córtex parietal posterior. Estes apesar de não serem áreas motoras, são necessárias para garantir que os movimentos são adaptativos às necessidades do organismo e apropriados contexto comportamental [17, 75].

De seguida serão enunciadas as três vias de transmissão mais relevantes na Doença de Parkinson: a via Nigroestriada, Mesolímbica e Mesocortical.

Via Nigroestriada: A via nigroestriada permite a transmissão de sinal que se inicia nos neurónios da *substantia nigra pars compacta* e termina no *Striatum*. Nesta região,

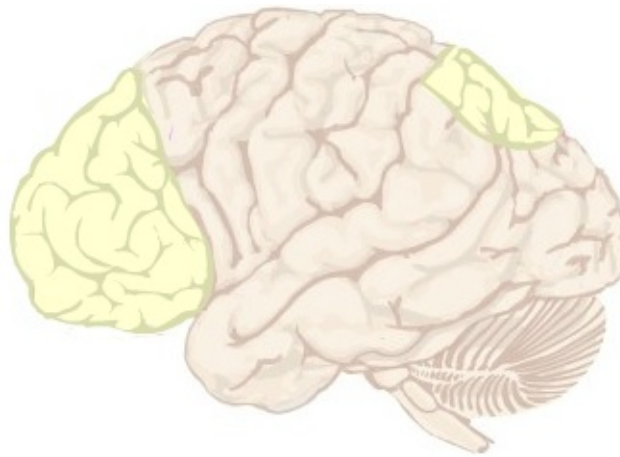


Figura 3.3: Ilustração da localização das regiões do córtex associativo. À esquerda temos o Córtex Pré-Frontal e à direita o Córtex Parietal posterior. Adaptado de [17].

esta via é capaz de modular o fluxo de informação que chega aos neurónios de projecção do *striatum*. Aqui a neurotransmissão é feita através da dopamina, assim, quando há um défice de dopamina chega menos informação aos neurónios de projecção do *Striatum* o que irá provocar alterações na informação que chega ao cortex motor [76].

Mesolímbica: A via mesolímbica é também uma via dopaminérgica com projecções para o *Nucleus Accumbens*, Amígdala, Núcleo olfatório (Córtex Frontal), Córtex Entorinal e Hipocampo. Esta via é essencial para a função cognitiva normal do Córtex Pré-Frontal (região dorsolateral) [77].

Mesocortical: Esta via neuronal projeta-se para o Córtex Pré-Frontal e Córtex Cingulado [77].

3.3 Diagnóstico

O diagnóstico nesta patologia ocorre, na grande maioria dos casos, aquando o aparecimento dos sintomas motores, sendo já a perda dos neurónios dopaminérgicos elevada. Em geral o diagnóstico é clínico, e realizado com o recurso à *Unified Parkinson's Disease Rating Scale* [23], que é um exame clínico dividido em 4 partes e que permite ao clínico perceber a evolução e o grau da patologia. Contudo o diagnóstico não é preciso, surgindo a necessidade de biomarcadores que auxiliem no diagnóstico da doença, tanto a nível do estado como a nível da gravidade [20, 21, 22]. As actuais limitações levam a que a diferenciação entre a DP e outras patologias, como a variante parkinsonica de atrofia multi-sistema seja difícil [24].

Com o objectivo de ultrapassar esta dificuldade a comunidade científica tem pesquisado por biomarcadores que possam ser implementados de forma rápida e simples em meio clínico. Alguns autores [22, 66, 78] baseiam os seus estudos na análise de uma região.

No entanto, a DP induz alterações em inúmeras regiões, em que se destacam o tronco cerebral, os gânglios ou núcleos da base e regiões corticais [20, 22, 60, 64, 79].

Com essa premissa estudos recentes têm pesquisado por alterações em maior número de regiões. Autores como *Péran et al.* [20] e *Zhan et al.* [75] reportaram alterações nas métricas de difusão. *Péran et al.* [20] no seu estudo reporta aumento de MD para o Tálamo e diminuição de FA para a mesma estrutura. Por sua vez, *Zhan et al.* [75] acrescenta a diminuição do FA para o *Putamen*, *Striatum* e área motora suplementar. A título mais recente trabalhos como o de *Hengjun et al.* [25] vêm reforçar estes resultados e adicionar aumento de valores de MD para os *Globus Pallidus*. Finalizando *Kamagata et al.* [80] reportaram alterações nos valores de FA do *cingulum*. Em todos os trabalhos anteriores foram também reportadas reduções do valor de FA no cíngulo posterior, diminuição do FA na *substantia nigra* e alterações não especificadas no Giro Pós-Central. Estes reportam que os valores de FA e MD são suficientes para obter uma discriminação superior a 95% entre indivíduos com DP e controles.



Materiais e Métodos

4.1 Recrutamento

Os participantes deste estudo são doentes do serviço de imagiologia do Hospital Santa Maria. Todos os participantes foram sujeitos a um processo de avaliação contendo apreciação de historial clínico, exames neurológicos e aquisição de imagens cerebrais.

Este estudo foi realizado após aprovação por parte da comissão de ética do referido hospital e com o consentimento dos intervenientes. Assim, o grupo final continha 20 sujeitos: 10 controlos e 10 pacientes com DP.

4.2 Critérios de seleção

Os critérios de seleção de pacientes para este estudo foram:

1. Doentes com o diagnóstico de DP de acordo com os critérios da *United Kingdom Brain Bank Criteria* (UKBBC) feito por Neurologista especialista em doenças do movimento. Este grupo é formado por indivíduos com diagnóstico inicial de DP e que nunca tomaram medicação anti-parkinsonica.
2. Controlos sem doenças do movimento, avaliados por Neurologista especialista em doenças do movimento, recrutados de forma voluntária e emparelhados quanto ao sexo e idade.

4.3 Critérios de Exclusão

Todos os sujeitos, independentemente do grupo correspondente, que cumprissem o seguinte critério:

1. Existência de contraindicação para a realização de RM em aparelho de alto campo (3.0T).
2. Existência de outra doença neurológica ou psiquiátrica prévia.

4.4 Aquisição de Imagens

A aquisição de imagens foi realizada num equipamento de Ressonância Magnética *Achieva 3.0T X-series MRI* no Hospital Santa Maria. O protocolo consistia na execução de diversos tipos de sequência de IRM, sendo necessários para este estudo os conjuntos de imagens: estrutural e de difusão. O primeiro conjunto foi adquirido utilizando uma sequência *Spoiled Gradient Echo*, ponderada em T1, com os seguintes parâmetros : tempo de repetição (TR) = 9.6 ms, tempo de eco (TE)= 4.6 ms, *field of view* (FOV)=240 ×240 mm, espessura de corte = 1 mm e matriz de aquisição de 336×289. As imagens de difusão foram adquiridas com uma sequência DWI-SS-EPI de 33 volumes. Nesta aquisição, procedeu-se à recolha de uma imagem sem ponderação em difusão ($b_0 = 0 \text{ s.mm}^{-2}$), e 32 imagens ponderadas em difusão. Esta aquisição teve por parâmetros : 32 direções não-colineares de gradientes de sensibilização em difusão, TE = 64 ms, TR= 7703 ms, $b = 1000 \text{ s.mm}^{-2}$, FOV = 240 × 240, espessura de corte = 1.5 mm, espaçamento entre cortes = 0 mm, matriz de aquisição = 256, número de cortes = 60.

Após a sua aquisição, os dados foram transferidos para instalações independentes para processamento e análise com recurso a vários *softwares* que serão, posteriormente, enunciados.

4.5 Processamento de Imagem

Juntamente com os dados de difusão adquiridos, é também exportada do equipamento uma imagem ponderada em difusão resultante da média dos volumes correspondentes a três direções ortogonais e que permite uma avaliação qualitativa da difusibilidade média dos tecidos. Esta imagem apresenta grande interesse para neurorradiologistas pois permite identificar áreas de restrição à difusão como também áreas de facilitação à difusão, que poderão corresponder a possíveis lesões. No entanto, esta imagem não é relevante para o cálculo do tensor de difusão, pelo que, para o efeito deste estudo foi removida antes de se iniciar o processamento de dados.

4.5.1 Pré-Processamento

Inicialmente, foi necessário converter os ficheiros do formato *DICOM* para o formato *NIfTI*. Para tal, foi utilizado o programa *MRIConvert*. Com o objetivo de corrigir artefactos de movimento e distorções induzidas pelas correntes de vórtice todas as imagens foram pré-processadas recorrendo à função *eddy* do FSL (FMRIB, Oxford, UK, version 10.4.1) [81]. Posteriormente, foi aplicada a função *dtifit* [82] do mesmo programa para cálculo do tensor de difusão a cada voxel da imagem e cálculo dos parâmetros de difusão tais como o MD e FA, usados para posterior processamento. Para além dos dados de difusão, este programa requer ainda como entrada uma máscara das regiões cerebrais que é obtida a partir da imagem sem ponderação em difusão através da aplicação do programa BET do FSL [83].

4.5.2 Processamento

Esta fase foi realizada com o apoio do *Matlab* (The mathworks Inc., Natick, Massachusetts, USA). Neste *software* foi implementado um programa de processamento automático que, sendo fornecida como entrada a diretoria dos sujeitos calculava as matrizes de conectividade estrutural de cada indivíduo.

Nos próximos itens serão apresentados os vários passos que permitiram a transformação das Regiões de Interesse (ROIs) do espaço normalizado do Montreal Neurologic Institute (MNI) para o espaço original de cada indivíduo (DTI), bem como a obtenção das métricas de conectividade.

O processamento dos dados dividia-se em 5 fases:

Primeira fase: Foi efectuada a extracção do cérebro nas imagens estruturais com recurso à função *BET*[83] do *FSL*[81], para reduzir o tempo e erros de alinhamento.

Segunda fase: Foi realizado o alinhamento das imagens em duas fases. Numa primeira fase foram apenas consideradas transformações afins do volume de difusão a T1, dado serem do mesmo sujeito. Seguidamente, foi efectuado um alinhamento com transformações não-lineares (especialmente variáveis) sendo fornecida como entrada a transformação afim a aplicar à imagem ponderada em T1 para transformação desta imagem para o espaço *MNI*. Para realizar este passo, foram usadas as funções *flirt*[84, 85] e *fnirt*[84] do *FSL* e a imagem template *MNI152_1mm*. Com este passo foram obtidas matrizes de transformação que aplicadas aos ROI transportam estes do seu espaço normalizado (*MNI*) para o espaço pretendido (*DTI*). Finalmente, foram obtidos os valores médios de MD e FA de ROIs específicos.

Terceira fase: Recorrendo ao *Diffusion toolkit* (DTK) [86] e ao tensor de difusão reconstruído anteriormente foi construída uma imagem onde são representados os tractos de substância branca, o método usado pelo DTK encontra-se explicado no capítulo 2. Com a ajuda do programa *TrackVis* [86] foi possível visualizar o modelo criado e com informação adquirida na bibliografia foi feita a confirmação da correcta orientação dos tractos.

Quarta fase: Criação de matrizes de conectividades estrutural. Recorreu-se à *Toolbox MIBCA* [87] para criação das matrizes para estimar as ligações entre as várias ROIs consideradas no estudo. Por fim, as matrizes de todos os sujeitos foram binarizadas. Neste estudo foi optado por avaliar a existência de ligações entre dois ROIs e não o número de ligações entre estes.

Quinta fase: Extração das métricas de conectividade relevantes para este estudo e descritas no capítulo 2: Grau, *Clustering*, Eficiência Local e *Betweenness centrality*. Para comparar os resultados obtidos para os dois grupos, foram realizados testes estatísticos descritos na secção 4.7.

4.6 Regiões de Interesse (ROIs)

As ROIs usadas neste trabalho para as métricas de difusão foram retiradas do atlas sugerido por Catani [88]. Foram usadas apenas as ROIs referentes à substância cinzenta com o objectivo de identificar alterações nestas regiões. Estas foram divididas em ROIs corticais e ROIs subcorticais.

Quanto às ROIs Corticais foi dada atenção a quatro regiões bilaterais. Duas onde eram esperadas alterações e duas sem qualquer referência à DP. A ROI bilateral *Precuneus Cortex* e a ROI representativa do córtex medial frontal estão relacionadas com processos cognitivos, que se sabem ser afectados na DP, pelo que é esperado que ocorram alterações na difusibilidade nestas regiões associadas a PD. No que diz respeito as ROIs de controlo temos a ROI bilateral associada à região orbital do córtex frontal e a ROI bilateral *Cuneal Cortex*, ou 17^a área de Brodmann. Segundo a revisão bibliográfica feita, não foi encontrada qualquer referência a estas ROIs em estudos anteriores da DP. Estas foram por isso escolhidas como referência, não sendo esperadas alterações a nível de conectividade nem de difusibilidade, nestas estruturas.

A nível subcortical foram considerados seis ROIs bilaterais : núcleo accumbens, núcleo caudado, hipocampo, *globus pallidus*, putâmen e tálamo; e o tronco cerebral. Todas estas foram escolhidas de acordo com *Messina et al.*, que encontrou alterações volumétricas nestas regiões em pacientes com DP comparativamente a controlos.[89]

Com o objectivo de fazer um estudo geral da conectividade na DP foram usados todos os ROIs pertencentes ao Atlas referido no início desta secção.

