



Ana Rita Lindo dos Santos Justo Pereira

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Processamento de Imagens BOLD de Ressonância Magnética do Músculo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professor Doutor Mário Forjaz Secca, FCT/UNL

Co-orientador: Professor Doutor António Prieto Veloso, FMH/UTL

Júri:

Presidente: Doutora Maria Adelaide Almeida Pedro de Jesus

Arguente: Doutor Pedro Manuel Cardoso Vieira

Vogais: Doutor António Prieto Veloso

Doutor Mário António Basto Forjaz Secca



Ana Rita Lindo dos Santos Justo Pereira

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Departamento de Física

Processamento de Imagens BOLD de Ressonância Magnética do Músculo

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 de Grau de Mestre em Engenharia Biomédica.

A presente dissertação foi desenvolvida com a colaboração da Faculdade de Motricidade Humana (FMH/UTL) e a Clínica de Ressonância Magnética de Caselas.

Orientador: Professor Doutor Mário Forjaz Secca

Co-orientador: Professor Doutor António Prieto Veloso

Copyright

Processamento de Imagens BOLD de Ressonância Magnética do Músculo

Copyright© 2012 - Todos os direitos reservados. Ana Rita Lindo dos Santos Justo Pereira.
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.

“They are never alone that are accompanied with noble thoughts”, Sir Philip Sidney

“Dos fracos não reza a história”, avô João Aníbal Pereira

Agradecimentos

Ao Professor Doutor Mário Forjaz Secca, orientador da dissertação de Mestrado, o meu sincero agradecimento pela sua simpatia, atenção, orientação e motivação prestada durante os últimos meses. Agradeço igualmente ao Professor Doutor António Prieto Veloso, meu co-orientador, pela sua disponibilidade e ajuda. A participação num projecto tão interessante e desafiador como este, não seria possível sem o apoio de ambos.

À Doutora Cláudia Quaresma, um muito obrigada pela sua motivação, contribuição e apoio concedido na análise estatística.

Não posso deixar de agradecer ao meu amigo, José Nuno Alves, pelo seu companheirismo, colaboração e apoio nesta importante etapa do curso.

A presente dissertação foi desenvolvida em colaboração com a Faculdade de Motricidade Humana (FMH/UTL) e a Clínica de Ressonância Magnética de Caselas, pelo que conduzo igualmente o meu agradecimento a toda a equipa de trabalho que tornam este projecto possível e tão interessante, nomeadamente ao doutorando Sérgio Alves e ao Professor Doutor Michael Noseworthy, pelas discussões produtivas e ajuda.

As minhas palavras de agradecimento estendem-se ao grupo de colegas da faculdade pelos bons momentos partilhados e a todos os outros amigos que estiveram presentes nesta etapa da minha vida e a que de certa forma deram o seu contributo. Agradeço especialmente à minha família, nomeadamente aos Tios Pedro e Conceição Magalhães e à Tia Ana Freire. À Professora Doutora Cecília Arraiano e à Irene Moura devo igualmente os meus agradecimentos pelos seus conselhos e sugestões.

Gostaria de agradecer ao Hugo Medeiros, todo o carinho e atenção que demonstra, por estar ao meu lado e ser a pessoa especial que é!

Por último, as minhas palavras de agradecimento são dedicadas aos meus pais, irmão e avó, pelo seu amor e carinho dedicado durante toda a minha vida. Um especial e enorme Obrigada aos meus pais, pelo excelente modelo e exemplo que são e pela ajuda, motivação dada e amizade incondicional.

Ana Rita Lindo dos Santos Justo Pereira

Outubro 2012

Resumo

A presente dissertação de mestrado pretende avaliar as alterações fisiológicas de vários músculos da perna quando submetidos a exercício físico intenso, através da técnica de ressonância magnética funcional BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*).

As diferentes propriedades magnéticas da oxi-hemoglobina (diamagnética) e da desoxi-hemoglobina (paramagnética), associadas aos factores hemodinâmicos, geram contraste nas imagens de ressonância magnética, durante a activação muscular, possibilitando a visualização dos músculos recrutados com a realização do exercício.

Sete jovens atletas saudáveis participaram neste estudo. As imagens BOLD foram adquiridas antes e imediatamente após o exercício-físico. O paradigma de exercício usado foi o salto unipedal, executado em posição ortostática, permitindo atingir a fadiga muscular em poucos minutos. A análise das imagens dos músculos Tibial Anterior, Gémeo interno, Gémeo Externo e Solear foi feita com o programa OsiriX[®], através da marcação de ROIs circulares sobre cortes axiais.

Todos os voluntários exibiram padrões semelhantes de variação de intensidade de sinal BOLD induzido pelo exercício. A fase de repouso caracteriza-se pela intensidade de sinal BOLD constante para todos os músculos. Após o exercício verificou-se um aumento percentual de intensidade de sinal, que foi máximo para os músculos Gémeo Externo, Gémeo Interno e Solear, e comparativamente menor para o Tibial Anterior. Os resultados estão de acordo com o esperado para o tipo de exercício realizado e são concordantes com os obtidos por outras técnicas, como DTI e T₂.

Conclui-se que a análise das alterações fisiológicas dos músculos pela técnica BOLD poderá ser útil para a avaliação não-invasiva da actividade muscular, constituindo-se como uma alternativa ou complemento válido aos métodos superficiais ou invasivos. Podem antecipar-se futuras aplicações desta técnica a estudos de fisiopatologia do músculo.

Palavras Chave: Músculo, fMRI, BOLD, Exercício

Abstract

The aim of this dissertation is to assess the physiological changes of various leg muscles under intense physical exercise, using the fMRI BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*) technique. The different magnetic properties of oxy-hemoglobin (diamagnetic) and deoxy-hemoglobin (paramagnetic) associated with hemodynamic factors, generate contrast in magnetic resonance imaging, during muscle activation, enabling visualization of muscles recruited during exercise.

Seven young healthy athletes participated in this study. BOLD images were acquired before and immediately after exercise. The exercise paradigm used was one-legged jump movements, executed in the standing position, allowing to reach muscle fatigue in a few minutes. The analysis of images of Tibialis Anterior, Gastrocnemius Medial and Lateral head and Soleus muscles was performed by OsiriX[®] program, by marking circular ROIs on axial slices.

All volunteers showed similar patterns of BOLD signal intensity changes induced by exercise. The rest phase is characterized by constant signal BOLD intensity for all muscles. After exercise, there was a percent increase of signal intensity, which was greatest in the Gastrocnemius Lateral head, Gastrocnemius Medial head and Soleus muscle, and comparatively smaller in the Tibialis Anterior muscle. These results are consistent with what was to be expected for the type of exercise performed and are concordant with the results obtained by other techniques using DTI and T₂.

We conclude that the analysis of the physiological changes of muscle BOLD technique may be useful for non-invasive assessment of muscle activity, constituting therefore a valid alternative or complement to superficial or invasive methods. Future applications of this technique might be envisioned to pathophysiological studies of muscle activity.

Key words: Muscle, fMRI, BOLD, Exercise

Índice

Índice de Figuras	xvii
Índice de Tabelas	xxi
Lista de Acrónimos	xxiii
1. Introdução	1
1.1. Enquadramento	1
1.2. Estrutura da Tese	3
1.3. Estado da Arte	4
2. O Músculo	7
2.1. Constituição do músculo	7
2.2. Anatomia	8
2.2.1. Inserções	9
2.3. Participação muscular no movimento	10
3. Imagem por Ressonância Magnética	13
3.1. Funcionamento da Ressonância Magnética	14
3.1.1. Princípios básicos	14
3.1.2. Sequências de pulso	17
3.1.3. Localização espacial	18
3.1.4. Formação da Imagem de RM	20
3.1.5. Contraste e ponderações	22
3.1.6. Parâmetros da imagem	23
4. Ressonância Magnética Funcional	25
4.1. BOLD	26
4.1.1. Comportamento do sinal em função do tempo	28
4.2. Ressonância Magnética Funcional no desporto	31
4.3. Difusão	32
5. Métodos Experimentais	33
5.1. Caracterização da amostra de voluntários	33

5.2.	Fases da aquisição de imagens	33
5.3.	Processamento de Imagem	36
5.3.1.	Correcção de Movimento e Co-registo	36
5.3.2.	Programa de processamento de imagens: FSL	37
5.4.	Marcação de Regiões de Interesse	38
5.5.	Análise do sinal BOLD	39
5.6.	Análise estatística	40
6.	Resultados Experimentais	43
6.1.	Problemas com co-registo e correcção de movimento.....	45
6.2.	Comportamento de sinal BOLD.....	46
6.2.1.	Voluntário nº 1	47
6.2.2.	Voluntário nº 2	48
6.2.3.	Voluntário nº 3	50
6.2.4.	Voluntário nº 4	51
6.2.5.	Voluntário nº 5	52
6.2.6.	Voluntário nº 6	54
6.2.7.	Voluntário nº 7	55
6.2.8.	Resultados do ganho percentual para os sete voluntários.....	57
6.2.9.	Análise da variação do Ganho Percentual com o peso dos voluntários.....	59
6.3.	Comparação com outras técnicas de IRM.....	59
7.	Discussão e Conclusões.....	63
7.1.	Co-registo e Correcção de Movimento.....	64
7.2.	Sinal BOLD.....	64
7.3.	BOLD, T ₂ e DTI.....	67
7.4.	Limitações e perspectivas futuras.....	68
7.5.	Conclusões finais	69
	Bibliografia	71
	Anexos	75
	Anexo A	75
	Poster Electrónico apresentado no ESMRMB congress 2012	75

Anexo B.....	87
Caracterização da amostras de voluntários	87
Apresentação de exemplo de dados registados.....	87
Apresentação de dados estatísticos dos resultados	89
Anexo C.....	95
Aquisições na sessão BOLD e T_2	95

Índice de Figuras

Figura 2.1: Organização hierárquica do músculo.	8
Figura 2.2: Representação do tibial anterior.....	9
Figura 2.3: Representação do Tricípite sural, Gêmeos interno e externo e Solear.	10
Figura 2.4 e Figura 2.5: Movimentos musculares de flexão, extensão, inversão e eversão do pé.	11
Figura 3.1: Aumento do ângulo de precessão do vector magnetização, sob acção de um pulso RF.	15
Figura 3.2: Representação gráfica do tempo de relaxação T_1 e T_2 após pulso de RF de 90°	16
Figura 3.3: Decaimento de T_2^* e T_2	17
Figura 3.4: Sequência Eco de <i>Spin</i>	17
Figura 3.5: Diagrama temporal para a sequência de pulso Eco de Gradiente.....	18
Figura 3.6: Variações espaciais do campo magnético, quando aplicados a gradientes lineares sobre os três eixos.	19
Figura 3.7: Conversão de uma imagem anatómica no espaço-k, e processo inverso.....	20
Figura 3.8: Sequência Eco de Gradiente e respectiva trajectória no espaço k pelo método de aquisição EPI.	21
Figura 3.9: Contraste em imagem de ressonância magnética.....	23
Figura 3.10: Efeito de volume parcial em função da resolução espacial.	24
Figura 4.1: Efeito da susceptibilidade magnética da desoxi-hemoglobina sob acção do campo magnético.	26
Figura 4.2: Variações de volume sanguíneo (VS), Hemoglobina (HbO_2) e Desoxi-hemoglobina (Hb) durante uma sequência de 1s de contracção espaçada em intervalos de 80s, medidos por NIRS.	27
Figura 4.3: Modelo Dinâmico da resposta do Fluxo sanguíneo, Volume sanguíneo e Saturação, Consumo de O_2 e Sinal BOLD	27
Figura 4.4: Factores Hemodinâmicos que condicionam o efeito BOLD..	28
Figura 4.5: Comportamento de sinal T_2^* em função do tempo, para os músculos Solear (A) e Gêmeos (B), quando o campo magnético aplicado foi de 1,5T (curva a azul) e 3T (curva a vermelho).	29
Figura 4.6: Aumento do sinal BOLD com a variação da intensidade dos campos magnéticos.	29
Figura 4.7: Modelo representativo da evolução do sinal BOLD após estímulo.	30