4.7 Estatísticas

Em estatística existem dois tipos principais de testes: os paramétricos e os não paramétricos. Os testes paramétricos fazem suposições sobre um ou mais parâmetros populacionais que caracterizam a distribuição subjacente à amostra em estudo, exigindo nomeadamente que a amostra ou conjunto de amostras em estudo tenha uma distribuição normal. [90, 91].

Apesar de ser possível, com testes paramétricos, obter conclusões mais específicas em comparação com os testes não paramétricos, é essencial garantir que as suas condições de aplicabilidade não são violadas. Os testes não-paramétricos têm o senão de apenas permitirem testar hipóteses mais amplas e mais conservadoras que as dos testes paramétricos [90, 91].

Após estarem estabelecidas a hipótese nula e a alternativa e ter sido escolhido o teste a ser aplicado em função do tipo de dados adquiridos há a necessidade de estipular o nível de significância. Este indica a probabilidade de rejeição da hipótese nula face à alternativa, se a primeira for verdadeira (valor p). É comum definir um nível de significância de 0.05, tal que se o valor p for inferior a este valor os resultados são considerados aceites como significantes, enquanto que se for observado um valor superior, não é possível rejeitar a hipótese nula [90, 91].

Foi utilizado o programa estatístico SPSS 20 (IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.) na análise dos dados estatísticos desta dissertação.

Neste estudo o número de amostras é claramente inferior ao número de amostras mínimo para realização de testes paramétricos, além de que não é conhecida a sua distribuição. Assim, foi estudado inicialmente a aderência à normalidade.

4.7.1 Teste de Kolmogorov-Smirnov e teste de Shapiro-Wilk

O teste de Kolmogorov-Smirnov (KS) e o teste de Shapiro-Wilk são usados para testar a aderência à normalidade, ou seja, para testar se a amostra segue uma distribuição normal. Este é um passo de grande relevância porque o resultado da distribuição irá influenciar o tipo de teste estatístico a usar. No teste de KS é testada a concordância entre um conjunto de valores de uma dada amostra e uma distribuição teórica específica, que para o nosso caso é a distribuição normal [91]. Neste teste são comparadas as frequências relativas acumuladas obtidas com as frequências relativas esperadas. Finalmente é calculado o ponto onde as duas frequências demonstram a divergência máxima. [90, 91, 92, 93].

Por sua vez, o teste de SW é utilizado para amostras pequenas [90] e apresenta maior eficácia na determinação da aderência à normalidade que o teste de KS.

Relativamente a ambos os testes, se o valor p for inferior a 0.05 conclui-se que as variáveis em estudo não seguem uma distribuição normal, caso contrário, considera-se que a distribuição da amostra segue a normalidade [90, 91].

4.7.2 Teste de Mann-Whitney

Este teste é considerado um dos testes não paramétricos mais relevantes, é a melhor alternativa ao teste paramétrico *t-student* para amostras independentes, quando se pretende evitar os pressupostos deste. Este permite a comparação entre dois grupos independentes face a uma variável numérica ou ordinal. [90, 91] Uma vantagem deste teste é que os dois grupos não necessitam possuir o mesmo número de elementos.

Neste teste é pretendido observar se duas amostras independentes pertencem a uma

mesma população. Ao contrario do *t-test*, o teste de *Mann-Whitney* testa a igualdade das medianas das amostras. Aqui será avaliado o grau de cumplicidade dos dados de cada grupo após ordenação. O aumento da separação do dados leva a rejeição da hipótese nula: as amostras não pertencem à mesma população [90, 91], isto deve-se a premissa de que duas amostras retiradas da mesma população possuem uma igualdade de medianas [91].

De forma a realizar a estatística de MW os conjuntos de dados são ordenados de forma ascendente e é atribuído um *score*. Considerando T como a soma dos *score* da primeira amostra o teste MW é calculado dom reculso a epressão:

$$U = n_1n_2 + n_1(n_1 + 1)/2 - T \quad (4.1)$$

Com n_1 e n_2 como os tamanhos da primeira e da seguga amostra respectivamente.

Finalmente, o valor U, obtido da equação anterior, é comparado com valores tabelados deste teste e conforme o resultado é aceite ou rejeitada a hipótese nula, ou seja, se as amostras são ou não pertencentes a mesma população. A aceitação ou rejeição de uma hipótese dá-se da mesma maneira com recurso ao valor p, se o valor p for inferior a 0.05 conclui-se que as varáveis em estudo são diferentes [90, 91].

4.7.3 Correlação de Spearman

O coeficiente de correlação de Spearman, é uma medida de correlação não-paramétrica, isto é, avalia uma função monótona arbitrária que pode ser a descrição da relação entre duas variáveis, sem fazer nenhuma suposições sobre a distribuição de frequências das variáveis. O coeficiente de correlação é adimensional e situa-se no intervalo $-1 < r < 1$. Ao contrário do coeficiente de correlação de Pearson, este não requer a suposição de relação linear entre as variáveis, nem que estas sejam medidas em intervalo de classe. Assim se duas variáveis possuem um coeficiente de correlação de 1 implica que estão directamente correlacionadas. Caso contrário, se o coeficiente é igual a -1 a correlação destas variáveis é inversamente propocional [90, 91].



Resultados Experimentais

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos e a análise estatística destes, de acordo com o capítulo anterior.

Inicialmente foram realizados os testes de aderência à normalidade das variáveis dependentes do estudo e posteriormente a análise comparativa dos parâmetros de difusão, FA e MD, e de conectividade entre os grupos integrados do estudo com recurso ao teste de Mann–Whitney U.

Nas secções Análise de Difusão e Análise de Conectividade podem ser observadas imagens com as localizações de cada ROI onde foram encontradas alterações nos estudos seguintes.

5.1 Resultados dos testes de aderência à Normalidade

Relativamente às variáveis correspondentes às medidas de difusão (MD e FA) verificou-se que nem todas as variáveis seguiam uma distribuição normal para o teste de KS. Esta conclusão foi considerada tendo em conta que os valores p (sig.) para essas variáveis foram inferiores a 0.05 para o teste de Kolmogorov-Smirnov (KS). Para o teste de SW verificou-se novamente que nem todas as variáveis seguiam uma distribuição normal. Tendo em conta estes resultados e com a dimensão reduzida da amostra optou-se pela utilização de testes estatísticos não paramétricos (Análise de Difusão).

5.2 Análise comparativa entre grupos

Nesta secção são comparados os valores entre de MD e de FA entre os dois grupos (Controlo v.s. indivíduos com Doença Parkinson).

Como enunciado anteriormente foram aplicados o teste de Mann–Whitney U a todas as variáveis. Uma vez que, a amostra não tinha uma distribuição normal, verificado na secção 5.1, não foi necessário testar em relação à homogeneidade de variância.

5.2.1 Comparação de valores difusão entre grupos

De acordo com o teste de Mann–Whitney U para as medições de FA foram observadas diferenças significativas, com valor $p = 0.023$, entre os grupos para o *Nucleus Accumbens* (NAc) esquerdo, com valor médio de FA de 0.27 e um desvio padrão de 0.01. Sendo este resultado superior para o grupo de controlo, com valor médio de FA de 0.30 e desvio padrão de 0.01, como é possível ver na figura 5.1.

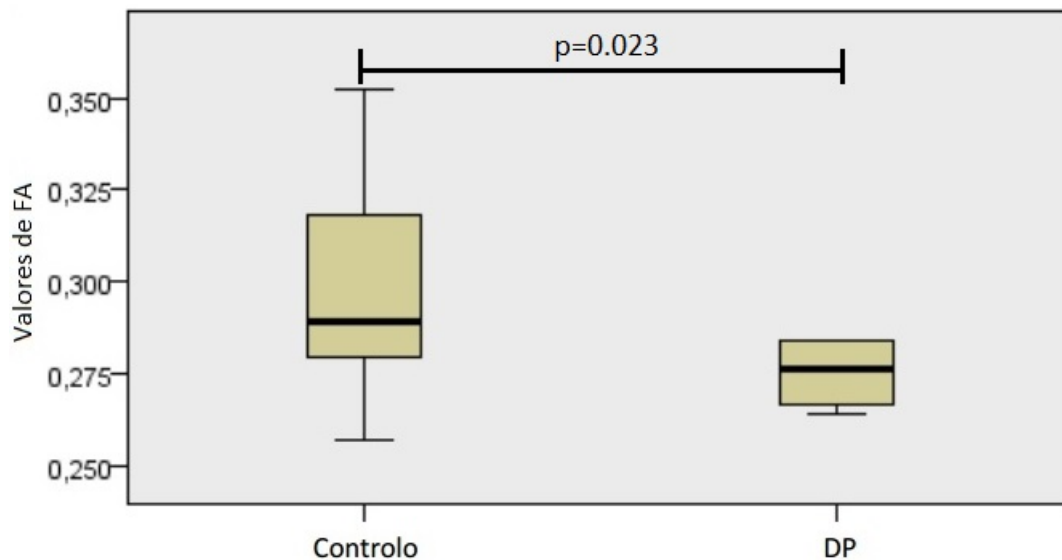


Figura 5.1: Comparação entre Valores de FA ao nível do NAc esquerdo

Mais nenhuma alteração foi observada a nível de FA entre os grupos.

Foi observada alterações na difusibilidade média, de acordo com o teste de Mann–Whitney U, ao nível dos *Globus Pallidus* (GP) direito e esquerdo, com valor p de 0.045 e 0.034 respectivamente. A região direita do GP apresenta um valor médio de MD de $0.72 \times 10^3 \times mm/s^2$ e desvio padrão 0.01. Sendo que o grupo de controlo apresentavam um valor de MD de $0.69 \times 10^3 \times mm/s^2$ e desvio padrão de 0.01. Enquanto a região esquerda apresenta um valor médio de MD de $0.72 \times 10^3 \times mm/s^2$ e desvio padrão 0.00. Em comparação ao valor do grupo de controlo que apresenta um valor de MD de 0.70 e desvio padrão de 0.01 como é possível verificar na tabela 5.1. Estes valores permitem a rejeição da hipótese nula.

É possível verificar pela figura 5.2 e 5.3 que os valores de MD são ambos superiores aos valores de controlo para as duas regiões. Não foram identificadas mais diferenças significativas relativas às restantes regiões em estudo.

Região	FA			MD		
	Control	DP	Valor p	Control	PD	Valor p
GP [R]	0.46±0.01	0.46±0.01	n.s	0.69±0.01	0.72±0.01	0.045
GP[L]	0.46±0.01	0.47±0.01	n.s	0.70±0.01	0.72±0.00	0.034
NAc [R]	0.28±0.02	0.27±0.00	n.s	0.88±0.32	0.81±0.01	n.s
NAc [L]	0.30±0.01	0.27±0.01	0.023	0.81±0.03	0.78±0.01	n.s

Tabela 5.1: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de difusão. FA - Anisotropia Fracional, MD - Difusibilidade Média, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, C - grupo de controlo, R - Lado direito, L - Lado Esquerdo.

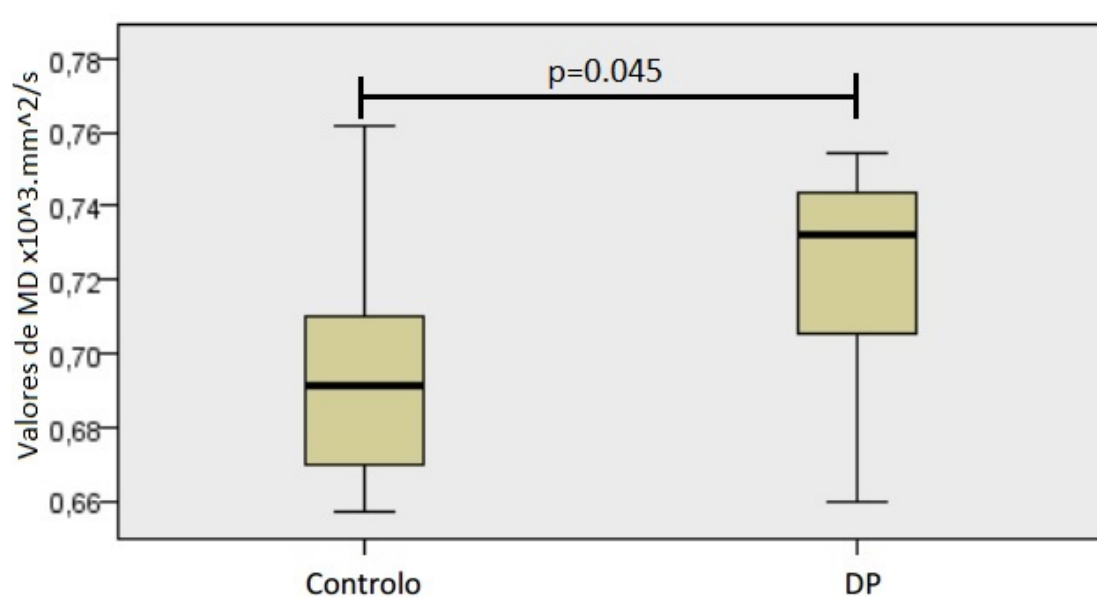


Figura 5.2: Comparação entre valores de MD ao nível do GP direito

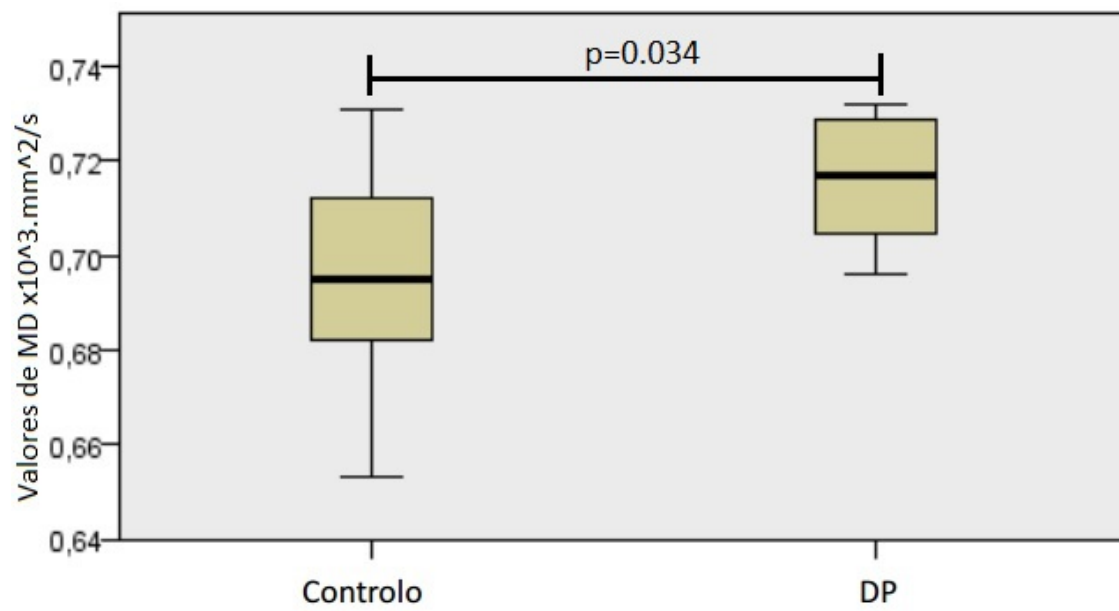


Figura 5.3: Comparação entre valores de MD ao nível do GP esquerdo

5.3 Comparação de métricas de conectividade entre grupos

Nesta secção foi aplicada o teste de Mann–Whitney U para os valores de conectividade entre os grupos presentes na investigação.

Ao nível subcortical foram encontradas alterações significativas, associadas ao GP, ao nível do grau do nodo, $p = 0.04$, sendo que os indivíduos do grupo com DP apresentam um grau superior aos controlos. Como é possível ver na imagem 5.4.

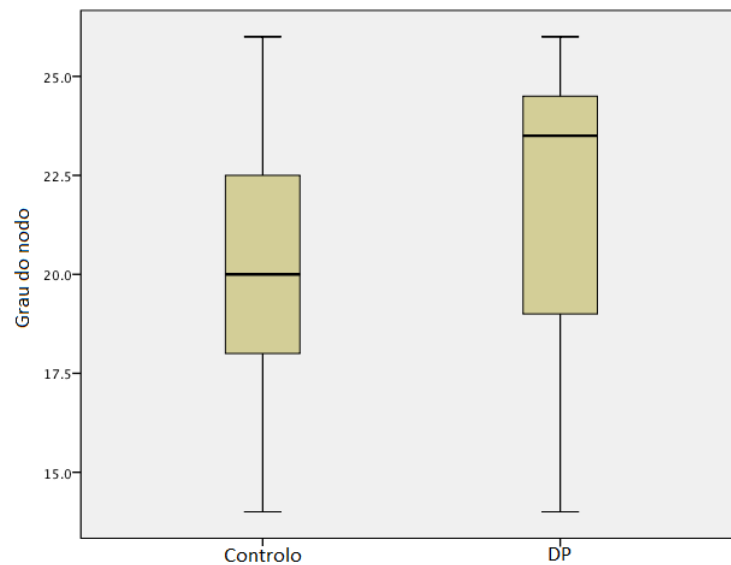


Figura 5.4: Comparação entre valores de grau ao nível do GP para os grupos em estudo.

A nível cortical foram encontradas alterações significativa nas seguintes regiões : Giro Parahipocampal (região anterior) (GPra), Giro Parahipocampal (região posterior) (GPrp), *Planum Temporale* (PT), Giro Pós-Central (GPC), Lóbulo Parietal (região Superior) (LPrs) e Giro Temporal Superior (região posterior) (GTSrp). Os resultados gerais obtidos são apresentados na tabela 5.1 com indicação do grupo alterado.

Região	Grau	B.C	Clust	E.L
<i>Globus Pallidus</i>	P>C, p=0.040	n.s	n.s	n.s
Giro Parahipocampal (r.a)	n.s	P>C, p=0.045	n.s	n.s
Giro Parahipocampal (r.p)	C>P, p=0.039	n.s	n.s	n.s
<i>Planum Temporale</i>	n.s	P>C, p=0.028	n.s	n.s
Giro Pós-Central	n.s	C>P, p=0.006	n.s	n.s
Lóbulo Parietal (r.s)	n.s	P>C, p=0.007	n.s	n.s

Tabela 5.2: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade. B.C - *Betweenness Centrality*, Clust - *Clustering*, E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, p - valor p, P - grupo de doentes, C - grupo de controlo, r.p - região posterior, r.a - região anterior e r.s - região superior.

5.3.1 Comparação de métricas de conectividade entre Hemisférios

Entre hemisférios cerebrais foram encontrados resultados significativos entre grupos. Estes são apresentados na tabela 5.2 indicando o lado onde foram encontradas as alterações, valor p, a relação entre os grupos.

Região [Lado]	Grau	B.C	Clust	E.L
Cortex Ocipital lateral(r.i) [L]	P>C, p=0.011	P>C, p=0.019	n.s	n.s
Pólo Occipital [L]	C>P, p=0.023	n.s	P>C, p=0.019	n.s
Giro Parahipocampal(r.a) [R]	n.s	P>C, p=0.035	n.s	n.s
<i>Planum Temporale</i> [R]	n.s	P>C, p=0.035	n.s	n.s
Giro Pós-Central [R]	n.s	C>P, p=0.035	n.s	n.s
Giro Pré-Central [L]	n.s	C>P, p=0.023	P>C, p=0.029	n.s

Tabela 5.3: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade em cada hemisfério. B.C - *Betweenness Centrality*, Clust - *Clustering*, E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, p - valor p, P - grupo de doentes, C - grupo de controlo, r.i - região inferior, r.a - região anterior, r.s - região superior, L - lado esquerdo e R - lado direito.



Discussão de Resultados

Anteriormente foram apresentados os resultados e a análise estatística dos mesmos. Neste capítulo estes serão discutidos de acordo com as premissas desta dissertação.

A difusão da água é dependente da integridade das estruturas microscópicas que restringem o seu movimento. A degeneração das estruturas cerebrais leva ao aumento da mobilidade das moléculas de água o que leva a um aumento do parâmetro MD e a uma diminuição da FA. Nos doentes com diagnóstico de DP é esperado que se observe um aumento da MD em regiões subcorticais e corticais quando comparadas com indivíduos saudáveis.[24, 25]

6.1 Métricas de Difusão

Um dos objectivos desta dissertação era pesquisar por regiões onde se observasse alterações nas métricas de difusão MD e FA. Como referido no capítulo 4 estas regiões foram limitadas às estruturas pertencentes aos núcleos da base e a 4 regiões corticais.

Numa avaliação mais particular, observaram-se alterações ao nível dos núcleos da base, mais concretamente ao nível do NAc e GP. Ambas as estruturas estão referenciadas na literatura como estruturas de interesse na Doença de Parkinson.[24, 25, 94, 95, 96] Relativamente ao NAc não foram encontrados estudos que reportem alterações de difusibilidade. No entanto, esta região tem sido observada em estudos morfométricos [95, 96], moleculares [97] e comportamentais [70, 98] enquanto o GP tem sido estudada em investigações semelhantes ao desta dissertação[22, 25].

Relativamente ao GP a literatura suporta os resultados obtidos, sendo que os trabalhos mencionam valores de MD superiores para o grupo de doentes em comparação ao grupo de controlo [22, 24, 25]. Sabe-se que esta estrutura faz parte do sistema motor extrapiramidal.

Por conseguinte, o resultado obtido para estruturas esquerda e direita são concordantes com alterações motoras visíveis nestes doentes. Alterações nesta região estão relacionadas com alterações motoras como a bradicinesia [25].

Apesar de não ter sido encontrada literatura sobre alterações de difusibilidade no NAc, esta é uma região pertencente a via *nigro estriada*, onde existe uma grande quantidade de neurónios dopaminérgicos. Assim, os resultados obtidos para o NAc são concordantes com a ocorrência de degeneração dos neurónios dopaminérgicos. Ainda reportado na literatura que esta região apresenta um papel de grande importância ao nível da patofisiologia da depressão, estado comum na DP, pelo que os resultados obtidos são concordantes com outros estudos [70, 77].

Como é visível nos resultados obtidos não foram encontradas alterações significativas nas métricas de difusão para as regiões corticais.

6.2 Métricas de Conectividade

6.2.1 Análise Global

Nesta secção é feita uma análise exploratória sobre alterações de conectividade na Doença de Parkinson. Como mencionado no capítulo 4 esta é uma análise global onde se pretendia pesquisar a existência de alterações ao nível da conectividade de regiões cerebrais.

Ao nível cortical apenas foram encontradas alterações ao nível do GP. Nesta região foi observada uma diminuição no grau do nodo dos doentes em comparação com o grupo de controlo. Este resultado implica uma diminuição no número de ligações entre esta região e outras, ou seja, se existem menos ligações nesta área a transmissão de informação poderá estar condicionada. Se considerarmos os resultados obtidos da secção anterior será possível observar que este resultado é relevante face ao facto de que nesta região foi detectada um aumento de MD. Desta forma um aumento nesta métrica conjugado com uma diminuição do grau da mesma estaria de acordo com a ocorrência de degeneração dos neurónios dopaminérgicos nesta estrutura [25].

No GPra foi observado um aumento na *betweenness centrality* (BC) no grupo dos doentes face ao grupo de controlo. Através de uma correlação de *Spearman*, com $r=0.751$ e $p=0.000$ (Análise de Conectividade), observou-se que existe uma correlação positiva entre a BC e o grau do nodo. Com este resultado podemos especular que se existe uma maior número de ligações estabelecidas entre esta região e as demais (i.e grau elevado) então esta mesma região poderá participar em mais percursos característicos (i.e. BC elevada), para o grupo dos doentes. Para o GPpr, foi observado uma diminuição no grau do nodo o que seria sugestivo de existir uma compensação ao nível das ligações e vias de comunicação nesta estrutura [9]. Na literatura foram encontrados trabalhos que descrevem que diminuição da espessura desta estrutura está associada a doentes com DP com quadro de demência [99, 100]. No entanto, para este estudo não foi considerado se o doente possuía ou não quadro clínico de demência, não podendo correlacionar com estes resultados.

A nível do PT, uma estrutura associada a processos de fala, foi encontrada alteração ao nível da *betweenness centrality* isto implica que esta região para o grupo de doentes participa num maior número de caminhos característicos [9]. Em concordância com os resultados observados neste trabalho, *Lee et al.* e *Melzer et al.* nos seus trabalhos apresentaram resultados em que a espessura desta região se encontra alterada para sujeitos com DP [101, 102].

O GPC e o LPrs são duas regiões pertencentes ao lóbulo parietal. Como enunciado no capítulo 3 o lobo parietal está relacionada intimamente com a Doença de Parkinson. Ambas as estruturas apresentam uma *betweenness centrality* superior no grupo de doentes face ao grupo de indivíduos saudáveis. Vários estudos reportaram diminuição dos valores de FA e diminuição de volume cortical, tanto para a estrutura lóbulo parietal, como para o LPrs e GPC [25, 75, 101, 103].

6.2.2 Análise entre hemisférios

Alterações a nível do grau do nodo e da sua *betweenness centrality* foram observadas ao nível do Córtex Occipital lateral (COl). A primeira métrica indica que este nodo estabelece um número de ligações maiores no grupo dos doentes face ao de controlo, a segunda métrica mostra que este participa em vários caminhos característicos. Ambas as métricas são concordantes entre si segundo *Hagmann et al.* [9]. Foram encontrados na literatura casos em que indivíduos com DP apresentam alterações ao nível do volume cortical para esta região [102, 100]. Sendo que num estudo foi realizada a lateralização da região tendo sido encontradas diferenças significativas para o hemisfério esquerdo [100]. Segundo *Nielsen et al.* no seu estudo em conectividade funcional nesta região as conexões estão limitadas às áreas mediais [104].