Figura 4.8: Comportamento de sinal BOLD em função do tempo e da activação muscular (zonas sombreadas) para os músculos anteriores da perna (1), Solear (2) e perna em repouso (3).....	30
Figura 4.9: Comportamento de sinal BOLD em função da activação muscular (zonas sombreadas) alternada da perna direita (1) e da perna esquerda (2)..	31
Figura 5.1: Suporte físico (A) utilizado para a imobilização da perna direita (B).....	35
Figura 5.2: Perna direita imobilizada já com a colocação da bobine (A e B).....	35
Figura 5.3: Marcação de ROIs sobre as imagens DP (A e C) e BOLD (B e D) do voluntário nº 4, nas fases pré (A e B) e pós-exercício (C e D)	39
Figura 6.1: Variação temporal anómala da intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 3, quando foi considerado o processamento de imagem.	45
Figura 6.2: Variação temporal anómala da intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 5, quando foi considerado o processamento de imagem.	45
Figura 6.3: Exemplo de erro na imagem BOLD do voluntário nº 3.....	46
Figura 6.4: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 1.....	47
Figura 6.5: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D- Solear.	48
Figura 6.6: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 2.....	49
Figura 6.7: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D- Solear.	49
Figura 6.8: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 3.....	50
Figura 6.9: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D- Solear.	51
Figura 6.10: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 4.....	51
Figura 6.11: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior e Solear, B – Gémeo Interno e C – Gémeo Externo.	52
Figura 6.12: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 5.....	53
Figura 6.13: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior e Gémeo Interno B – Gémeo Externo e C – Solear.	54
Figura 6.14: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 6.....	54
Figura 6.15: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior, B - Gémeo Interno C – Gémeo Externo e Solear.....	55
Figura 6.16: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 7.....	56
Figura 6.17: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A-Tibial Anterior e Gémeo Interno, B - Gémeo Externo e C – Solear.	56
Figura 6.18: Indicação do último volume temporal da fase pré-exercício e primeiro volume temporal da fase pós-exercício.	57
Figura 6.19: Ganho percentual obtido para os músculos da perna com a técnica BOLD...	58

Figura 6.20: Comparação entre peso dos voluntários e o ganho percentual do músculo Gémeo Externo (GE).....	59
Figura 6.21: Ganho percentual obtido para os músculos da perna com a técnica BOLD... ..	60
Figura 6.22: Ganho percentual de sinal T_2 obtido para os músculos da perna.	60
Figura 6.23: Ganho percentual de sinal DTI (ADC) obtido para os músculos da perna	60
Figura 6.24: Análise comparativa entre técnicas de RM: T_2 , DTI (ADC) e BOLD.....	61

Índice de Tabelas

Tabela 3.1: Valores típicos de T_1 e T_2 , para um campo magnético de 1,5 T.	22
Tabela 5.1: Parâmetros e Sequências utilizadas nas diferentes aquisições.	34
Tabela 5.2: Cálculo do número de pixels por área de ROI.	40
Tabela 6.1: Comparação entre os valores médios do ganho percentual com respectivos desvio padrão, para cada músculo e para cada técnica.	61

Lista de Acrónimos

ADC	<i>Apparent Diffusion Coefficient</i>
BOLD	<i>Blood Oxygen Level Dependent</i>
CT	<i>Computed Tomography</i>
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
DP	Densidade protónica
DTI	<i>Diffusion Tensor Imaging</i>
DWI	<i>Diffusion Weighted Imaging</i>
EPI	<i>Echo Planar Imaging</i>
FID	<i>Free Induction Decay</i>
fMRI	<i>functional Magnetic Resonance Imaging</i>
FOV	<i>Field Of View</i>
FSE	<i>Fast Spi-Echo</i>
GRE	<i>Gradient Echo</i>
Hb	<i>Deoxyhemoglobin</i>
HbO ₂	<i>Oxyhemoglobin</i>
IRM	Imagem por Ressonância Magnética
MCFLIRT	<i>Motion Correction FMRIB's Linear Image Registration Tool</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
NIRS	<i>Near Infrared Spectroscopy</i>
PACS	<i>Picture Archiving and Communication System</i>
RF	Radio frequência
RM	Ressonância Magnética
ROI	<i>Region of Interest</i>
SE	<i>Spin Echo</i>
TE	Tempo de Eco
TR	Tempo de repetição

1. Introdução

1.1. Enquadramento

A Imagiologia é actualmente uma importante área da Medicina graças ao acentuado desenvolvimento de novas técnicas imagiológicas, de entre as quais se destaca a ressonância magnética (RM). Nos últimos anos os métodos de imagem por ressonância magnética funcional (fMRI¹) têm despertado particular interesse devido à possibilidade de relacionar a estrutura com a respectiva função. Assim esta tese dedica especial atenção à técnica de ressonância magnética funcional BOLD, acrónimo inglês para *Blood Oxygen Level Dependent*.

Este tema “Processamento de imagens BOLD de Ressonância Magnética do Músculo” surge no desenvolvimento do projecto proposto à Fundação para a Ciência e Tecnologia, FCT,

¹ Do Inglês, *Functional Magnetic Resonance Imaging*.

pelo Professor António Veloso², em colaboração com a Clínica de Ressonância Magnética de Caselas e a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa. O projecto “Desenvolvimento de metodologias experimentais e de modelação para a avaliação de carga mecânica no sistema músculo-esquelético” desenvolvido pelo grupo de Neuromecânica do Movimento Humana (NMH) do Centro Interdisciplinar de Estudo da Performance Humana (CIPER/FMH/UTL) foca-se especialmente na avaliação das alterações estruturais, funcionais e de controlo neuro-muscular do sistema músculo-esquelético, em resposta à aplicação de carga mecânica cíclica, de intensidade moderada ou elevada no sistema. A imagem por ressonância magnética surge como método de visualização permitindo o estudo das alterações fisiológicas dos tecidos biológicos.

A presente dissertação engloba as seguintes etapas: selecção do grupo de voluntários, preparação e estruturação do plano de exames, aquisição das imagens e por fim o tratamento e análise dos dados. O trabalho foi desenvolvido com a colaboração de nove elementos: dois alunos de mestrado em Engenharia Biomédica, Ana Rita Justo Pereira e José Nuno Alves; dois alunos de Doutoramento, Filipa João e Sérgio Saraiva Alves; o professor orientador e físico da Clínica de Caselas, Professor Doutor Mário Forjaz Secca; o orientador do projecto, Professor António Prieto Veloso; o professor Doutor Michael Noseworthy, colaborador da Universidade McMaster no Canadá, a técnica de radiologia da Clínica de Caselas, Cristina Menezes, e o médico radiologista da Clínica de Caselas, Dr. Nuno Jalles Tavares.

A presente dissertação baseia-se no estudo e compreensão do comportamento de sinal BOLD em função do tempo, permitindo avaliar as alterações fisiológicas de vários músculos da perna quando submetidos a exercício físico intenso.

Um grupo de jovens voluntários saudáveis e atletas participaram neste estudo, tendo sido feitas aquisições de imagens na perna dominante dos mesmos. O processo de aquisição de imagens anatómicas e funcionais foi repartido em duas fases, pré e pós-exercício. O salto unipedal, executado em posição ortostática até ser atingida a fadiga muscular, foi escolhido como paradigma simples de exercício, permitindo obter rapidamente (em poucos minutos) variações de intensidade de sinal BOLD.

Posteriormente, foi realizado um estudo comparativo dos resultados obtidos pelos diferentes estudos de ressonância magnética usados no projecto durante o desenvolvimento na

² Professor Associado, Laboratório de Biomecânica, FMH/UTL.

dissertação: BOLD, T_2 e Imagem por Tensor de Difusão (DTI³). Este estudo foi possível graças ao trabalho desenvolvido paralelamente por colegas do grupo de investigação.

Esta dissertação de mestrado pretende responder às seguintes questões:

- Será possível avaliar quantitativamente as variações de intensidade de sinal de vários músculos da perna, após realização de exercício físico intenso, através da técnica BOLD?
- Serão os dados obtidos através das diferentes técnicas de ressonância magnética, BOLD, T_2 e DTI, semelhantes em termos qualitativos, para um mesmo modelo de exercício físico?

O trabalho desenvolvido durante a actual dissertação de mestrado foi tema seleccionado para comunicação oral no congresso 2012 – *29th Annual Scientific Meeting*, organizado pela *European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology* (ESMRMB), realizado nos dias 4 a 6 de Outubro de 2012, na sessão *fMRI applications and methods - Poster Highlights Sessions*. O mesmo pode ser encontrado em anexo, com o título “*BOLD MRI evaluation of the physiological changes of various leg muscles under intense exercise*”, no qual Ana Rita Justo Pereira foi primeira autora.

1.2. Estrutura da Tese

A presente dissertação encontra-se estruturada em sete capítulos, ao longo dos quais é fornecida uma base teórica para a boa compreensão do estudo realizado, com descrição do processo de aquisição das imagens e a análise de dados, assim como a discussão dos resultados obtidos e a enumeração das conclusões finais.

Os fundamentos teóricos da imagem por ressonância magnética são sucintamente explicados permitindo a boa compreensão do funcionamento da mesma, assim como da técnica funcional. A técnica BOLD e a sua aplicação no desporto são de elevada importância no contexto deste estudo, sendo-lhes dedicado um capítulo inteiro (Capítulo 4). Breves referências a outros estudos que utilizaram T_2 e DTI são feitas ao longo da dissertação, uma

³ Do inglês, DTI para *Diffusion Tensor Imaging*.

vez que se pretende comparar os diferentes resultados obtidos. É também feita, nos capítulos introdutórios, uma descrição anatomo-fisiológica do músculo, como principal objecto de interesse deste estudo.

Nos Métodos Experimentais (Capítulo 5), é detalhadamente descrita a metodologia seguida no processo de aquisição das imagens e o processamento realizado, facilitando a leitura e compreensão dos resultados obtidos no presente estudo. As duas etapas de processamento de imagem - co-registo e correcção de movimento - foram rejeitadas devido ao facto de se ter concluído que eram factores de indução de erro nos resultados.

Nos Resultados Experimentais (Capítulo 6) são enumerados os resultados obtidos no estudo individual de cada voluntário, assim como no conjunto dos sete voluntários. Os resultados obtidos após o processamento das imagens com co-registo e correcção de movimento, embora não concordantes com o esperado são igualmente apresentados, bem como os resultados obtidos pelas técnicas T_2 e DTI para posterior avaliação comparativa.

Seguidamente na Discussão e Conclusões (Capítulo 7) são avaliados os resultados, relacionando-os com a teoria dando possíveis explicações para os eventos ocorridos. As limitações deste trabalho e da técnica nele utilizada são referidas na última secção, sendo propostos possíveis desenvolvimentos. Por último são apresentadas as conclusões finais da dissertação.

1.3. Estado da Arte

Em 1936, durante o trabalho de Pauling e Coryell [1], foi observado que a magnetização da hemoglobina se alterava consoante o seu estado de oxigenação. O sangue oxigenado era fracamente repellido, enquanto que o sangue desoxigenado era fortemente atraído, quando sob a acção de um campo magnético. Em 1990, os trabalho de Ogawa et al, [2-4], mencionaram a técnica BOLD, como técnica de contraste em ressonância magnética, resultante do nível de oxigenação do sangue. Usando intensos campos magnéticos e seqüências de eco de gradiente, foram observados efeitos da alteração da susceptibilidade magnética do sangue, no cérebro de ratos [2],[3]. Estes mesmos autores realizaram em 1992, um estudo em humanos, usando intensidades de campo magnético mais baixas. Foi então sugerido que a susceptibilidade magnética da desoxi-hemoglobina pudesse ser a base de monitorização do consumo de oxigénio no cérebro [5]. O mapeamento de consumo de oxigénio em zonas localizadas veio a ser estudado associado à realização de determinadas

tarefas, dando início a um grupo de estudos posteriormente designados por imagem por ressonância magnética funcional – fMRI [6].

A partir das observações feitas por Ogawa et al, inúmeros estudos no âmbito da ressonância magnética funcional têm sido realizados, utilizando intensidades de campo magnético mais baixas e permitindo mapear padrões de activação neuronal do cérebro quando se realizam certas actividades ou acções. Mais recentemente, e sendo o efeito BOLD sensível às variações de oxigenação, esta técnica tem sido aplicada noutras regiões anatómicas que apresentam também rica vascularização, tal como o músculo esquelético. Os estudos têm sido dirigidos ao sistema músculo esquelético, para tentar compreender se através da técnica BOLD se consegue detectar algum efeito após contracção muscular [7] e identificar quais os músculos mais envolvidos na realização de actividade física, de um modo não invasivo [7][8].

Com o intuito de avaliar a variação de intensidade de sinal BOLD do músculo esquelético, alguns estudos têm sido realizados em voluntários saudáveis utilizando diferentes paradigmas: isquémia, hiperemia reactiva pós-oclusiva, oxigénio inalado e exercício/contracções musculares.

O grupo de Ledermann et al., em 2006, realizou um estudo comparativo da intensidade de sinal BOLD dos músculos da perna [8],[9], recorrendo a um paradigma isquémia/hiperemia, com duas técnicas superficiais e a técnica BOLD. As conclusões revelaram uma boa correlação de intensidade de sinal BOLD com as técnicas superficiais, para o paradigma em questão e para voluntários saudáveis. Assim, pelo facto das técnicas superficiais estarem confinadas à micro-vascularização cutânea, a técnica BOLD foi considerada uma técnica vantajosa.

Para compreender e avaliar de uma forma natural o comportamento do músculo esquelético através da imagiologia funcional, os grupos de investigação têm recorrido ao exercício físico, substituindo os paradigmas de isquémia/hiperémia e inalação de O₂. São várias as abordagens utilizadas pelos diferentes grupos de investigação nesta área.

O grupo de investigação de Hennig et al., propôs um estudo [10] para compreender se o efeito BOLD surgia durante o exercício muscular e para avaliar o seu comportamento temporal. O protocolo consistiu numa tarefa de tensão muscular aplicada ao nível da perna tendo sido comprovada a existência e o aumento de sinal BOLD nos gémeos durante o período de exercício, seguido do decréscimo progressivo do sinal na fase de repouso.

O estudo comparativo do comportamento do sinal BOLD [11][12], após breves contracções, em grupos de indivíduos activos e sedentários, foi realizado por Towse et al., em 2005, tendo sido demonstrado um aumento significativo e persistente para os indivíduos do grupo activo.

Para além de estudos em voluntários saudáveis, o grupo de investigação de Jordan et al., em 2004, realizou estudos em ratos, aplicando a técnica BOLD durante e após moderada estimulação eléctrica do nervo ciático [8],[13]. Foram observados aumentos de intensidade de sinal BOLD nos músculos esqueléticos do rato durante exercício moderado, associados ao efeito da oxigenação e do fluxo sanguíneo, e após a estimulação eléctrica, associados unicamente ao efeito da oxigenação.

A actividade física associada às técnicas de ressonância magnética, tem desta forma demonstrado ser um bom protocolo a aplicar em estudos de comportamento do sinal BOLD dos músculos esqueléticos, tendo sido escolhida para aplicação na presente dissertação.

2. O Músculo

2.1. Constituição do músculo

Os músculos são elementos fundamentais do corpo humano, responsáveis pelo movimento corporal, pela manutenção da postura, respiração, batimentos cardíacos e comunicação, processos estes controlados pelo sistema nervoso voluntário e autónomo [14].

Existem três diferentes tipos de músculos: o músculo esquelético, o músculo liso e o músculo cardíaco, apresentando cada um características próprias. Para o estudo em questão, dá-se ênfase unicamente ao músculo esquelético.

No que respeita a organização hierárquica histológica do músculo, a unidade base de organização do músculo esquelético é a fibra muscular. As fibras musculares por sua vez, organizam-se em feixes musculares e estes associam-se formando o músculo (Figura 2.1) [14],[15].

As miofibrilhas (Figura 2.1) são organelos cilíndricos, constituintes internos das fibras musculares, que possuem filamentos de actina e miosina responsáveis pela contractibilidade muscular [16].

O tecido conjuntivo reveste e permite agrupar unidades contrácteis e os vasos sanguíneos em conjuntos compactos, possibilitando no entanto que estas unidades sejam independentes entre si e possuam um certo grau de liberdade de movimentos. O tecido conjuntivo que reveste as fibras musculares designa-se por endomísio; o perímísio reveste conjuntos de fibras musculares, vasos sanguíneos e nervos e mais externamente o epimísio, tecido conjuntivo mais denso e fibroso, reveste o ventre do músculo [14],[15].

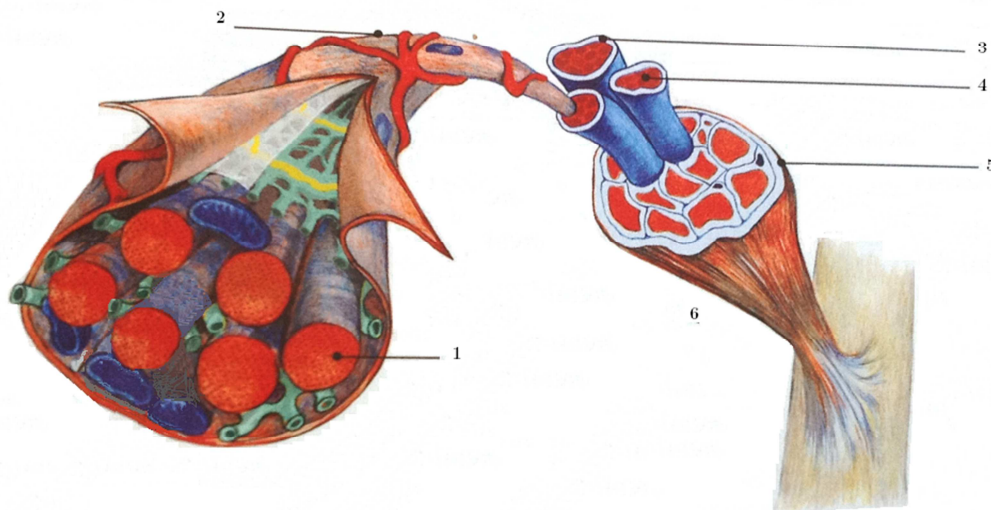


Figura 2.1: Organização hierárquica do músculo. 1 – miofibrilha, 2 – fibras musculares, 3 – perímísio, 4 – feixe muscular 5 – epimísio, 6 – ventre muscular. Adaptado de [15].

Os vasos sanguíneos ramificam-se numa vasta rede capilar ao nível das fibras musculares.

2.2. Anatomia

Anatomicamente, o músculo apresenta na região central o ventre muscular, de cor avermelhada e nas suas extremidades situam-se os tendões de cor esbranquiçada, através dos quais o músculo se insere no osso.

Geralmente, um músculo esquelético dispõe-se entre dois ossos, unidos entre si por meio de uma articulação móvel. Quando o músculo se contrai, ocorre o movimento de um osso em relação a outro, que tende a permanecer imóvel [14].

2.2.1. Inserções

Para o estudo em questão, apenas são referidos determinados músculos do membro inferior, nomeadamente da perna. São eles, o tibial anterior e o tricípíte sural, constituído pelas suas três porções: o gêmeo interno⁴, o gêmeo externo, e o solear⁵.

O tibial anterior situa-se no compartimento anterior da perna, sendo o músculo mais superficial (Figura 2.2). Tem origem superior na face externa da diáfise da tibia e inserção inferior no primeiro cuneiforme e primeiro metatársico, através de um longo tendão que atravessa a face anterior do tornozelo em direcção à parte interna do dorso do pé [15].

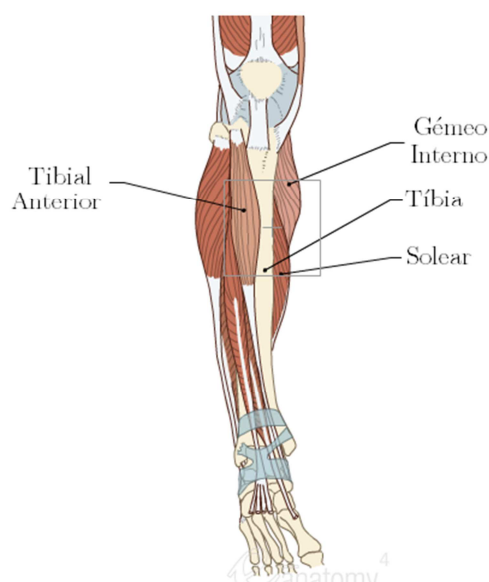


Figura 2.2: Representação do tibial anterior. Adaptado de [17].

O tricípíte sural situa-se no compartimento posterior da perna. As suas três porções (Gêmeo Interno, Externo e Solear) possuem origens diferentes mas uma única inserção inferior no calcâneo, por meio do tendão de Aquiles.

⁴ De acordo com a nomenclatura anatómica francesa.

⁵ *Tibialis Anterior muscle*, *Gastrocnemius Medial muscle*, *Gastrocnemius Lateral muscle* e *Soleus muscle* respectivamente, segundo a nomenclatura anglo-saxónica.

O gêmeo interno e externo são superficiais e têm a sua origem na parte superior dos côndilos femorais respectivos (Figura 2.3 A).

O solear situa-se profundamente no compartimento posterior da perna, anterior aos gêmeos e possui origem superior na tíbia, ligamento interósseo, cabeça e diáfise do perónio, seguindo uma linha de disposição oblíqua [15] (Figura 2.3 B).

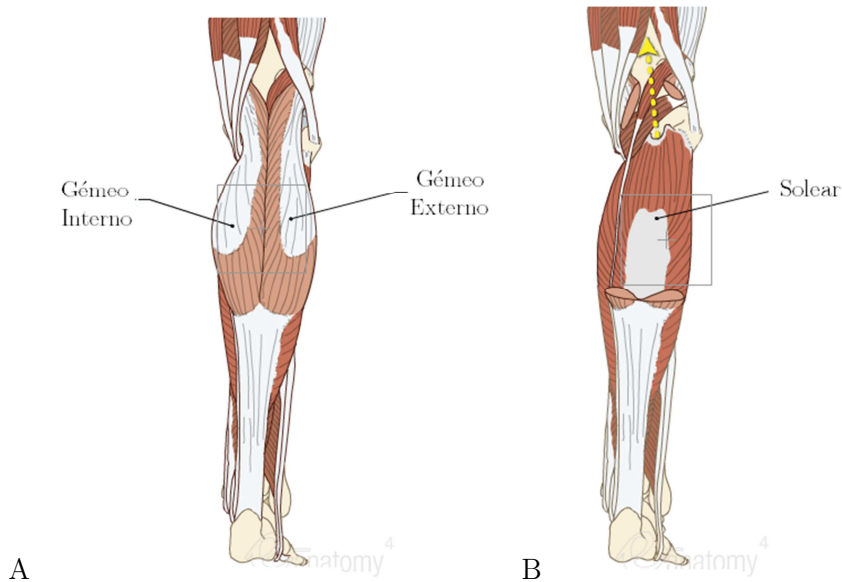


Figura 2.3: Representação do Tricípite sural, Gêmeos interno e externo (A) e Solear (B). Adaptado de [17].

2.3. Participação muscular no movimento

O grau de intervenção dos músculos em determinado movimento é influenciado por certos factores, como o volume muscular; o tipo de fibras constituintes dos músculos; o ângulo de penação (ângulo formado entre o eixo longitudinal do músculo e a orientação dos feixes musculares); os tendões e diferentes articulações em causa.

Em relação à classificação da acção que os músculos executam, interessa realçar a designação de agonistas, se os músculos são responsáveis pelo movimento, antagonistas se os músculos se opõem ao movimento e sinérgicos quando o movimento é resultado da acção de um conjunto de músculos.

Na perna, o tibial anterior é responsável pela flexão dorsal e inversão do pé, enquanto que os gêmeos participam no movimento de flexão da perna e juntamente com o solear são responsáveis pela flexão plantar e eversão do pé (Figura 2.4) [15].