Neste estudo foram detectadas alterações no Pólo Occipital (PO) parte integrante do córtex visual. No entanto, certos autores como *Boecker et al.* reportam que o OP em particular não sofre alterações, neste caso a nível metabólico.[105] No entanto, o resultado obtido parece evidenciar que a nível de métricas de conectividade existe uma alteração real no número de ligações que esta estrutura estabelece. As alterações no coeficiente de *clustering* indicam no entanto que apesar de o número de ligações desta região diminuir parece haver evidências de que esta tem tendência a criar ligações com as regiões próximas formando um grupo [9].

Em relação ao GPrs e ao PT pouco há a acrescentar, pois os resultados foram semelhantes ao do estudo global. Nesta secção apenas se observa a lateralidade das alterações discutidas anteriormente.

Para o GPc direito é possível observar a lateralidade do resultado anterior o que, à luz da teoria de grafos, leva-nos a pensar que este resultado indica uma diminuição do número de caminhos característicos em que este nodo participa. [9]

Finalmente, foram observadas alterações em relação as métricas de *Betweenness Centrality* (BC) e *Clustering* (Clust) para a região esquerda do Giro Pré-Central (GPrec). Segundo

a correlação feita entre a BC e o Clust, $r=-0.757$ e $p=0.012$ (Análise de Conectividade), o resultado parece sugerir que o aumento do Clust para esta região levará a diminuição do número de participações em caminhos característicos. O que por sua vez, parece sugerir uma diminuição do grau do nodo, segundo a correlação feita entre Clust e grau do nodo com $r=-0.691$ e $p=0.027$ (Análise de Conectividade) [9]. *Zhang et al.* no seu trabalho reportam diminuição de valores de MD para esta região, o que poderá ir de encontro aos resultados obtidos [26], enquanto *Wang et al.* reportou diminuição dos valores de FA para o GPrec [75].



Conclusão

7.1 Limitações e Trabalho Futuro

O tamanho da amostra populacional foi uma clara limitação deste estudo. Seria desejável a realização de um estudo com um maior número de indivíduos para confirmar os resultados obtidos nestes estudo e permitir a identificação de biomarcadores de diagnóstico da DP.

Idealmente deveria ter sido usado um mapa de regiões adaptado a cada indivíduo estudado, afim de minimizar os erros de medidas, resultantes de erros no alinhamento à imagem standard.

Finalmente, seria desejável num estudo futuro a realização de testes como o *Mini-Mental State Examination*, para apurar possíveis défices cognitivos, o *Hamilton Rating Scale of Depression*, com a finalidade de perceber se o doente tem quadro depressivo e com que gravidade o apresenta e finalmente o *Holmes and Rahe Stress Scale* para determinar os níveis de stress que os doentes apresentam. Todos os testes referidos anteriormente em conjugação com o UPDRS permitiriam um estudo mais profundo e uma melhor compreensão da alteração de algumas estruturas, algo que não foi possível fazer neste trabalho.

7.2 Conclusão

O presente trabalho tinha como objectivo o estudo da conectividade estrutural nos doentes com DP. Este estudo baseava-se na análise de métricas de conectividade com o intuito de pesquisar por alterações ao nível da conectividade estrutural. Para tal recorreu-se à aplicação da teoria de grafos para análise das métricas de conectividade.

Numa primeira fase foram calculadas métricas de difusão: difusibilidade média (MD) e anisotropia fraccional (FA). Foram encontradas alterações no grupo dos doentes no valor

de FA ao nível do *Nucleus Accumbens*, onde este apresentava uma diminuição de valor face ao grupo de controlo, e na MD para os *Globus Pallidus*, com aumento do valor em doentes em comparação com o grupo de controlo.

Com a utilização das métricas de conectividade e teoria de grafos foram também encontradas alterações. Os *Globus Pallidus* apresentavam alterações ao nível do grau. Em adição, foram identificadas alterações em regiões que não apresentavam alterações nas métricas de difusão FA e MD. Com o recurso à análise de conectividade encontrou-se alterações no Giro Parahipocampal, regiões anterior e posterior, no *Planum Temporale* e na região superior do lobo Parietal. Com a análise bilateral desta métrica foram também encontradas alterações ao nível do Córtex Occipital lateral Pólo Occipital e do Giro Pré-Central esquerdos. Observaram-se também na regiões anteriores do Giro Parahipocampal direito, *Planum Temporale* e Giro Pós-Central. Constatou-se que a análise de conectividade permitiu obter informação adicional àquela disponibilizada pelas métricas MD e FA. Em particular, as alterações de conectividade observadas são congruentes com o que se conhece da literatura referente à DP.

A aplicação da teoria de grafos no estudo da conectividade poderá ser um método bastante relevante na pesquisa de biomarcadores. Esta técnica permite um estudo de várias métricas de conectividade que poderão indicar alterações na estrutura morfofuncional de cada região encefálica. Visto esta análise ser pioneira, relativamente à conectividade estrutural na Doença de Parkinson, são necessários novos estudos com grupos maiores de indivíduos para confirmar os resultados obtidos.

Nota: O objecto deste trabalho resultou numa comunicação apresentada a 3 de Outubro de 2013 no congresso da ESMRMB - (*European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology*) em Toulouse com o nome MIBCA - (*Multimodal Imaging Brain Connectivity Analysis*).

Bibliografia

- [1] Catherine Westbrook. *MRI at a glance*. Wiley-Blackwell, second edition, 2009.
- [2] HS Chrysikopoulos. *Clinical MR Imaging and Physics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2009.
- [3] Imaios SAS. Imaios, url = <http://www.imaios.com/en>, 2013.
- [4] H Johansen-Berg and TEJ Behrens. *Diffusion MRI: From quantitative measurement to in-vivo neuroanatomy*. Elsevier’s Science & Technology, first edition, 2009.
- [5] MA Bernstein, KF King, and XJ Zhou. *Handbook of MRI pulse sequences*. Elsevier Academic Press, 2004.
- [6] Therapeutic Technology. Principles and Applications of Echo-planar Imaging: A Review for the General Radiologist. pages 767–779, 2001.
- [7] Denis Le Bihan, Jean-François Mangin, Cyril Poupon, Chris A Clark, Sabina Papapata, Nicolas Molko, and Hughes Chabriat. Diffusion tensor imaging: Concepts and applications. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 13(4):534–546, 2001.
- [8] Susumu Mori and Peter B Barker. Diffusion Magnetic Resonance Imaging. pages 102–109, 1999.
- [9] Patric Hagmann, Leila Cammoun, Xavier Gigandet, Reto Meuli, Christopher J Honey, Van J Wedeen, and Olaf Sporns. Mapping the structural core of human cerebral cortex. *PLoS biology*, 6(7):e159, July 2008.
- [10] Patric Hagmann, Lisa Jonasson, Philippe Maeder, Jean-philippe Thiran, Van J Wedeen, and Reto Meuli. Central Nervous System: State of the art Understanding Diffusion MR Imaging Techniques: From Scalar Imaging to Diffusion. pages 205–224, 2006.
- [11] Luís Lacerda. *HARDI Methods – Tractography Reconstructions and Automatic Parcellation of Brain Connectivity*. PhD thesis, Universidade de Lisboa, 2012.

- [12] P Mukherjee, J I Berman, S W Chung, C P Hess, and R G Henry. Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 29(4):632–41, April 2008.
- [13] Fernando Ferreira-santos. Complex Network Analysis of Brain Connectivity : An Introduction. 2012.
- [14] Mikail Rubinov and Olaf Sporns. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *NeuroImage*, 52(3):1059–69, September 2010.
- [15] Olaf Sporns. *Networks of the Brain*. Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, 2011.
- [16] The University of Wisconsin–Madison. Basal ganglia, 2006.
- [17] James Knierim. Neuroscience Online, the Open-Access Neuroscience Electronic Textbook!, 2013.
- [18] Ailma Oliveira da Paixão, Aline Vasconcelos Freitas de Jesus, Francimary Santos Silva, Géssica Maria Santos Messias, Tâmara Luiza Gonçalves Magalhães Nunes, Tatiane Batista Nunes, Tássia Luiza Gonçalves MagalhãesSantos, Margarete Zarnardo Gomes, and Maria das Graças da Silva Correia. Doença de parkinson: uma desordem neurodegenerativa. *Cadernos de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde*, 1(16):57–65, 2013.
- [19] Shin-Yuan Chen and Sheng-Tzung Tsai. The Epidemiology of Parkinson’s Disease. *Tzu Chi Medical Journal*, 22(2):73–81, June 2010.
- [20] Patrice Péran, Andrea Cherubini, Francesca Assogna, Fabrizio Piras, Carlo Quattrocchi, Antonella Peppe, Pierre Celsis, Olivier Rascol, Jean-François Démonet, Alessandro Stefani, Mariangela Pierantozzi, Francesco Ernesto Pontieri, Carlo Caltagirone, Gianfranco Spalletta, and Umberto Sabatini. Magnetic resonance imaging markers of Parkinson’s disease nigrostriatal signature. *Brain : a journal of neurology*, 133(11):3423–33, November 2010.
- [21] João Massano. Doença de Parkinson -Atualização Clínica. *Acta Med Port*, 24:827–834, 2011.
- [22] Ricarda a Menke, Jan Scholz, Karla L Miller, Sean Deoni, Saad Jbabdi, Paul M Matthews, and Mojtaba Zarei. MRI characteristics of the substantia nigra in Parkinson’s disease: a combined quantitative T1 and DTI study. *NeuroImage*, 47(2):435–41, August 2009.
- [23] Pablo Martinez-Martin, Carmen Rodriguez-Blazquez, Mario Alvarez-Sanchez, Tomoko Arakaki, Alberto Bergareche-Yarza, Anabel Chade, Nelida Garretto, Oscar

- Gershanik, Monica M Kurtis, Juan Carlos Martinez-Castrillo, Amelia Mendoza-Rodriguez, Henry P Moore, Mayela Rodriguez-Violante, Carlos Singer, Barbara C Tilley, Jing Huang, Glenn T Stebbins, and Christopher G Goetz. Expanded and independent validation of the Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS). *Journal of neurology*, 260(1):228–36, January 2013.
- [24] Michael F H Schocke, Klaus Seppi, Regina Esterhammer, Christian Kremser, Katharina J Mair, Benedikt V Czermak, Werner Jaschke, Werner Poewe, and Gregor K Wenning. Trace of diffusion tensor differentiates the Parkinson variant of multiple system atrophy and Parkinson's disease. *NeuroImage*, 21(4):1443–51, April 2004.
- [25] Hengjun J Kim, Sang Joon Kim, Ho Sung Kim, Choong Gon Choi, Namkug Kim, Seungbong Han, Eun Hye Jang, Sun J Chung, and Chong Sik Lee. Alterations of mean diffusivity in brain white matter and deep gray matter in Parkinson's disease. *Neuroscience letters*, 550:64–8, August 2013.
- [26] Kaiyuan Zhang, Chunshui Yu, Yujin Zhang, Xiaoli Wu, Chaozhe Zhu, Piu Chan, and Kuncheng Li. Voxel-based analysis of diffusion tensor indices in the brain in patients with Parkinson's disease. *European journal of radiology*, 77(2):269–73, February 2011.
- [27] Baxter P Rogers, Victoria L Morgan, Allen T Newton, and John C Gore. Assessing functional connectivity in the human brain by fMRI. *Magnetic resonance imaging*, 25(10):1347–57, December 2007.
- [28] Alessandro Tessitore, Marianna Amboni, Fabrizio Esposito, Antonio Russo, Marina Picillo, Laura Marcuccio, Maria Teresa Pellecchia, Carmine Vitale, Mario Cirillo, Gioacchino Tedeschi, and Paolo Barone. Resting-state brain connectivity in patients with Parkinson's disease and freezing of gait. *Parkinsonism & related disorders*, 18(6):781–7, July 2012.
- [29] E M Haacke, R W Brown, M R Thompson, and R Venkatesan. *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design*. Wiley, 1999.
- [30] Correia Araújo and Crésio Alves. Importância da imagem por ressonância magnética nos estudos dos processos interativos dos órgãos e sistemas. 9:13–19, 2010.
- [31] Jerrold T Bushberg, J Anthony Seibert, Edwin M Leidholdt, and John M Boone. *The Essential Physics of Medical Imaging*. Lippincott Williams & Wilkins, 2.00 edition, 2001.
- [32] Hugo Alexandre Ferreira. Ressonância Magnética Nuclear. 2009.
- [33] RH Hashemi, WG Bradley, and CJ Lisanti. *MRI: the basics*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, second edition, 2004.

- [34] Robert R. Edelman, John Hesselink, and Michael Zlatkin. *Clinical Magnetic Resonance Imaging: 3-Volume Set*. Saunders, third edition, 2005.
- [35] Lars G Hanson. Introduction to Magnetic Resonance Imaging Techniques. pages 1–48, 2009.
- [36] V Pottumarthi. *Magnetic Resonance Imaging*. Humana Press, Totowa, NJ, 2006.
- [37] David J Larkman and Rita G Nunes. Parallel magnetic resonance imaging. *Physics in medicine and biology*, 52(7):R15–55, April 2007.
- [38] André Filipe dos Santos Ribeiro. *Bone recognition in UTE MR images by artificial neural networks for attenuation correction of brain imaging in MR/PET scanners*. PhD thesis, Universidade de Lisboa, Faculdade de ciências, 2012.
- [39] D. M. Koh and H. C. Thoeny, editors. *Diffusion-Weighted MR Imaging: Applications in the body*. Medical Radiology. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2010.
- [40] Luis C Maas and Pratik Mukherjee. Diffusion MRI: Overview and clinical applications in neuroradiology. (November), 2005.
- [41] Jiří Ferda, Jan Kastner, Petr Mukenšnabl, Milan Choc, Jana Horemužová, Eva Ferdová, and Boris Kreuzberg. Diffusion tensor magnetic resonance imaging of glial brain tumors. *European Journal of Radiology*, 74(3):428–436, 2010.
- [42] Rafael Henriques. *Diffusion Kurtosis Imaging of the Healthy Human Brain*. PhD thesis, Universidade de Lisboa, 2012.
- [43] Pamela W. Schaefer, P. Ellen Grant, and R. Gilberto Gonzalez. Diffusion-weighted MR imaging of the brain. *Radiology*, pages 331–345, 2009.
- [44] K Okamoto, J Ito, K Ishikawa, K Sakai, and S Tokiguchi. Diffusion-weighted echo-planar MR imaging in differential diagnosis of brain tumors and tumor-like conditions. 1350:1342–1350, 2000.
- [45] Michael K Stehling, Robert Turner, and Peter Mansfield. Imaging in a Fraction of a Second. (3):43–50, 1991.
- [46] Melanie Bruegel, Konstantin Holzapfel, Jochen Gaa, Klaus Woertler, Simone Walddt, Berthold Kiefer, Alto Stemmer, Carl Ganter, and Ernst J Rummeny. Characterization of focal liver lesions by ADC measurements using a respiratory triggered diffusion-weighted single-shot echo-planar MR imaging technique. *European radiology*, 18(3):477–85, March 2008.
- [47] Katsuhiko Nasu, Yoshihumi Kuroki, Seiko Kuroki, Koji Murakami, Shigeru Nawano, and Noriyuki Moriyama. Diffusion-weighted single shot echo planar imaging of colorectal cancer using a sensitivity-encoding technique. *Japanese journal of clinical oncology*, 34(10):620–6, October 2004.

- [48] R Luypaert, S Boujraf, S Sourbron, and M Osteaux. Diffusion and perfusion MRI: basic physics. *European journal of radiology*, 38(1):19–27, April 2001.
- [49] Khader M Hasan, Andrew L Alexander, and Ponnada a Narayana. Does fractional anisotropy have better noise immunity characteristics than relative anisotropy in diffusion tensor MRI? An analytical approach. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 51(2):413–7, February 2004.
- [50] S Mori, B J Crain, V P Chacko, and P C van Zijl. Three-dimensional tracking of axonal projections in the brain by magnetic resonance imaging. *Annals of neurology*, 45(2):265–9, February 1999.
- [51] Cedric E Ginestet, Thomas E Nichols, Ed T Bullmore, and Andrew Simmons. Brain network analysis: separating cost from topology using cost-integration. *PloS one*, 6(7):e21570, January 2011.
- [52] Andrei Irimia, Micah C Chambers, Carinna M Torgerson, and John D Van Horn. Circular representation of human cortical networks for subject and population-level connectomic visualization. *NeuroImage*, 60(2):1340–51, April 2012.
- [53] James Parkinson. An essay on the shaking palsy. *The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences*, 14(2):223–36; discussion 222, January 2002.
- [54] Anders Gustavsson, Mikael Svensson, Frank Jacobi, Christer Allgulander, Jordi Alonso, Ettore Beghi, Richard Dodel, Mattias Ekman, Carlo Faravelli, Laura Fratiglioni, Brenda Gannon, David Hilton Jones, Poul Jennum, Albena Jordanova, Linus Jönsson, Korinna Karampampa, Martin Knapp, Gisela Kobelt, Tobias Kurth, Rose-lind Lieb, Mattias Linde, Christina Ljungcrantz, Andreas Maercker, Beatrice Melin, Massimo Moscarelli, Amir Musayev, Fiona Norwood, Martin Preisig, Maura Pugliatti, Juergen Rehm, Luis Salvador-Carulla, Brigitte Schlehofer, Roland Simon, Hans-Christoph Steinhausen, Lars Jacob Stovner, Jean-Michel Vallat, Peter Van den Bergh, Peter Van den Bergh, Jim van Os, Pieter Vos, Weili Xu, Hans-Ulrich Wittchen, Bengt Jönsson, and Jes Olesen. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 21(10):718–79, October 2011.
- [55] Sonja von Campenhausen, Bernhard Bornschein, Regina Wick, Kai Bötzel, Cristina Sampaio, Werner Poewe, Wolfgang Oertel, Uwe Siebert, Karin Berger, and Richard Dodel. Prevalence and incidence of Parkinson’s disease in Europe. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 15(4):473–90, August 2005.
- [56] Sonja von Campenhausen, Yaroslav Winter, Antonio Rodrigues e Silva, Christina Sampaio, Evzen Ruzicka, Paolo Barone, Werner Poewe, Alla Guekht, Céu Mateus,

- Karl-P Pfeiffer, Karin Berger, Jana Skoupa, Kai Bötzel, Sabine Geiger-Gritsch, Uwe Siebert, Monika Balzer-Geldsetzer, Wolfgang H Oertel, Richard Dodel, and Jens P Reese. Costs of illness and care in Parkinson's disease: an evaluation in six countries. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 21(2):180–91, February 2011.
- [57] Dominique Twelves, Kate S M Perkins, Mcrp Uk, and Carl Counsell. Systematic Review of Incidence Studies of Parkinson ' s Disease. 18(1):19–31, 2003.
- [58] MoisanF Elbaz A. Update in the epidemiology of Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol*, 21(4):454–460, 2008.
- [59] Letícia Borges Prado. *Equilíbrio e marcha na Doença de Parkinson*. PhD thesis, Pontifícia Universidade Católica de Goiás, 2012.
- [60] Yuncheng Wu, Weidong Le, and Joseph Jankovic. Preclinical biomarkers of Parkinson disease. *Archives of neurology*, 68(1):22–30, 2011.
- [61] Sarah Camargos, Marcella Costa, Isabella Filog, and Francisco Cardoso. *Manual para o diagnóstico dos Distúrbios de Movimento*. Omnifarma Ltda, São Palo, 1st edition, 2012.
- [62] Sue Hughes. Consider Nonmotor Symptoms for Diagnosis of Parkinson's ? pages 1–2, 2013.
- [63] K Ray Chaudhuri and Anthony H V Schapira. Non-motor symptoms of Parkinson's disease: dopaminergic pathophysiology and treatment. *Lancet neurology*, 8(5):464–74, May 2009.
- [64] Walter Maetzler, Inga Liepelt, and Daniela Berg. Progression of Parkinson's disease in the clinical phase: potential markers. *Lancet neurology*, 8(12):1158–71, December 2009.
- [65] Henk W Berendse and Mirthe M Ponsen. Diagnosing premotor Parkinson's disease using a two-step approach combining olfactory testing and DAT SPECT imaging. *Parkinsonism & related disorders*, 15 Suppl 3:S26–30, December 2009.
- [66] P Damier, E C Hirsch, Y Agid, and A M Graybiel. The substantia nigra of the human brain II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease. pages 1437–1448, 1999.
- [67] R O D R Seeley, Trent D Stephens, Christine M Eckel, and Jennifer L Regan. *Anatomy & Physiology*. The McGraw-Hill Companies, Inc., New York, 8th edition.
- [68] Frederico Pieruccini-faria, Maria Joana, and Duarte Caetano. Núcleos da base e controle locomotor: aspectos neurofisiológicos e evidências experimentais. pages 97–101, 2006.

- [69] Jessica A. Grahm, John A. Parkinson, and Adrian M. Owen. The cognitive functions of the caudate nucleus. *Progress in Neurobiology*, 86(3):141 – 155, 2008.
- [70] Yukihiro Shirayama and Shigeyuki Chaki. Neurochemistry of the Nucleus Accumbens and its Relevance to Depression and Antidepressant Action in Rodents. pages 277–291, 2006.
- [71] Franco Cauda, Andrea E Cavanna, D Federico, Katiuscia Sacco, Sergio Duca, and Giuliano C Geminiani. Functional Connectivity and Coactivation of the Nucleus Accumbens: A Combined Functional Connectivity. pages 2864–2877, 2011.
- [72] Clement Hamani, Jean a Saint-Cyr, Justin Fraser, Michael Kaplitt, and Andres M Lozano. The subthalamic nucleus in the context of movement disorders. *Brain : a journal of neurology*, 127(Pt 1):4–20, January 2004.
- [73] Deepika Sukumar, Maithreye Rengaswamy, and V. Srinivasa Chakravarthy. Modeling the contributions of basal ganglia and hippocampus to spatial navigation using reinforcement learning. *PLoS ONE*, 7(10):e47467, 10 2012.
- [74] Amy Garrett and Kiki Chang. The role of the amygdala in bipolar disorder development. *Development and Psychopathology*, 20:1285–1296, 9 2008.
- [75] Wang Zhan, Gail A Kang, Graham A Glass, Yu Zhang, Cheryl Shirley, Rachel Millin, Katherine L Possin, Marzieh Nezamzadeh, Michael W Weiner, William J Marks, and Norbert Schuff. Regional alterations of brain microstructure in Parkinson’s disease using diffusion tensor imaging. *Movement Disorders*, 27(1):90–97, 2012.
- [76] Williams Mark and James O. McNamara S., Dale Purves George J. Augustine, David Fitzpatrick , William C. Hall, Anthony-Samuel Lamantia. *Neuroscience*. Sinauer Associates, Inc, Sunderland, third edit edition, 2004.
- [77] Lee X Blonder and John T Slevin. Emotional dysfunction in Parkinson’s disease. *Behavioural neurology*, 24(3):201–17, January 2011.
- [78] a Jon Stoessl, Wr Wayne Martin, Martin J McKeown, and Vesna Sossi. Advances in imaging in Parkinson’s disease. *Lancet neurology*, 10(11):987–1001, November 2011.
- [79] G Gattellaro, L Minati, M Grisoli, C Mariani, F Carella, M Osio, E Ciceri, a Albanese, and M G Bruzzzone. White matter involvement in idiopathic Parkinson disease: a diffusion tensor imaging study. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 30(6):1222–6, June 2009.
- [80] K Kamagata, Y Motoi, O Abe, K Shimoji, M Hori, a Nakanishi, T Sano, R Kuwatsuru, S Aoki, and N Hattori. White matter alteration of the cingulum in Parkinson disease with and without dementia: evaluation by diffusion tensor tract-specific analysis. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 33(5):890–5, May 2012.

- [81] Mark Jenkinson, Christian F Beckmann, Timothy E J Behrens, Mark W Woolrich, and Stephen M Smith. FSL. *NeuroImage*, 62(2):782–790, 2012.
- [82] T E J Behrens, M W Woolrich, M Jenkinson, H Johansen-Berg, R G Nunes, S Clare, P M Matthews, J M Brady, and S M Smith. Characterization and propagation of uncertainty in diffusion-weighted MR imaging. *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine/Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 50(5):1077–88, November 2003.
- [83] Stephen M Smith. Fast robust automated brain extraction. *Human brain mapping*, 17(3):143–55, November 2002.
- [84] Mark Jenkinson, Peter Bannister, Michael Brady, and Stephen Smith. Improved Optimization for the Robust and Accurate Linear Registration and Motion Correction of Brain Images. *NeuroImage*, 17(2):825–841, October 2002.
- [85] M Jenkinson and S Smith. A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Medical image analysis*, 5(2):143–56, June 2001.
- [86] R Wang and T Benner. Diffusion toolkit: a software package for diffusion imaging data processing and tractography. *Proc Intl Soc Mag Reson ...*, 15:3720, 2007.
- [87] A. Santos Ribeiro, L. Lacerda, J. Rodrigues, J.M. Sousa, and H.A. Ferreira. Multi-modal Imaging Brain Connectivity Analysis. ESMRMB 2013 Conference, 2013.
- [88] Marco Catani and Michel Thiebaut de Schotten. A diffusion tensor imaging tractography atlas for virtual in vivo dissections. *Cortex*, 44(8):1105–1132, 2008.
- [89] Demetrio Messina, Antonio Cerasa, Francesca Condino, Gennarina Arabia, Fabiana Novellino, Giuseppe Nicoletti, Maria Salsone, Maurizio Morelli, Pier Luigi Lanza, and Aldo Quattrone. Patterns of brain atrophy in Parkinson’s disease, progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy. *Parkinsonism & related disorders*, 17(3):172–6, March 2011.
- [90] S Siegel. *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. Mcgraw Hill, New York, 1st edition, 1956.
- [91] DJ Sheskin. *Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures*. Champman & Hall/CRC, New York, 2nd edition, 2003.
- [92] Zvi Drezner, Ofir Turel, and Dawit Zerom. A Modified Kolmogorov–Smirnov Test for Normality. *Communications in Statistics - Simulation and Computation*, 39(4):693–704, March 2010.
- [93] Viktor Todorov and George Tauchen. Kolmogorov-Smirnov type Tests for Local Gaussianity in High-Frequency Data. (July):1–6, 2013.