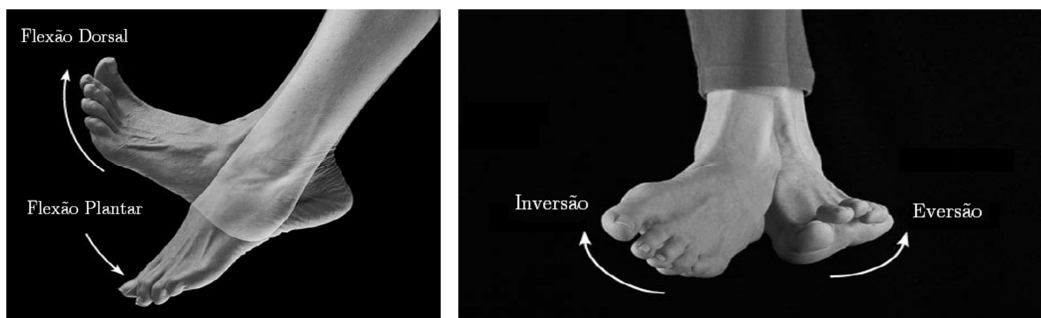


Figura 2.4 e Figura 2.5: Movimentos musculares de flexão, extensão, inversão e eversão do pé.

A acção do movimento de flexão plantar é consideravelmente mais forte que a de flexão dorsal do pé pelo facto de existirem mais músculos agonistas flexores que extensores [18].

O tricípite sural é considerado o principal músculo agonista da flexão plantar. Os gémeos têm maior destaque no movimento de flexão plantar, em situações dinâmicas tal como a corrida ou salto, e o solear é responsável pela manutenção da postura na posição de flexão plantar.

3. Imagem por Ressonância Magnética

A ressonância magnética é uma técnica que permite a formação de imagens anatômicas através da detecção da magnetização dos *spins* de uma dada amostra em estudo, sob ação de um campo magnético e de um pulso radiofrequência (RF).

Felix Bloch [19][20] e Edward Purcell [20] são hoje recordados como os autores da descoberta da ressonância magnética, no ano de 1946. Os seus trabalhos, independentes, dizem respeito ao fenómeno de ressonância magnética nuclear, constituindo o fundamento da atribuição do Prémio Nobel da Física aos mesmos, em 1952. A partir desse momento a técnica foi desenvolvida com a contribuição de muitos outros físicos de renome mundial.

3.1. Funcionamento da Ressonância Magnética

3.1.1. Princípios básicos

O ponto de partida na explicação do funcionamento da técnica de imagem por RM é o núcleo do átomo de hidrogénio (que é o mais utilizado) em virtude de possuir número ímpar de prótons; do sinal magnético por ele produzido ser comparativamente elevado e por ser constituinte da água, sendo portanto o átomo mais abundante no corpo humano [21–23].

O núcleo do átomo de hidrogénio é composto apenas por um próton que possui momento angular intrínseco ou *spin*. Este origina um momento magnético o que permite que o próton de hidrogénio possa ser visto como um pequeno dipolo magnético que precessa em torno de um eixo.

A frequência de precessão (ou de ressonância) também designada por frequência de Larmor, ω_0 , a que está sujeito o *spin*, é dependente da razão giromagnética e da intensidade do campo magnético externo aplicado, conforme evidencia a equação de Larmor:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad \text{Equação 3.1}$$

A constante giromagnética, γ , é uma propriedade característica do núcleo, assumindo o valor 42,58 MHz/T para o hidrogénio [22]. Tendo em consideração as ordens de grandeza dos parâmetros em questão, verifica-se que a frequência de Larmor para o hidrogénio corresponde à gama das radiofrequências no espectro electromagnético, tomando o valor de 64 MHz para um campo magnético de 1,5 Tesla (T).

Na ausência de um campo magnético externo, os *spins* nucleares de determinada amostra precessam de um modo aleatório com diferentes orientações, resultando numa magnetização total nula. Contrariamente, na presença de um campo magnético externo, B_0 , os *spins* nucleares tendem a alinhar-se na direcção do campo aplicado. O alinhamento pode ser paralelo (estado de energia mais baixa e *spin* $\frac{1}{2}$) ou anti-paralelo (estado de energia mais elevada e *spin* $-\frac{1}{2}$)[22][23] e o facto de existir uma pequena diferença de número de prótons entre ambos os estados energéticos permite que a magnetização total deixe de ser nula e passe a ter componente longitudinal detectável (ao longo do eixo de Z).

Quando um pulso de radiofrequência é aplicado sobre uma amostra, se este estiver na frequência de ressonância induz, através da criação de um campo magnético B_1

perpendicular a B_0 , alteração dos estados de energia dos prótons, passando estes do estado de energia mais baixo ao de energia mais elevado, processo designado por excitação. Na análise do vector de magnetização (M) verifica-se um aumento do ângulo com o eixo Z (Figura 3.1), com conseqüente diminuição da componente longitudinal e aparecimento simultâneo da componente transversal da magnetização (ao longo do plano XY) por alinhamento das fases dos *spins* [21–25]. Quando o pulso de excitação é de 90° , isto significa que a componente longitudinal anula-se e a componente transversal da magnetização é máxima.

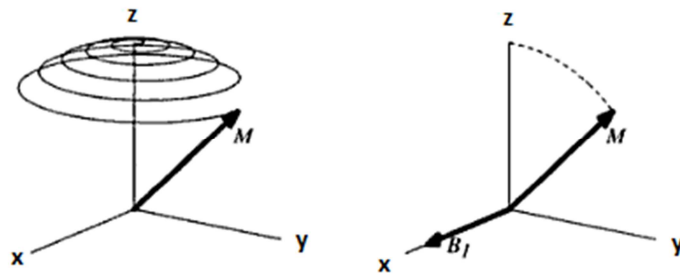


Figura 3.1: Aumento do ângulo de precessão do vector magnetização, sob acção de um pulso RF. Adaptado de [24].

Desta forma verifica-se que o vector magnetização apresenta duas componentes, uma longitudinal associada à diferença de número de *spins* no estado paralelo e anti-paralelo, e a componente transversal, associada à fase dos *spins*.

Assim que o pulso RF cessa, ocorre o processo de relaxação com a libertação de energia sob a forma de radiação electromagnética, onde se verifica a recuperação da componente longitudinal da magnetização por realinhamento dos *spins* no estado de menor energia, e o desfaseamento dos *spins* com o decaimento da componente transversal da magnetização.

A recuperação da componente longitudinal da magnetização que corresponde ao tempo de relaxação *spin*/rede é descrita por uma curva exponencial (Figura 3.2 A) de acordo com a Equação 3.2. A constante de tempo T_1 corresponde ao tempo que a magnetização longitudinal demora a recuperar 63% do seu valor máximo [21], [22], [25].

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad \text{Equação 3.2}$$

O desfaseamento dos *spins* e o conseqüente decaimento da componente transversal da magnetização (Figura 3.2 B) estão associados à constante de tempo T_2 (que corresponde ao

tempo necessário para o decaimento para 37% do seu valor máximo) e obedece igualmente a uma curva exponencial descrita pela Equação 3.3 [21], [22], [25].

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{Equação 3.3}$$

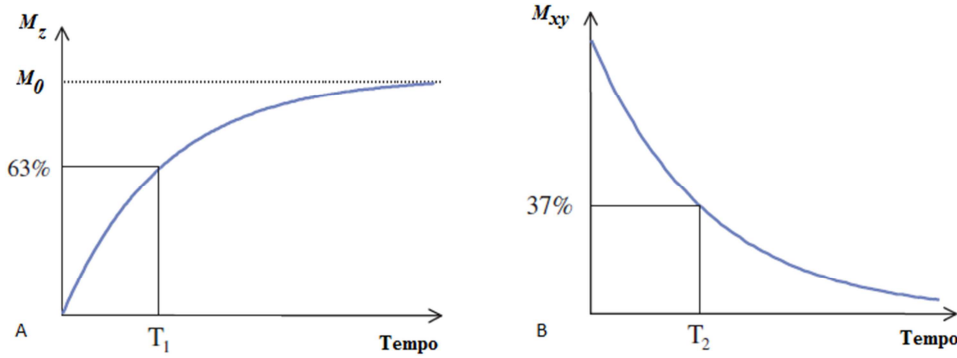


Figura 3.2: Representação gráfica do tempo de relaxação T_1 - A, e T_2 - B após pulso de RF de 90 . Adaptado de [25].

Como o campo magnético estático está sujeito a heterogeneidades no espaço, que contribuem também para o decaimento da magnetização transversal *spin/spin*, surge uma constante de tempo T_2^* , que exprime a influência das heterogeneidades do campo e cuja relação entre T_2^* e T_2 , é evidenciada na Equação 3.4.

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2\text{heterogeneidade}}} \quad \text{Equação 3.4}$$

Durante o processo de relaxação há uma corrente induzida nas bobinas que gera um sinal, designado *Free Induction Decay*, de acordo com o acrónimo inglês FID. O sinal ou FID consiste numa onda sinusoidal, resultante da análise da corrente em função do tempo, que decai conforme a constante de tempo T_2 , se o campo magnético for homogéneo, ou T_2^* , se o campo magnético for heterogéneo [21–23] (Figura 3.3).

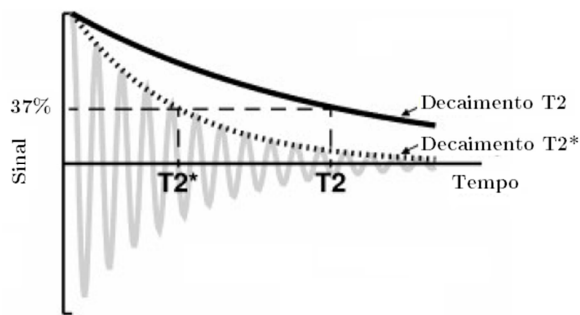


Figura 3.3: Decaimento de T_2^* e T_2 . Adaptado de [22].

3.1.2. Sequências de pulso

Existem várias sequências básicas que conjugam diferentes gradientes e pulsos de radiofrequência, tendo em consideração as propriedades intrínsecas dos tecidos, de modo a obter o contraste necessário, minimizando a ocorrência de artefactos.

A sequência de eco de *spin*, SE^6 , é caracterizada por dois géneros de pulsos (Figura 3.4). O primeiro é um pulso de excitação de 90° ao vector da magnetização longitudinal. O segundo consiste num pulso que aplica uma rotação de 180° ao vector da magnetização transversal, invertendo-o e obrigando a que os vectores voltem a estar em fase. O decaimento do sinal é caracterizado pela constante de tempo T_2 , devido às interacções *spin/spin* [22].

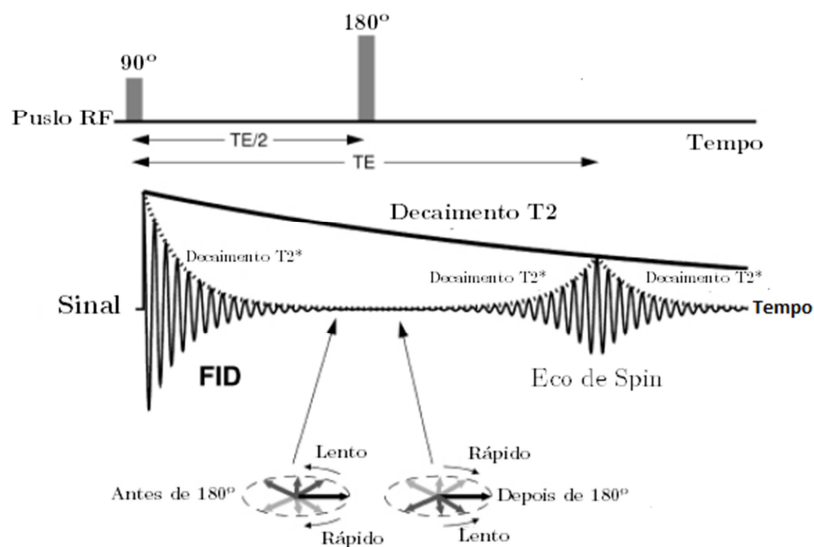


Figura 3.4: Sequência Eco de *Spin*. Adaptado de [22].

⁶ Do Inglês, *Spin-Echo*.