- [94] Y Granovsky, I Schlesinger, S Fadel, I Erikh, E Sprecher, and D Yarnitsky. Asymmetric pain processing in Parkinson's disease. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies*, 20(10):1375–82, October 2013.
- [95] MD Christopher Summerfield, MSc; Carme Junqué, PhD; Eduardo Tolosa, MD; Pilar Salgado-Pineda, PhD; Beatriz Gómez-Ansón, MD, PhD, FRCR; Maria José Martí, MD; Pau Pastor, MD; Blanca Ramírez-Ruiz, MSc; José Mercader. Structural Brain Changes in Parkinson Disease With Dementia. 62, 2005.
- [96] Ricarda a L Menke, Konrad Szewczyk-Krolikowski, Saad Jbabdi, Mark Jenkinson, Kevin Talbot, Clare E Mackay, and Michele Hu. Comprehensive morphometry of subcortical grey matter structures in early-stage Parkinson's disease. *Human brain mapping*, 000(February):1–10, July 2013.
- [97] Roshan Cools, Simon J G Lewis, Luke Clark, Roger a Barker, and Trevor W Robbins. L-DOPA disrupts activity in the nucleus accumbens during reversal learning in Parkinson's disease. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 32(1):180–9, January 2007.
- [98] Natalia S Lawrence, Elanor C Hinton, John A Parkinson, and Andrew D Lawrence. Nucleus accumbens response to food cues predicts subsequent snack consumption in women and increased body mass index in those with reduced self-control. *NeuroImage*, 63(1):415–422, 2012.
- [99] Richard Camicioli, M Milar Moore, Anthony Kinney, Elizabeth Corbridge, Kathryn Glassberg, and Jeffrey a Kaye. Parkinson's disease is associated with hippocampal atrophy. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*, 18(7):784–90, July 2003.
- [100] Javier Pagonabarraga, Idoia Corcuera-Solano, Yolanda Vives-Gilabert, Gisela Llebaria, Carmen García-Sánchez, Berta Pascual-Sedano, Manuel Delfino, Jaime Kulisevsky, and Beatriz Gómez-Ansón. Pattern of regional cortical thinning associated with cognitive deterioration in Parkinson's disease. *PloS one*, 8(1):e54980, January 2013.
- [101] Tracy R Melzer, Richard Watts, Michael R MacAskill, Toni L Pitcher, Leslie Livingston, Ross J Keenan, John C Dalrymple-Alford, and Tim J Anderson. Grey matter atrophy in cognitively impaired Parkinson's disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*, 83(2):188–94, February 2012.
- [102] Seung-Hwan Lee, Sam Soo Kim, Woo-Suk Tae, Seo-Young Lee, Kang Uk Lee, and Jinhyeoung Jhoo. Brain volumetry in Parkinson's disease with and without dementia: where are the differences? *Acta radiologica*, March 2013.

- [103] Eun-Young Lee, Suman Sen, Paul J Eslinger, Daymond Wagner, Michele L Shaffer, Lan Kong, Mechelle M Lewis, Guangwei Du, and Xuemei Huang. Early cortical gray matter loss and cognitive correlates in non-demented Parkinson's patients. *Parkinsonism & related disorders*, pages 3–8, August 2013.
- [104] Jared a Nielsen, Brandon a Zielinski, Michael a Ferguson, Janet E Lainhart, and Jeffrey S Anderson. An Evaluation of the Left-Brain vs. Right-Brain Hypothesis with Resting State Functional Connectivity Magnetic Resonance Imaging. *PloS one*, 8(8):e71275, January 2013.
- [105] Henning Boecker, Andres O Ceballos-Baumann, Dominik Volk, Bastian Conrad, Hans Forstl, and Peter Haussermann. Metabolic alterations in patients with Parkinson disease and visual hallucinations. *Archives of neurology*, 64(7):984–8, July 2007.



Análise de Difusão

A.1 Tabelas de Correspondência de regiões cerebrais no estudo das métricas de difusão.

ROI	Sigla	Região direita	Região esquerda
Tronco Cerebral	BS	-	-
Amígdala	A	R_A	L_A
Hipocampo	HP	R_HP	L_HP
<i>Globus Pallidus</i>	PL	R_PL	L_PL
<i>Putamen</i>	P	R_P	L_P
Tálamo	T	R_T	L_T
Núcleos Accumbens	AC	R_AC	L_AC
Núcleo Caudado	CA	R_CA	L_CA
<i>Cuneal Cortex</i>	CC	R_CC	L_CC
<i>Precuneous Cortex</i>	PCC	R_PCC	L_PCC
Cortex Frontal Medial	FMC	R_FMC	L_FMC
Cortex Orbital Frontal	FOC	R_FOC	L_FOC

Tabela A.1: Tabela de correspondência para as métricas de difusão.

A.2 Valores de MD e FA entre Grupos e Hemisféricos

A.2.1 Valores de FA e MD: Comparação entre grupos para cada região

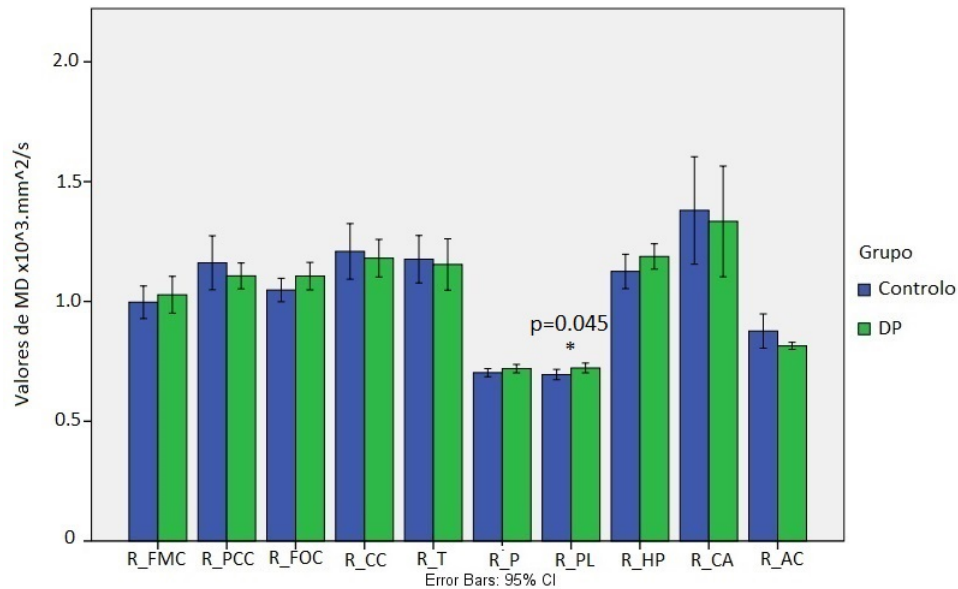


Figura A.1: Comparação entre valores de MD para o hemisfério direito para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$.

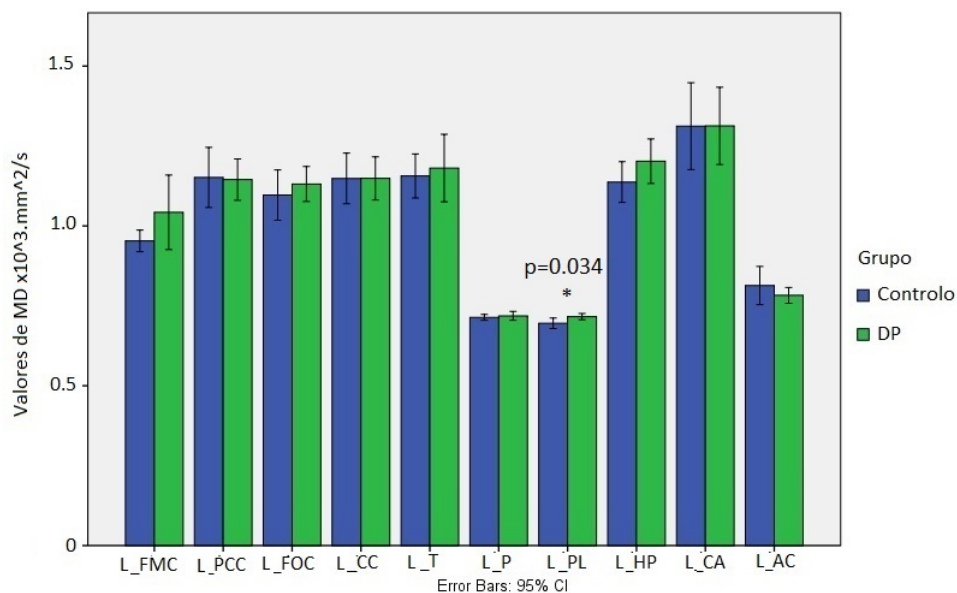


Figura A.2: Comparação entre valores de MD para o hemisfério esquerdo para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$.

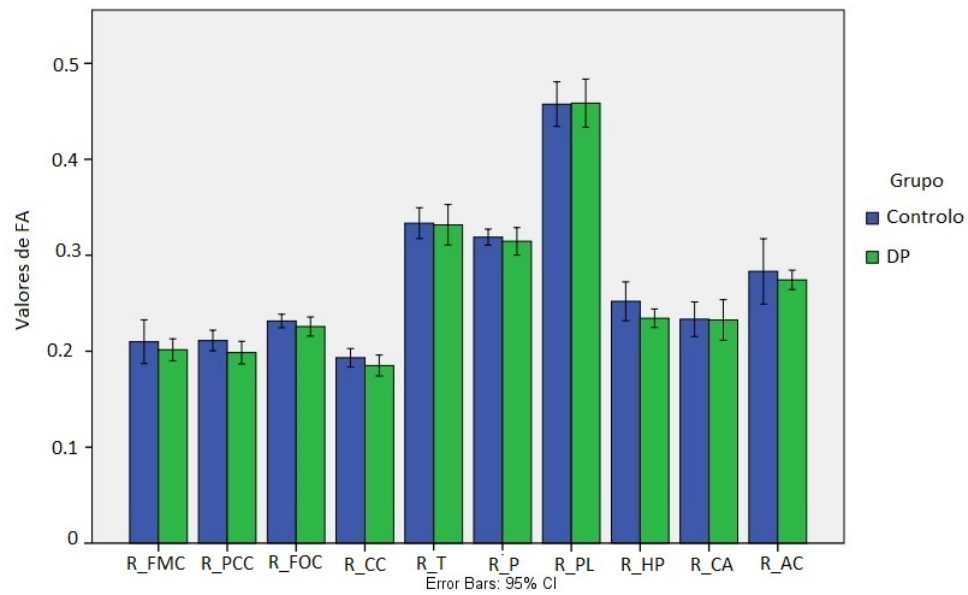


Figura A.3: Comparação entre valores de FA para o hemisfério direito para os grupos em estudo.

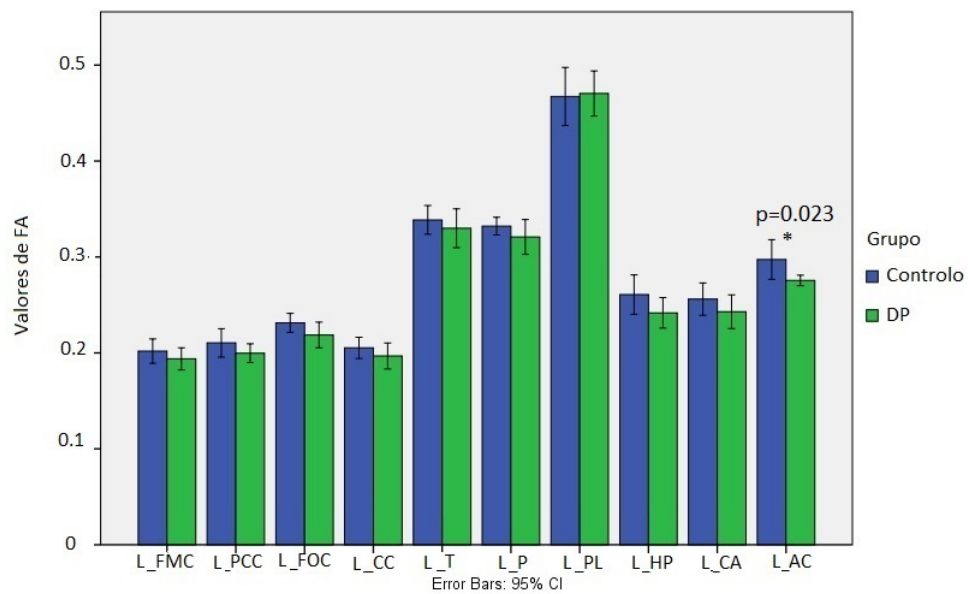


Figura A.4: Comparação entre valores de FA para o hemisfério esquerdo para os grupos em estudo. * - Região com diferenças significativas, $p < 0.05$.