O tempo entre o pulso de 90° e o máximo de amplitude do eco é designado de Tempo de Eco, ou TE, e o tempo entre dois pulsos consecutivos de 90° é designado de Tempo de Repetição ou TR. O TR tem elevada importância uma vez que é este parâmetro que dicta a frequência de excitação de determinado tecido.

A sequência eco de gradiente, GRE⁷, consiste na aplicação de um pulso de radiofrequência com *flip angle* (α) menor ou igual a 90° , tendo como consequência uma diminuição do vector de magnetização transversal e portanto uma mais rápida recuperação da componente longitudinal. É o facto de haver inversão de gradiente (através da aplicação de gradiente com porção positiva e negativa) que nesta seqência permite a formação de eco. Realça-se que a ausência do pulso de 180° na sequência GRE, implica que a constante TR seja consideravelmente menor que o TR das sequências SE, permitindo reduzir o tempo de aquisição das imagens (Figura 3.5) [22], [23].

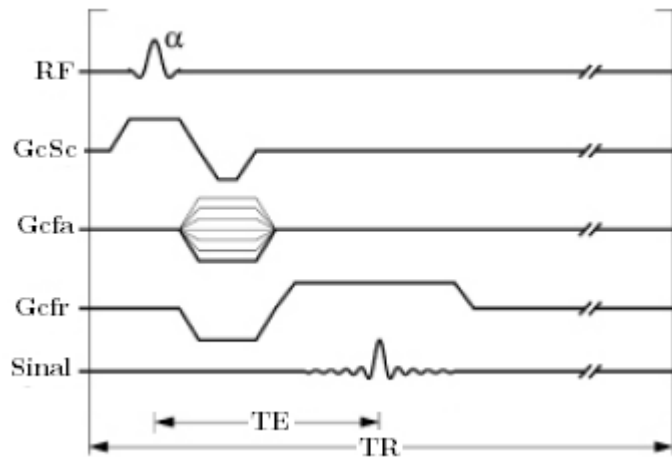


Figura 3.5: Diagrama temporal para a sequência de pulso Eco de Gradiente. Adaptado de [22].

3.1.3. Localização espacial

O processo de localização espacial dos *spins* recorre ao uso de três bobinas de gradientes, designadas por G_x , G_y e G_z , aplicadas ao longo dos três eixos X, Y e Z do sistema de coordenadas Cartesiano e em diferentes instantes, alterando o campo magnético de uma forma linear. A unidade de grandeza do gradiente pode ser representada em miliTesla por metro (mT/m) ou Gauss por centímetro (G/cm), sendo que um Tesla equivale a 10 000 Gauss.

⁷ Do inglês, *Gradient Echo*.

A localização espacial é conseguida através da conjugação de três processos: selecção de corte, $G_{c_{sc}}$, codificação de fase, $G_{c_{fa}}$, e codificação de frequência, $G_{c_{fr}}$, aplicados sobre os eixos Z, Y e X, repectivamente [22].

No primeiro processo (a selecção de corte $G_{c_{sc}}$) aplica-se um gradiente de campo magnético sobre uma amostra na direcção Z (Figura 3.6 A), obrigando os *spins* dos diferentes planos da amostra a precessar a diferentes frequências. Ao ser aplicado um pulso de radiofrequência com a mesma frequência de ressonância dos *spins* do plano desejado, conseguem-se excitar apenas os prótons constituintes deste plano [22].

A codificação em fase ($G_{c_{fa}}$) tem por base a aplicação de um gradiente de campo magnético na direcção do eixo Y (Figura 3.6 B), do plano escolhido. O gradiente vai gerar diferentes frequências de precessão no plano, originando a desfasagem dos *spins*. Após a aplicação do gradiente, a frequência de precessão é igual para todo o plano escolhido, estando no entanto os *spins* desfasados [22].

A codificação de frequência ($G_{c_{fr}}$) obtém-se aplicando um gradiente de campo magnético ao longo do eixo X (Figura 3.6 C), implicando uma variação linear da frequência de precessão ao longo de um plano perpendicular à codificação de fase [22].

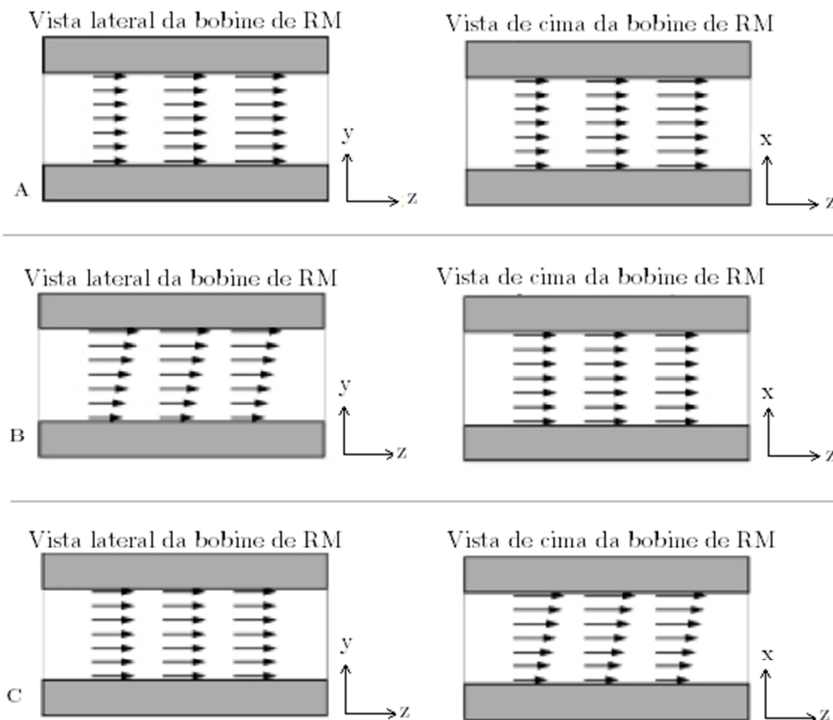


Figura 3.6: Variações espaciais do campo magnético, quando aplicados a gradientes lineares sobre os três eixos. A – Selecção de Corte, B – Codificação em fase e C – codificação de frequência. Adaptado de [22].

3.1.4. Formação da Imagem de RM

O sinal de ressonância magnética obtido é constituído por um conjunto de ondas de radiofrequência de diferentes amplitude, frequência e fase. Para que o sinal resulte numa imagem anatómica, é primeiramente convertido numa matriz de dados, o designado espaço-k, e posteriormente é-lhe aplicada a Transformada Fourier 2D inversa (Figura 3.7) [22].

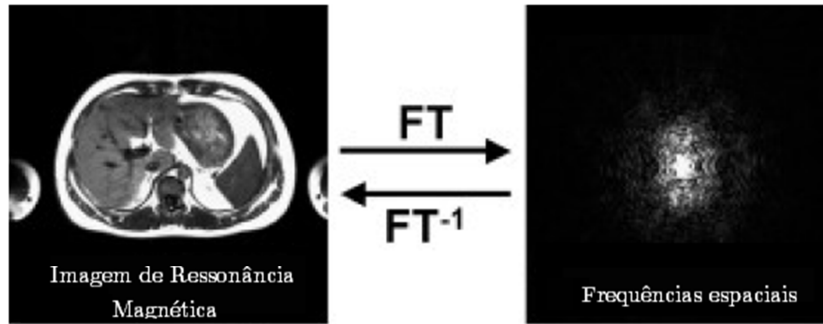


Figura 3.7: Conversão de uma imagem anatómica no espaço-k, e processo inverso. Adaptado de [22].

A Transformada de Fourier procede à transformação de sinais do domínio tempo para o domínio das frequências (agora designadas por frequências espaciais), através da representação das funções numa soma de ondas sinusóidais com diferentes amplitudes, frequências e fases [22], [23]. Assim, a Transformada de Fourier consiste no espectro de frequências espaciais contidas na imagem.

O espaço k é um espaço de memória temporário, que contém toda a informação relativa às frequências espaciais de determinado sinal. A informação é armazenada numa matriz de coordenada k_x e k_y , sendo que a posição na matriz depende da intensidade e duração do gradiente de campo magnético aplicado. A informação contida perto da zona central do espaço k corresponde às baixas frequências espaciais, que resultam no contraste e forma do objecto em estudo, enquanto que a informação contida na zona periférica do espaço k, corresponde às altas frequências espaciais dando origem ao detalhe e contornos da imagem [22]. O modo de preenchimento do espaço k apresenta variadas formas, desde a forma Cartesiana, cêntrica, espiral ou eco planar [21].

As novas técnicas de aquisição de imagem têm vindo a permitir a obtenção de imagens de um modo cada vez mais rápido, na ordem dos segundos ou poucos minutos [22], [26].

A sequência *Fast Spin Echo*, FSE⁸, é a denominação dada á técnica rápida de aquisição de imagem através da sequência eco de *spin*. Esta técnica foi desenvolvida tentando reduzir o elevado tempo de aquisição das sequências eco de *spin*, e como alternativa às sequência GRE (devido à susceptibilidade da sequência gradiente de eco em relação às heterogeneidades do campo) [23].

Um diagrama temporal característico desta técnica FSE apresenta um pulso de excitação de 90° , seguido da aplicação de múltiplos pulsos de radiofrequência de 180° , gerando tantos ecos quanto os pulsos aplicados. Dado que um único pulso de excitação permite obter inúmeros ecos, o tempo de aquisição desta técnica é bastante mais reduzido que o da sequência eco de *spin* normal.

A técnica EPI⁹ (imagem eco planar) recorre apenas a um pulso de radiofrequência para a amostragem do espaço k, sendo bastante utilizada em ressonância magnética funcional [22], [26]. Foi primeiramente introduzida por Mansfield e Pykett em 1978 [27]. A aplicação de um conjunto específico de gradientes de codificação de fase (G_{cfa}) e frequência (G_{cfr}), permite a cobertura rápida do espaço. A Figura 3.8 ilustra a trajectória de preenchimento do espaço k segundo o método de aquisição EPI aplicado à sequência gradiente de eco [26].

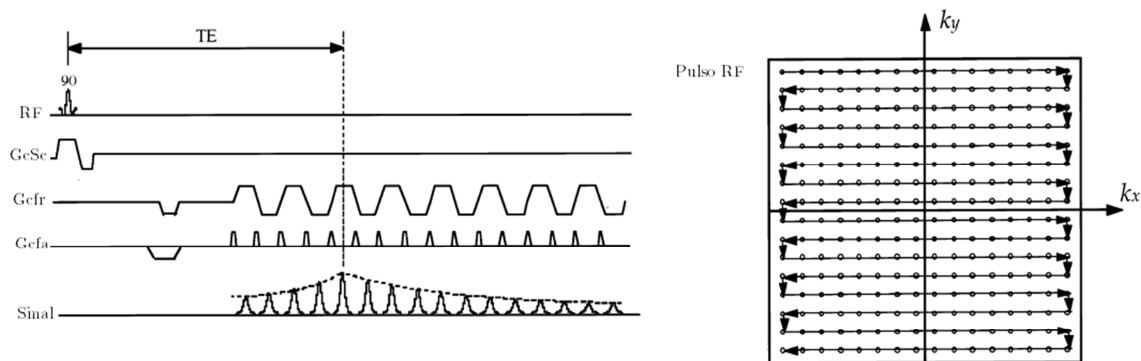


Figura 3.8: Sequência Eco de Gradiente e respectiva trajectória no espaço k pelo método de aquisição EPI. Adaptado de [26].

Apesar do método EPI ser bastante rápido, apresenta como desvantagem uma limitada resolução espacial [22], [26].

⁸ Do Inglês, *Fast Spin Echo*.

⁹ Do inglês *Echo Planar Imaging*.

3.1.5. Contraste e ponderações

O contraste intrínseco nas imagens de ressonância magnética está dependente da forma de aquisição destas. Define-se contraste, como a diferença de intensidade de sinal obtido entre os vários tecidos estudados. Cada tecido apresenta tempos de relaxação T_1 e T_2 e diferentes densidades protónicas que lhe são característicos [22]. Na Tabela 3.1 são apresentados alguns valores típicos de T_1 e T_2 , para vários tecidos.

Tabela 3.1: Valores típicos de T_1 e T_2 , para um campo magnético de 1,5 T. Adaptado de [21] (os valores com *) e [22].

	Água	Tecido adiposo	Músculo
T1 (ms)	3000*	240*	870
T2 (ms)	3000*	85*	50

O contraste das imagens com diferentes ponderações em T_1 , T_2 , ou densidade protónica, depende dos parâmetros TR e TE aplicados.

Tradicionalmente, uma imagem ponderada em T_1 obtém-se com TR e TE curtos. Ou seja, esta ponderação consiste na maximização da contribuição por parte da relaxação T_1 , e conseqüentemente na minimização da contribuição de relaxação T_2 , o que se verifica quando o TE e TR são curtos [22].

A ponderação em densidade protónica caracteriza-se por um TR longo e TE curto. Deste modo, conseguem-se reduzir as diferenças em T_1 e T_2 , aplicando um TR mais longo do que o necessário para a ponderação em T_1 , e um TE curto [22].

Imagens ponderadas em T_2 apresentam ambos TR e TE longos. Deste modo, para valores de TE longos, os tecidos que apresentam T_2 longo apresentam-se com maior intensidade de sinal que aqueles de T_2 curto, logo vêem-se melhor [22]. A Figura 3.9 apresenta imagens ponderadas em T_1 , Densidade Protónica e T_2 , adquiridas durante o projecto na qual se insere a presente dissertação.

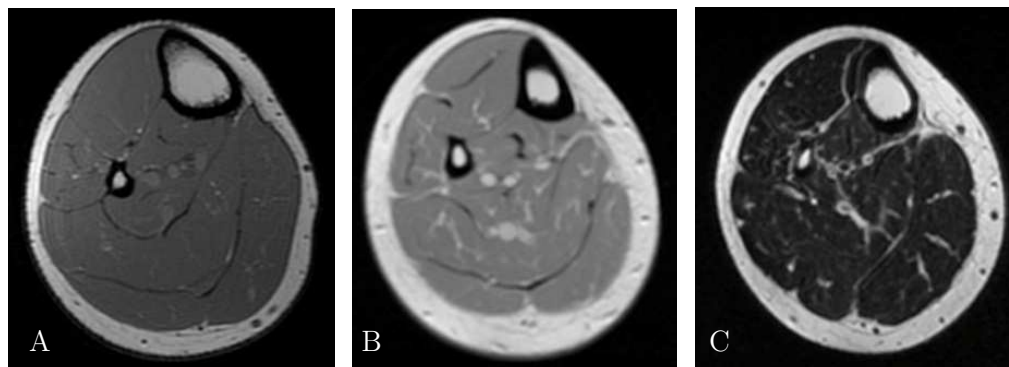


Figura 3.9: Contraste em imagem de ressonância magnética. A - ponderação em T_1 , B - Densidade Protónica, C - ponderação em T_2 . Imagens adquiridas durante a dissertação.

3.1.6. Parâmetros da imagem

As imagens obtidas por ressonância magnética são constituídas por uma grelha bidimensional de inúmeros pixels de diferentes intensidades. O voxel é a estrutura tridimensional do pixel associando-lhe uma terceira dimensão, a espessura de corte.

A matriz de aquisição e o FOV¹⁰ são parâmetros que caracterizam a imagem. A matriz de aquisição designa o conjunto de voxels na direcção de codificação de fase e de frequência e portanto determina a resolução espacial da imagem. Quanto menor o pixel maior a resolução da imagem. O FOV consiste na área que contém o objecto de interesse a estudar e portanto define o tamanho da codificação espacial bidimensional ou tridimensional. Quanto menor a dimensão do FOV, maior a resolução espacial. Assim, a resolução depende da espessura de corte, do parâmetro FOV e da dimensão da matriz [28].

Um outro aspecto importante a considerar é a noção de volume espacial [28]. Consideremos um voxel de elevado volume, que é atravessado por diferentes tecidos e estruturas. Uma vez que o valor de intensidade de sinal de um voxel corresponde à média das intensidades de sinal das estruturas nele contidas, o voxel de elevado volume terá uma intensidade de sinal correspondente à média das intensidades de sinal de todos os tecidos no seu interior. Ou seja, quanto maior o voxel menor a resolução de contraste, como se exemplifica na perda de nitidez da Figura 3.10 D. Este efeito sobre a imagem é designado por efeito de volume parcial.

¹⁰ Do Inglês, *Field Of View*.

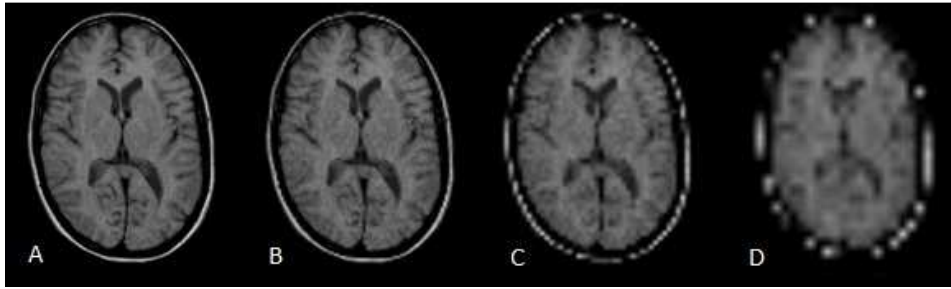


Figura 3.10: Efeito de volume parcial em função da resolução espacial. A - Matriz 256x256, B - Matriz 128x128, C - Matriz 64x64 e D - Matriz 32x32. Adaptado de [28].

4. Ressonância Magnética Funcional

A ressonância magnética funcional é uma técnica cada vez mais requerida e utilizada na área da Imagiologia médica. Inicialmente, esta técnica notabilizou-se por permitir o mapeamento da função cerebral, ou seja, por destacar nas imagens do parênquima cerebral as regiões activas das inactivas, durante a realização de determinada tarefa. Actualmente, é possível aplicar esta técnica também ao sistema muscular, designando-se então por mfMRI¹¹. Esta técnica funcional consiste na aquisição de imagens anatómicas de referência do músculo e na avaliação do diferente grau de activação muscular na execução de uma actividade [6].

Desde os trabalhos apresentados por Ogawa et al [4], a designação de ressonância funcional fMRI, está preferencialmente ligada à técnica BOLD [21], embora as técnicas de angio-ressonância e perfusão, difusão e espectrometria por ressonância também sejam consideradas técnicas funcionais.

¹¹ Do inglês, *muscle functional Magnetic Resonance Imaging*

4.1. BOLD

A técnica BOLD resulta do efeito magnético da desoxi-hemoglobina que funciona como agente de contraste endógeno. O facto da oxi-hemoglobina (HbO_2) apresentar propriedades diamagnéticas e a desoxi-hemoglobina (Hb) propriedades paramagnéticas [1], faz com que os diferentes níveis de oxigenação do sangue apresentem diferentes níveis de sinal [2] gerando desta forma contraste sob a forma do efeito BOLD.

A susceptibilidade magnética de uma substância é a medida da capacidade que essa substância tem para provocar modificações num campo magnético a que está submetida.

Quando o sangue se encontra desoxigenado e sob a acção de um campo magnético, condiciona distorção dos gradientes de campo, não só nos vasos sanguíneos como na sua vizinhança, induzidos pelas propriedades paramagnéticas da desoxi-hemoglobina (Figura 4.1) [2].

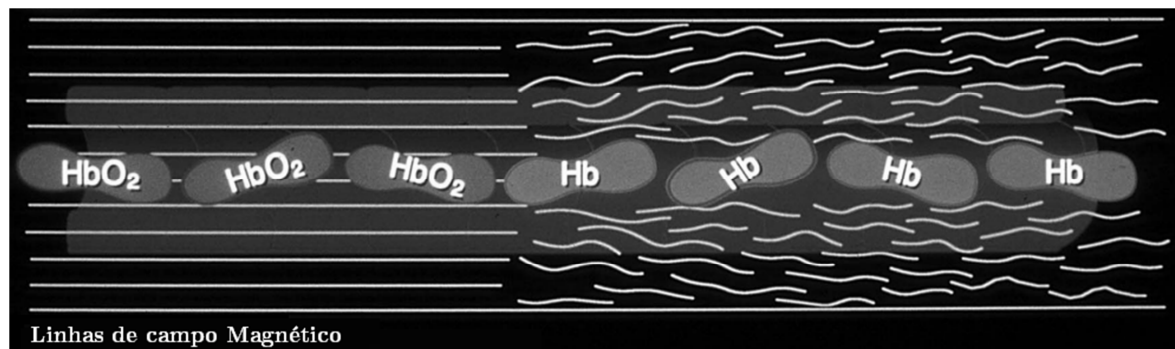


Figura 4.1: Efeito da susceptibilidade magnética da desoxi-hemoglobina sob acção do campo magnético. Adaptado de [29].

Esta distorção do campo magnético pelo sangue desoxigenado conduz à perda de magnetização $spin/spin$ por rápido decaimento T_2^* nos tecidos e portanto a uma perda mais rápida de sinal [30].

Embora nos estudos experimentais iniciais os vasos com sangue venoso apresentassem menor sinal [2], nos estudos posteriores com activação [12][31], verificou-se que aquando da estimulação neuronal existe um aumento muito mais acentuado do fluxo sanguíneo que do consumo celular de oxigénio, resultando numa diminuição da fracção de extracção de oxigénio pelas células. Por este motivo, o sangue venoso após estimulação neuro-muscular apresenta-se paradoxalmente mais oxigenado e com menos desoxi-hemoglobina, o que

condiciona um aumento ligeiro do sinal de ressonância. Para além disso, foi determinado que o aumento do volume sanguíneo, é um também um factor (Figura 4.2) [12].

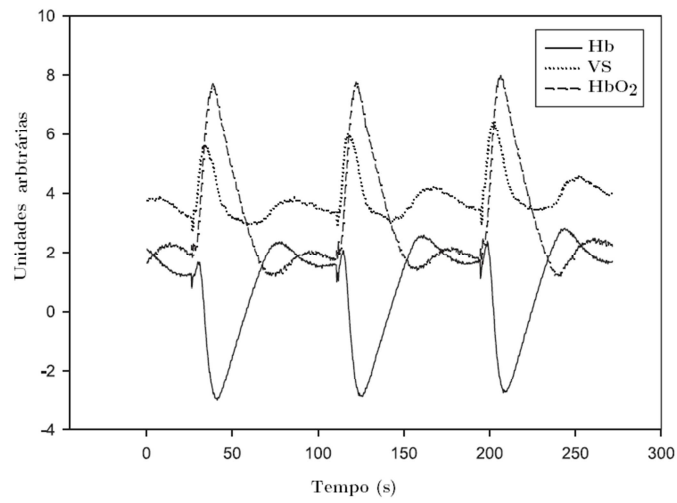


Figura 4.2: Variações de volume sanguíneo (VS), Hemoglobina (HbO₂) e Desoxi-hemoglobina (Hb) durante uma sequência de 1s de contração espaçada em intervalos de 80s, medidos por NIRS¹². Adaptado de [12].

A Figura 4.3 e o esquema da Figura 4.4, permitem compreender o comportamento temporal e resumem a evolução dos fenómenos hemodinâmicos que ocorrem com a activação neuromuscular.

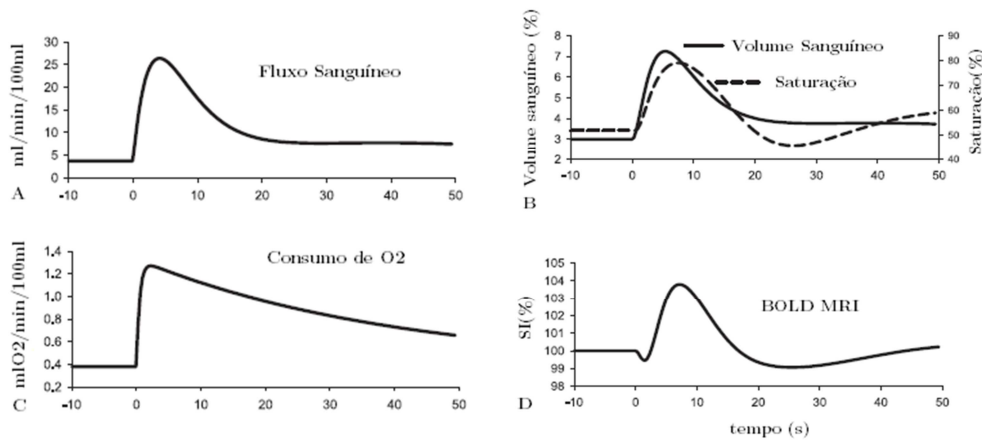


Figura 4.3: Modelo Dinâmico da resposta do Fluxo sanguíneo (A), Volume sanguíneo e Saturação (B), Consumo de O₂ (C) e Sinal BOLD (D). Adaptado de [12].