A.3 Valores de MD e FA: Comparação entre hemisférios para cada região

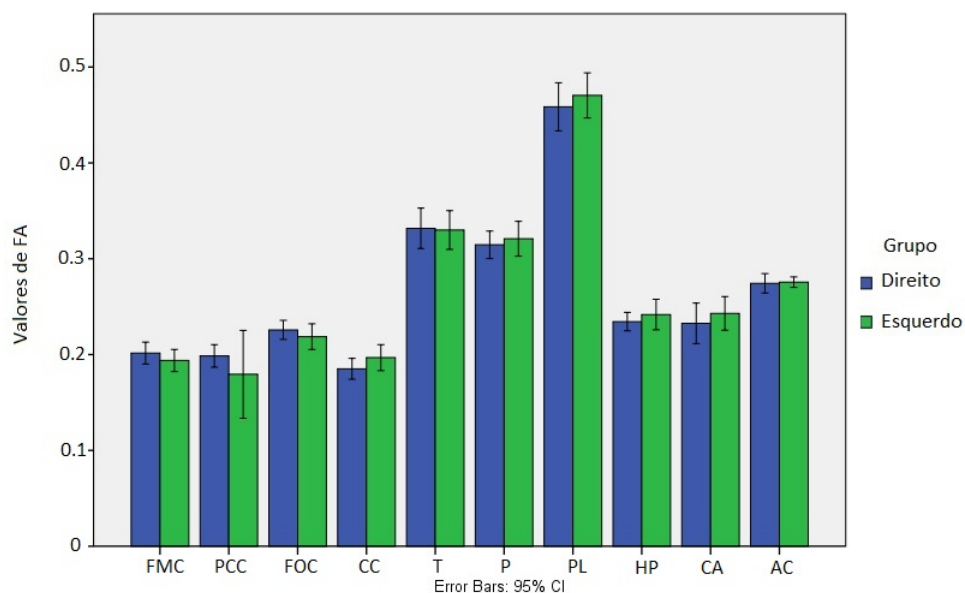


Figura A.5: Comparação de valores de FA entre hemisférios para o grupo de Doentes.

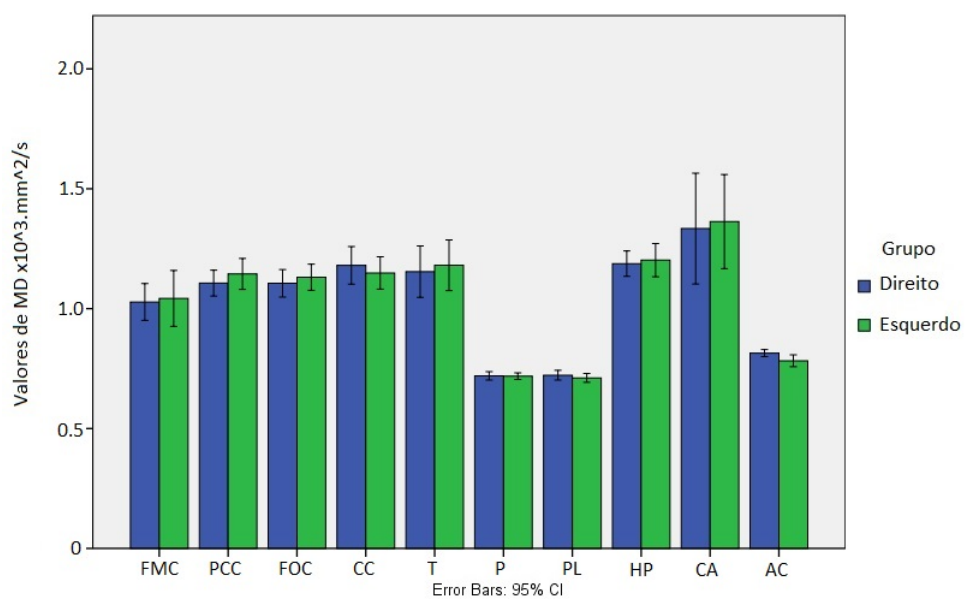


Figura A.6: Comparação de valores de MD entre hemisférios para o grupo de Doentes.

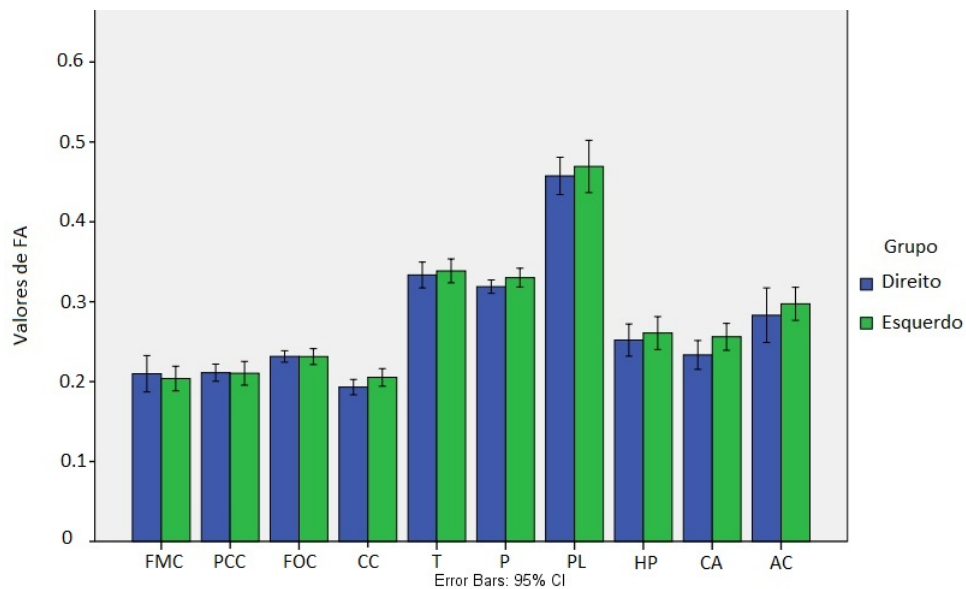


Figura A.7: Comparação de valores de FA entre hemisférios para o gupo de Controlo.

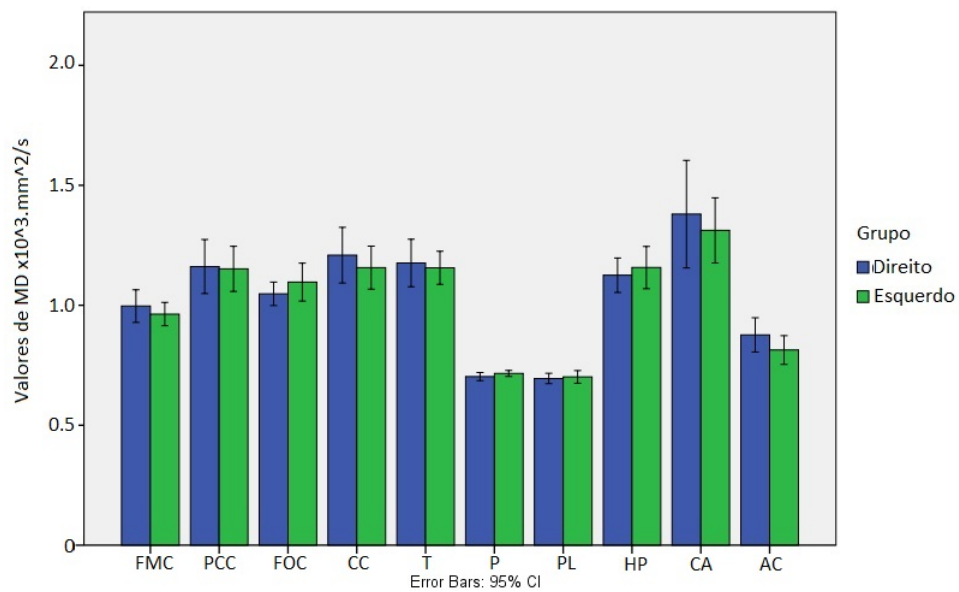


Figura A.8: Comparação de valores de MD entre hemisférios para o gupo de Controlo.

A.4 Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade

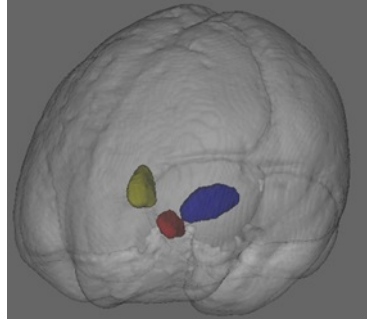


Figura A.9: Localização das ROIs GP esquerdo e direito, azul e amarelo respectivamente. Por fim, a vermelho podemos observar a ROI NAc esquerda.

A.5 Teste de Normalidade às variáveis : Teste de Kolmogorov - Smirnov

Variável	Grupo	FA (p)	MD (p)	Variável	FA (p)	MD (p)
-	-	-	-	L_T	0,052	0,200
		-	-		0,200	0,200
R_FMC	Controlo	0,031	0,200	R_P	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
L_FMC	Controlo	0,200	0,200	L_P	0,200	0,173
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
R_PCC	Controlo	0,200	0,161	R_PL	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
L_PCC	Controlo	0,200	0,200	L_PL	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,200	0,126
R_FOC	Controlo	0,200	0,200	R_HP	0,200	0,117
	DP	0,200	0,148		0,200	0,200
L_FOC	Controlo	0,200	0,200	L_HP	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
R_CC	Controlo	0,200	0,200	R_CA	0,200	0,169
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
L_CC	Controlo	0,200	0,200	L_CA	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,200	0,200
BS	Controlo	0,200	0,200	R_AC	0,200	0,200
	DP	0,153	0,200		0,053	0,200
R_T	Controlo	0,200	0,200	L_AC	0,200	0,200
	DP	0,200	0,200		0,011	0,013

Tabela A.2: Teste aderência à normalidade de Kolmogorov - Smirnov. Valores p para métricas de difusão e grupos.

A.6 Teste de Normalidade às variáveis : Teste de Shapiro - Wilk

Variável	Grupo	FA (p)	MD (p)	Variável	FA (p)	MD (p)
-	-	-	-	L_T	0,206 0,044	0,712 0,281
R_FMC	Controlo DP	0,226 0,253	0,750 0,446	R_P	0,468 0,551	0,361 0,154
L_FMC	Controlo DP	0,505 0,205	0,489 0,595	L_P	0,361 0,993	0,214 0,466
R_PCC	Controlo DP	0,385 0,906	0,497 0,498	R_PL	0,805 0,298	0,379 0,200
L_PCC	Controlo DP	0,868 0,971	0,362 0,816	L_PL	0,210 0,676	0,929 0,005
R_FOC	Controlo DP	0,338 0,298	0,922 0,313	R_HP	0,349 0,955	0,237 0,199
L_FOC	Controlo DP	0,659 0,694	0,659 0,265	L_HP	0,853 0,904	0,621 0,433
R_CC	Controlo DP	0,955 0,316	0,787 0,504	R_CA	0,969 0,148	0,145 0,252
L_CC	Controlo DP	0,912 0,598	0,826 0,810	L_CA	0,382 0,170	0,819 0,460
BS	Controlo DP	0,270 0,308	0,430 0,959	R_AC	0,969 0,140	0,549 0,198
R_T	Controlo DP	0,915 0,298	0,552 0,440	L_AC	0,587 0,003	0,667 0,062

Tabela A.3: Teste aderência à normalidade de Shapiro - Wilk. Valores p para métricas de difusão e grupos.



Análise de Conectividade

B.1 Tabela de Correspondência para métricas de conectividade.

ROI	Sigla	Região direita	Região esquerda
Giro Angular	A_G	R_A_G	L_A_G
<i>Central Opercular Cortex</i>	C_O_C	R_C_O_C	L_C_O_C
<i>Cingulate Gyrus r.a</i>	C_G_a_d	R_C_G_a_d	L_C_G_a_d
<i>Cingulate Gyrus r.p</i>	C_G_p_d	R_C_G_p_d	L_C_G_p_d
<i>Cuneal Cortex</i>	C_C	R_C_C	L_C_C
Cortex Medial Frontal	F_M_C	R_F_M_C	L_F_M_C
<i>Frontal Operculum Cortex</i>	F_O_C	R_F_O_C	L_F_O_C
Cortex Orbital Frontal	F_Or_C	R_F_Or_C	L_F_Or_C
<i>Frontal Pole</i>	F_P	R_F_P	L_F_P
Giro de Heschls	H_G	R_H_G	L_H_G
Giro Frontal Inferior p.o	I_F_G_p_o	R_I_F_G_p_o	L_I_F_G_p_o
Giro Frontal Inferior p.t	I_F_G_p_t	R_I_F_G_p_t	L_I_F_G_p_t
Giro Temporal Inferior r.a	I_T_G_a_d	R_I_T_G_a_d	L_I_T_G_a_d
Giro Temporal Inferior r.p	I_T_G_p_d	R_I_T_G_p_d	L_I_T_G_p_d
Giro Temporal Inferior r.t.o	I_T_G_t_p	R_I_T_G_t_p	L_I_T_G_t_p
Cortex Insular	I_C	R_I_C	L_I_C
<i>Intracalcarine Cortex</i>	Intra_C	R_Intra_C	L_Intra_C
<i>Juxtapositional Lobule Cortex</i>	J_L_C	R_J_L_C	L_J_L_C

Tabela B.1: Tabela de correspondência para métricas de conectividade (continua). r.a - região anterior, r.p - região posterior, r.t.o - região temporo-ocipital, p.o - *pars opercularis* e p.t - *pars triangularis*.