¹² Do Inglês, Near Infrared Spectroscopy

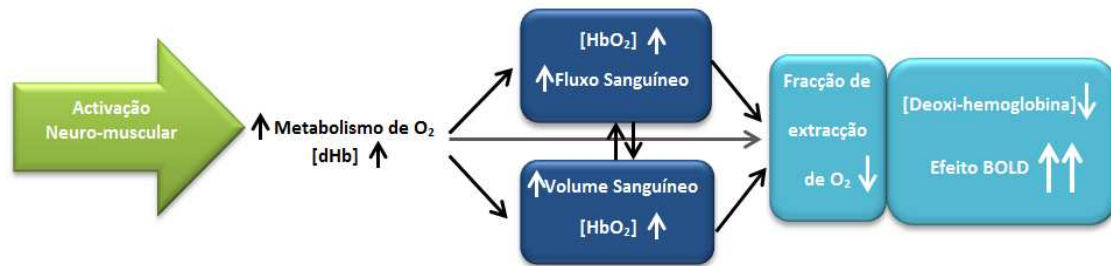


Figura 4.4: Factores Hemodinâmicos que condicionam o efeito BOLD. Adaptado de [32].

A diminuição da fracção de extracção de oxigénio com a activação, é portanto considerada a causa primária do efeito BOLD [33].

Os pixels que apresentam esta variação de sinal através do efeito BOLD, podem ser codificados a cor sobre uma imagem anatómica de referência, indicando desta forma as áreas activadas pelo estímulo [33].

As sequências eco de gradiente por serem muito sensíveis às variações de susceptibilidade magnética são as sequências mais usadas nos estudos com a técnica BOLD. As sequências eco de *spin* não são geralmente utilizadas para este efeito porque o sinal BOLD é bastante mais atenuado [30].

4.1.1. Comportamento do sinal em função do tempo

O estudo do comportamento do sinal BOLD em função do tempo tem sido alvo de grande interesse por parte dos grupos de investigação nesta área.

Um estudo envolvendo paradigmas de isquémia/hiperemia [34], evidenciou um padrão característico de comportamento do sinal T_2^* em função do tempo, nas medições de BOLD sobre os músculos solear e gêmeos, para intensidade de campo magnético de 1,5 e 3T. Este padrão foi mais acentuado em campo magnéticos de maior intensidade (Figura 4.5).

Foram identificadas três fases distintas: a linha de base¹³ do sinal, obtida durante os primeiros 60 segundos em repouso; a fase de isquémia onde se procedeu à oclusão do sangue no membro inferior, verificando-se um decréscimo de sinal T_2^* e a fase de hiperemia, onde a

¹³ Tradução de *Baseline*.

ocusão cessa e há um pico máximo de sinal T_2^* seguido de um decréscimo de sinal, com retorno deste ao valor da linha de base (Figura 4.5) [34].

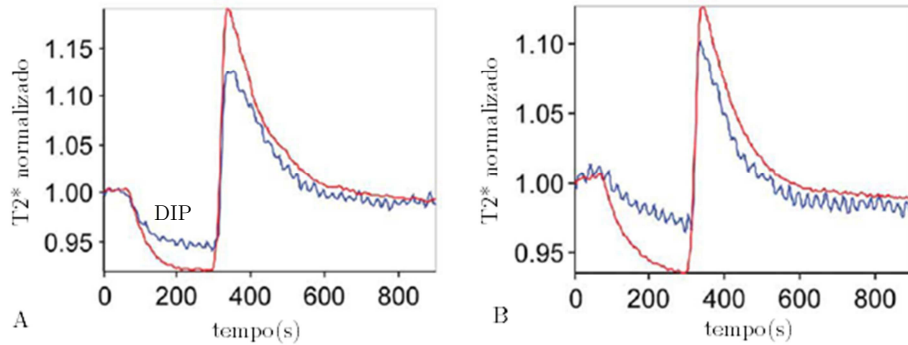


Figura 4.5: Comportamento de sinal T_2^* em função do tempo, para os músculos Solear (A) e Gémeos (B), quando o campo magnético aplicado foi de 1,5T (curva a azul) e 3T (curva a vermelho). Adaptado de [34].

A Figura 4.6, ilustra o facto já atrás mencionado que o sinal BOLD aumenta com o aumento da intensidade dos campos magnéticos (tal como os artefactos).

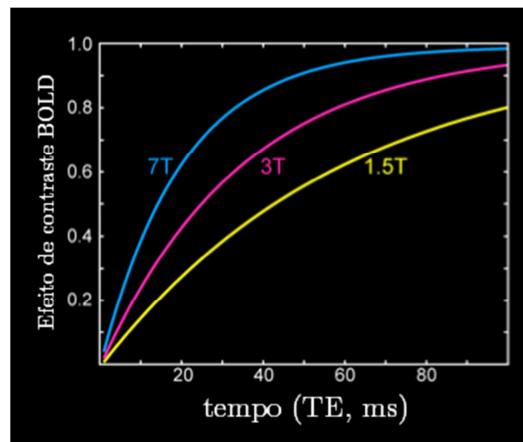


Figura 4.6: Aumento do sinal BOLD com a variação da intensidade dos campos magnéticos. Adaptado de [32].

Contudo, a resposta de sinal BOLD está dependente do paradigma usado, podendo verificar-se um pequeno *dip* inicial antes da fase de aumento de sinal (Figura 4.5), ou uma fase de inversão transitória do sinal (*undershoot*) com posterior retorno ao nível da linha de base (Figura 4.7).

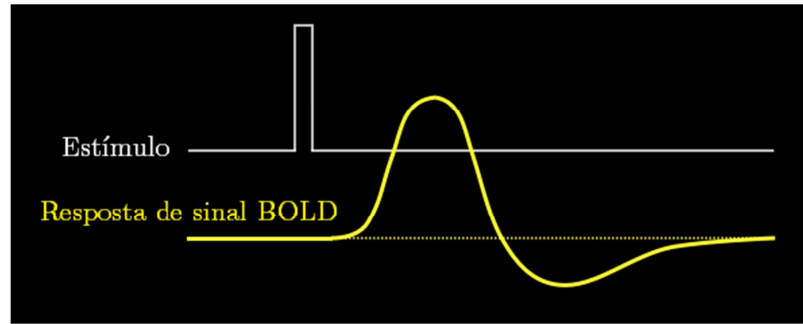


Figura 4.7: Modelo representativo da evolução do sinal BOLD após estímulo. Adaptado de [32].

Ainda, com o intuito de compreender o comportamento do efeito BOLD resultante da activação muscular, o grupo de investigação de Hening et al., propôs um estudo usando paradigmas de activação muscular repetida, pelo exercício [10]. Um aumento de intensidade de sinal foi observado maioritariamente para o músculo solear durante todos os períodos de activação muscular da perna, seguido do decaimento do sinal, nas fases pós-exercício. A resposta ao exercício não foi tão evidente nos músculos anteriores da perna ou na perna que se manteve em repouso (Figura 4.8).

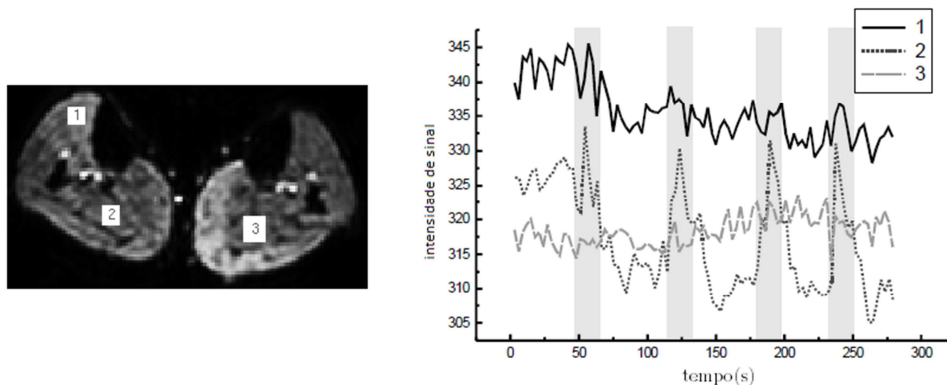


Figura 4.8: Comportamento de sinal BOLD em função do tempo e da activação muscular (zonas sombreadas) para os músculos anteriores da perna (1), Solear (2) e perna em repouso (3). Adaptado de [10].

Nesse mesmo estudo foi igualmente analisada a resposta do sinal BOLD, em função da activação muscular alternada da perna direita e da perna esquerda, observando-se o correspondente aumento de sinal na perna que efectuou o exercício (Figura 4.9).

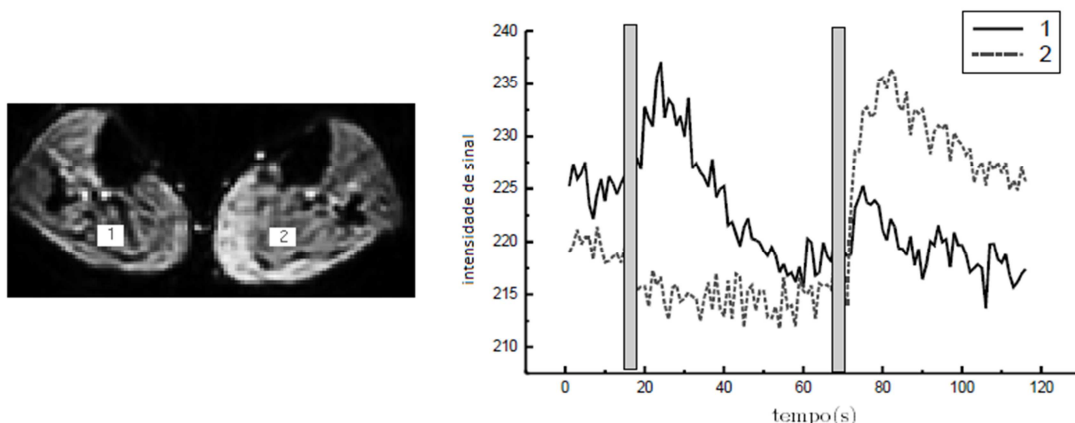


Figura 4.9: Comportamento de sinal BOLD em função da activação muscular (zonas sombreadas) alternada da perna direita (1) e da perna esquerda (2). Adaptado de [10].

Deste modo, é expectável um aumento de intensidade de sinal BOLD com a activação muscular, sendo a activação dependente do tipo de exercício executado.

Este estudos, entre outros, comprovam que existe uma correlação reproduzível, entre a activação muscular e o comportamento do sinal BOLD.

4.2. Ressonância Magnética Funcional no desporto

O facto da técnica BOLD de ressonância magnética funcional ser uma técnica inteiramente não invasiva [7] e não recorrer ao uso de radiação ionizante, tem despertado o interesse de investigadores de variadas áreas, nomeadamente os ligados ao desporto.

A aquisição de imagens de ressonância magnética funcional aplicada aos músculos permite avaliar alterações fisiológicas e tomar conhecimento do envolvimento dos diferentes músculos recrutados durante determinada actividade física [6].

O estudo realizado por Fleckenstein et al., em 1988, com T_2 , demonstrou que a execução de exercício físico induz alterações na intensidade de sinal, sendo útil para a identificação individual dos músculos [35].

4.3. Difusão

A técnica de difusão em ressonância magnética consiste na obtenção de imagens com base nas diferentes características de mobilidade das moléculas de água nos tecidos biológicos, fornecendo dados e informações úteis na caracterização da sua composição, estrutura e organização [36] [37]. Esta técnica é obtida de modo não invasivo, *in vivo* e aproveitando o contraste natural obtido pelas diferenças de difusão das moléculas de água, não requerendo desta forma o uso de agentes de contraste exógenos [38].