ROI	Sigla	Região direita	Região esquerda
Cortex Occipital Lateral r.i	L_O_C_i_d	R_L_O_C_i_d	L_L_O_C_i_d
Cortex Occipital Lateral r.s	L_O_C_s_d	R_L_O_C_s_d	L_L_O_C_s_d
Giro Lingual	L_G	R_L_G	L_L_G
Giro Medial Frontal	M_F_G	R_M_F_G	L_M_F_G
Giro Medial Temporal r.a	M_T_G_a_d	R_M_T_G_a_d	L_M_T_G_a_d
Giro Medial Temporal r.p	M_T_G_p_d	R_M_T_G_p_d	L_M_T_G_p_d
Giro Medial Temporal r.t.o	M_T_G_t_p	R_M_T_G_t_p	L_M_T_G_t_p
Giro Fusiforme Occipital	O_F_G	R_O_F_G	L_O_F_G
<i>Occipital Pole</i>	O_P	R_O_P	L_O_P
Giro Paracingulado	P_G	R_P_G	L_P_G
Giro Parahipocampal r.a	P_G_a_d	R_P_G_a_d	L_P_G_a_d
Giro Parahipocampal r.p	P_G_p_d	R_P_G_p_d	L_P_G_p_d
<i>Parietal Operculum Cortex</i>	P_O_C	R_P_O_C	L_P_O_C
<i>Planum Polare</i>	P_P	R_P_P	L_P_P
<i>Planum Temporale</i>	P_T	R_P_T	L_P_T
Giro Pós Central	Post_G	R_Post_G	L_Post_G
Giro Pré Central	P_G	R_P_G	L_P_G
<i>Precuneous Cortex</i>	P_C	R_P_C	L_P_C
Cortex Subcaloso	Sub_C	R_Sub_C	L_Sub_C
Giro Superior Frontal	S_F_G	R_S_F_G	L_S_F_G
Lóbulo Parietal r.s	S_P_L	R_S_P_L	L_S_P_L
Giro Temporal Supeior r.a	S_T_G_a_d	R_S_T_G_a_d	L_S_T_G_a_d
Giro Temporal Supeior r.p	S_T_G_p_d	R_S_T_G_p_d	L_S_T_G_p_d
<i>Supracalcarine Cortex</i>	S_C	R_S_C	L_S_C
Giro Supramarginal r.a	S_G_a_d	R_S_G_a_d	L_S_G_a_d
Giro Supramarginal r.p	S_G_p_d	R_S_G_p_d	L_S_G_p_d
Cortex T.F r.a	T_F_C_a_d	R_T_F_C_a_d	L_T_F_C_a_d
Cortex T.F r.p	T_F_C_p_d	R_T_F_C_p_d	L_T_F_C_p_d
Cortex Occipital T.F	T_O_F_C	R_T_O_F_C	L_T_O_F_C
<i>Temporal Pole</i>	T_P	R_T_P	L_T_P
Tronco Cerebral	B_S	n.u	n.u
Núcleo Accumbens	Acc	R_Acc	L_Acc
Amígdala	A	R_A	L_A
Núcleo Caudado	C	R_C	L_C
Hipocampus	H	R_H	L_H
<i>Globulus Pallidus</i>	Pal	R_Pal	L_Pal
<i>Putamen</i>	P	R_P	L_P
Tálamo	T	R_T	L_T

Tabela B.2: Tabela de correspondência para métricas de conectividade (continuação). r.i - região inferior, r.s - região superior, r.a - região anterior, r.p - região posterior, T.F - temporal fusiforme e r.t.o - região temporo-ocipital.

B.2 Métricas de Conectividade

B.2.1 Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade

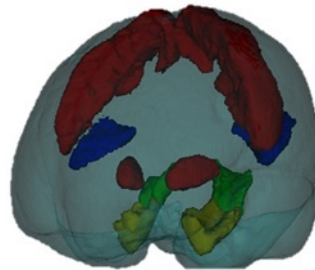


Figura B.1: Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade. Comparação de métricas de conectividade entre grupos.

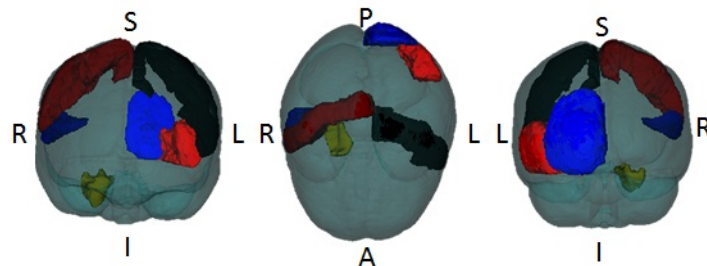


Figura B.2: Localização espacial das ROIs onde foram observadas alterações nas métricas de conectividade. Comparação de métricas de conectividade entre hemisférios.

B.2.2 Comparação entre Grupos

Região	Grau			B.C		
	Control	DP	Valor p	Control	PD	Valor p
GP	22.20±0.08	20.00±0.74	0.040	125.1±33.9	78.1±11.3	n.s
GPra	11.9±1.20	12.3±0.78	n.s	50.80±13.0	26.3±6.80	0.045
PGrp	11.6±0.60	12.9±0.50	0.039	31.6±6.10	45.9±7.20	n.s
PT	15.9±0.40	15.4±0.50	n.s	78.1±7.70	55.7±8.90	0.028
LPrs	17.1±0.70	18.9±0.70	n.s	214.6±22.6	320.6±24.5	0.006

Tabela B.3: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade. B.C - *Betweenness Centrality*, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes.

Região	Clust			E.L		
	Control	DP	Valor p	Control	PD	Valor p
GP	0.65±0.01	0.69±0.01	n.s	0.78±0.01	0.78±0.01	n.s
GPra	0.82±0.03	0.78±0.03	n.s	0.81±0.01	0.79±0.01	n.s
PGrp	0.80±0.02	0.76±0.02	n.s	0.80±0.00	0.79±0.06	n.s
PT	0.66±0.01	0.68±0.01	n.s	0.76±0.00	0.77±0.01	n.s
LPrs	0.58±0.01	0.54±0.01	n.s	0.72±0.01	0.71±0.00	n.s

Tabela B.4: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade (continuação). Clust - *Clustering*, E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes.

B.2.3 Comparação entre Hemisférios

Região [Lado]	Grau			B.C		
	Control	DP	Valor p	Control	PD	Valor p
C_O_l_r_i [L]	15.80±0.7	12.80±0.73	0.011	138.9±26.2	73.7±18.7	0.019
O_P [L]	14.00±0.6	15.4±0.3	0.023	37.1±5.6	54.8±8.8	n.s
PGra [R]	11.9±1.2	12.3±0.8	n.s	26.32±6.8	50.81±13.0	0.035
PT [R]	16.1±0.5	15.1±0.5	n.s	85.5±11.1	49.6±7.6	0.035
GPC [R]	17.0±1.1	20.0±1.3	n.s	189.2±28.8	325.5±42.3	0.035
P_G [L]	25.1±1.3	29.0±1.4	n.s	578.5±75.0	842.4±99.0	0.023

Tabela B.5: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade entre hemisférios. B.C - *Betweenness Centrality*, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, L - lado esquerdo e R - lado direito.

Região	Clust			E.L		
	Control	DP	Valor p	Control	PD	Valor p
C_O_l_r_i [L]	0.59±0.02	0.68±0.03	0.043	0.73±0.01	0.75±0.01	n.s
O_P [L]	0.82±0.02	0.76±0.01	0.019	0.83±0.01	0.81±0.01	n.s
PGra [R]	0.82±0.30	0.78±0.03	n.s	0.81±0.01	0.8±0.01	n.s
PT [R]	0.65±0.01	0.67±0.01	n.s	0.76±0.01	0.77±0.01	n.s
GPC [R]	0.61±0.03	0.54±0.02	n.s	0.74±0.01	0.72±0.01	n.s
P_G [L]	0.44±0.2	0.40±0.01	0.029	0.68±0.01	0.66±0.01	n.s

Tabela B.6: Tabela demonstrativa de alterações significativas das métricas de conectividade entre hemisférios (continuação). Clust - *Clustering*, E.L - Eficiência Local, n.s - não significativo, DP - grupo de doentes, L - lado esquerdo e R - lado direito.

B.3 Correlações

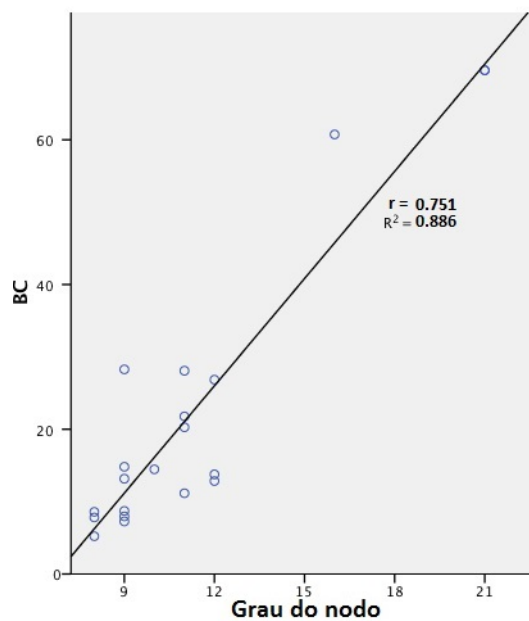


Figura B.3: Correlação entre BC e grau do nodo, com $p=0.00$, para o giro hipocampal anterior, para os doentes.

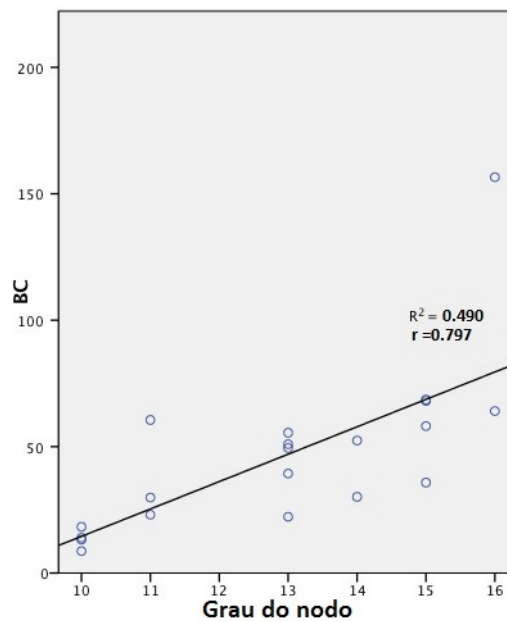


Figura B.4: Correlação entre BC e grau do nodo, com $p=0.00$, para o giro hipocampal posterior, para os doentes.

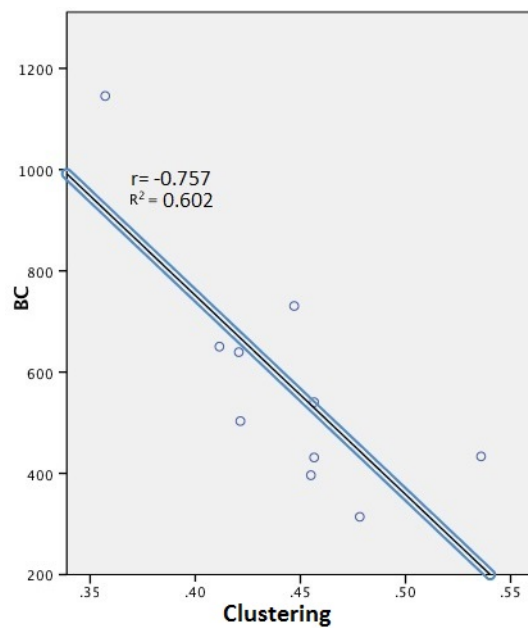


Figura B.5: Correlação entre BC e *Clustering*, com $p=0.01$, para o Giro Pré-Central, para os doentes.

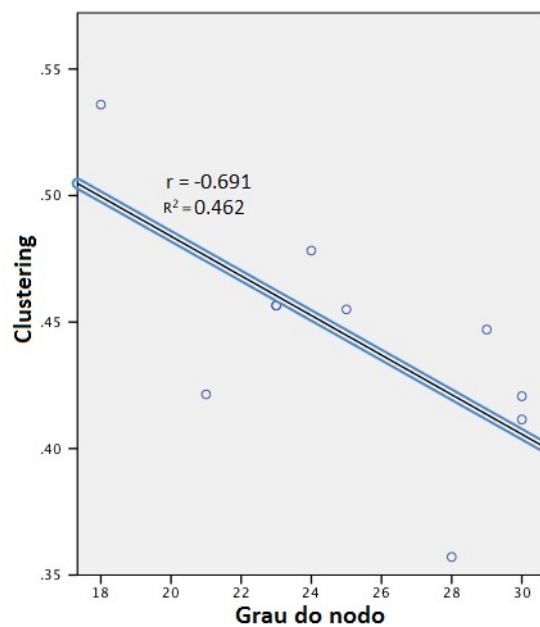


Figura B.6: Correlação entre o grau do nodo e *Clustering*, com $p=0.03$, para o Giro Pré-Central, para os doentes.