A existência de macromoléculas, a organização das fibras, membranas e outros constituintes dos tecidos, condicionam o movimento das moléculas da água, o qual se faz através do processo físico da difusão. Assim, os padrões de difusão revelam detalhes microscópicos sobre a estrutura do tecido sendo possível aferir sobre o seu estado normal ou patológico. A difusão diz-se isotrópica ou anisotrópica, se o movimento das moléculas é livre ou condicionado a certas direcções, respectivamente [37].

Esta técnica apresenta duas variantes de aplicação, a imagem ponderada em difusão (DWI¹⁴) e o tensor de difusão (DTI¹⁵). A imagem ponderada em difusão realça as diferenças de movimentação da moléculas de água, independentemente da direcção do deslocamento tomado, enquanto que o tensor de difusão dá ênfase à direcção do movimento de difusão pela determinação do vector do tensor de difusão. Através do tensor de difusão, é desta forma possível ter noção da orientação da difusão e por conseguinte da orientação e organização das microestruturas dos tecidos em estudo.

O mapeamento do processo de difusão de moléculas de água permite a obtenção de medidas quantitativas da taxa difusão para cada voxel e da direcção do movimento de moléculas de água, descrito vectorialmente em três dimensões espaciais. Na realidade mede-se o coeficiente de difusão aparente, ADC¹⁶.

¹⁴ Do inglês, *Diffusion Weighted Imaging*.

¹⁵ Do inglês, *Diffusion Tensor Imaging*.

¹⁶ Do inglês, *Apparent Diffusion Coefficient*.

5. Métodos Experimentais

5.1. Caracterização da amostra de voluntários

Neste estudo participaram sete voluntários, seis do sexo feminino e um do sexo masculino, com idade média de 26 e uma variação de ± 6 anos, peso médio de 62 e variação de ± 8 Kg (Tabela B. 1 do anexo B), todos eles saudáveis, sem antecedentes patológicos e com prática desportiva regular. Todos os voluntários foram previamente informados sobre as condições de participação neste estudo e inscritos na Clínica de Ressonância Magnética de Caselas.

5.2. Fases da aquisição de imagens

Todas as imagens foram adquiridas durante o desenvolvimento da presente dissertação, com o apoio e colaboração dos profissionais médicos e técnicos da Clínica de Ressonância Magnética de Caselas e conjuntamente com os colegas do grupo de investigação.

As imagens foram adquiridas num equipamento de ressonância magnética *General Electrics*, modelo *Signa HDxt*, de 1,5T.

A aquisição das imagens foi feita ao longo de três meses, num total de catorze sessões, sete para aquisições BOLD e T_2 e outras sete para DTI, geralmente à mesma hora do dia. Idealmente, as imagens de BOLD, T_2 e DTI deveriam ser adquiridas imediatamente antes e após o exercício, em sessões individuais, porque a recuperação do músculo é rápida (segundos). No entanto, tal não foi possível ser realizado, tendo sido condensadas as aquisições BOLD e T_2 na mesma sessão, dando preferência à técnica BOLD que foi adquirida imediatamente após o exercício cessar. A técnica DTI não foi acoplada à T_2 por ser mais longa que a BOLD.

As diferentes sequências e parâmetros de aquisição das imagens obtidas, são apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1: Parâmetros e Sequências utilizadas nas diferentes aquisições.

	Sequência	TE (ms)	TR (ms)	Matriz aquisição	FOV (mm)	Espess. Corte (mm)	Nº cortes	Volumes temporais
DP	FSE	7,6	4140,0	256x256	250	3,9	54	1
T_2	FSE	105,8	2000,0	256x256	250	3,9	54	1
BOLD	EPI-GE	35,0	3622,0	64x64	250	3,9	54	60
DTI	EPI-SE	76,1	10 000,0	64x64	250	3,9	56	1

Todos os exames de ressonância magnética foram adquiridos em duas fases, uma pré e a outra pós-exercício. A fase pré-exercício iniciou-se com a aquisição de imagens ponderadas em T_2 , seguida das imagens anatómicas de Densidade Protónica, e imagens funcionais BOLD, enquanto que a fase pós-exercício iniciou-se pela aquisição das imagens BOLD, seguida pelas imagens ponderadas em T_2 e finalmente as de Densidade Protónica. No anexo C são apresentados os tempos de início de cada sessão de aquisição de imagens BOLD, T_2 e DP, para cada voluntário. Em relação à duração das sequências, a DP demorou 6 minutos, a T_2 5min05s e a BOLD 3min48s. Realça-se ainda, que as aquisições BOLD foram deliberadamente efectuadas antes e imediatamente depois do exercício, devido à recuperação rápida dos músculos e ao rápido decaimento do sinal após a activação muscular. A aquisição

das imagens para cada uma das sequências, iniciou-se primeiro na metade superior da perna e depois na metade inferior.

Foi necessário recorrer ao uso de um suporte físico, feito de fibra de carbono e teflon, para garantir a adequada imobilização da perna e pé. Para além de efectuar a imobilização, este suporte permitia evitar a deformação dos músculos da perna, evitando o contacto directo desta com a mesa e assegurar que a posição da perna e pé era mantida igual nas fases pré e pós-exercício (Figura 5.1).

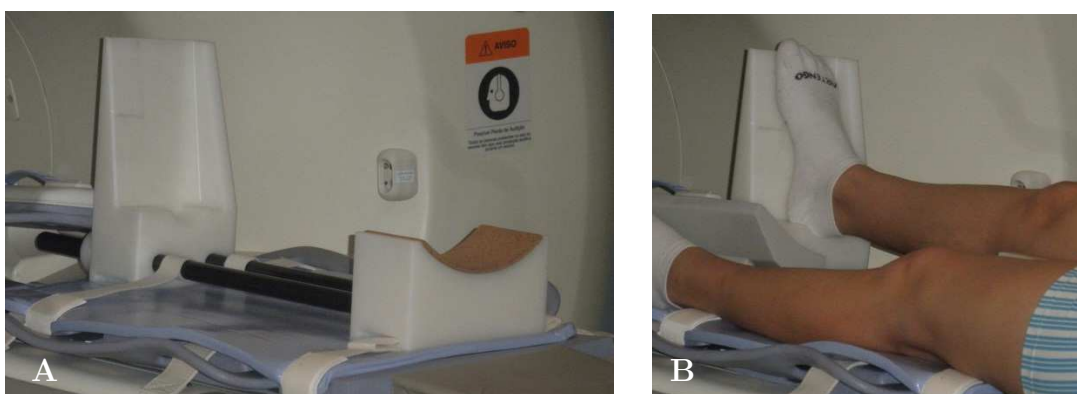


Figura 5.1: Suporte físico (A) utilizado para a imobilização da perna direita (B).

O joelho, perna e tornozelo foram envolvidos, superior e inferiormente, por bobines planas (Figura 5.2).

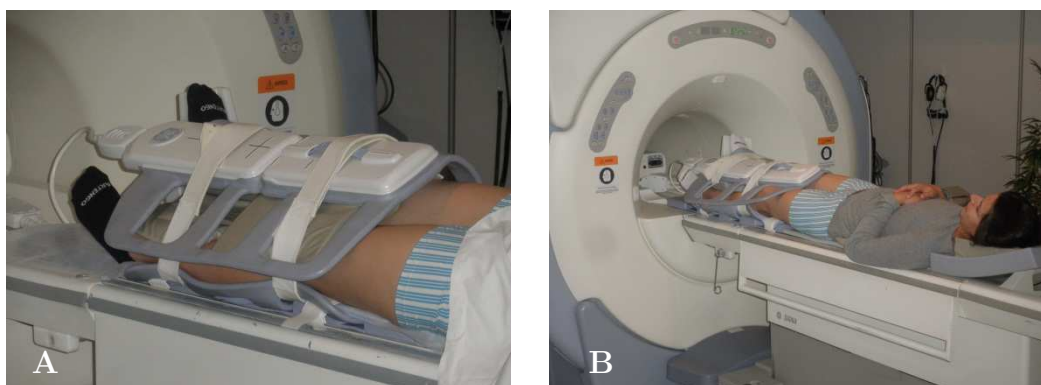


Figura 5.2: Perna direita imobilizada já com a colocação da bobine (A e B).

O paradigma de exercício utilizado neste estudo foi o salto unipedal, realizado em posição ortostática sobre a perna dominante dos voluntários. A perna direita foi a perna dominante

em todos, à exceção do voluntário nº 7. O salto foi realizado na própria sala do exame, ao lado do equipamento de ressonância e de uma forma padronizada (com as suas mãos nas ancas e o olhar fixo num mesmo ponto sobre a linha do horizonte).

O salto unipedal foi escolhido como paradigma simples de exercício, permitindo obter de forma rápida variações de intensidade de sinal, através da obtenção do estado de máxima exaustão muscular. Foi essencial garantir que o salto unipedal fosse executado por cada voluntário até ser atingido o nível de máxima exaustão muscular, avaliando os sete voluntários sob as mesmas condições e portanto de uma forma padronizada. A realização do salto unipedal implica o movimento de flexão plantar do pé.

O tempo de realização dos saltos diferiu entre os voluntários, dependendo da condição física de cada um e durou em média 1min30s. Após atingir a exaustão muscular máxima, o reposicionamento dos voluntários sobre a mesa da ressonância fez-se de forma rápida e imediata, garantindo o mesmo posicionamento nas fases pré e pós-exercício.

Entre a fase de repouso e a fase de aquisição de dados pós-exercício, embora o voluntário tenha saído e voltado a entrar no equipamento, não se procedeu a nenhuma alteração dos parâmetros técnicos do equipamento.

5.3. Processamento de Imagem

A abordagem inicialmente definida consistia no processamento das imagens através da correcção de movimento e co-registo, seguida da recolha de dados para análise. Contudo na fase de processamento de imagem foram detectados certos obstáculos que impediram o avanço da análise de dados pela abordagem inicial. Consequentemente, um novo procedimento foi criado, no qual de forma deliberada foi rejeitada a utilização de qualquer tipo de processamento de imagem, analisando-se as aquisições originais.

5.3.1. Correcção de Movimento e Co-registo

Geralmente, a correcção de movimento e o co-registo são etapas predominantes do processamento e análise de imagem [39],[40].

O movimento do voluntário durante a aquisição do exame pode ter efeitos indesejados, nomeadamente o aparecimento de artefactos nas imagens adquiridas, alterando o sinal obtido e os mapas de activação quando se trata de imagens funcionais [41].

O co-registo permite a associação de volumes de dados (de fases de aquisição ou sequências diferentes) possibilitando o alinhamento destes e maximização da similaridade entre si [41]. Deste modo, é possível a associação de volumes de dados da ressonância magnética funcional a outros volumes de dados, designados de referência. A referência, pode ter sido adquirida à priori ou posteriori, e ambos os volumes de dados devem ser relativos a um mesmo voluntário.

O propósito da correcção de movimento consiste no alinhamento de séries de imagens, através da aplicação de um ajuste de forma a minimizar ou remover artefactos presentes na imagem [40]. A correcção de movimento geralmente refere-se a correcções pequenas, na ordem dos milímetros [39][40], tais como translações ou rotações. Muitos algoritmos de correcção de movimento aplicam ajustes de corpo-rígido, assumindo que a estrutura examinada se mantém constante dentro dos limites externos rígidos e fixos, como os ossos da calote crâniana que delimitam a cabeça [40], podendo não ser tão eficazes quando a estrutura em estudo não satisfaz estas condições.

Os motivos pelos quais foi rejeitada a utilização do processamento de imagem serão explicados na secção 7, Resultados Experimentais.

5.3.2. Programa de processamento de imagens: FSL

O programa FSL [42] possui inúmeras ferramentas especializadas na análise e processamento de imagens cerebrais de ressonância magnética, ressonância magnética funcional e DTI, tendo sido desenvolvido em Oxford, UK por membros do *Analysis Group*.

A ferramenta de análise FEAT FMRI, é uma ferramenta concebida para a análise de dados de ressonância magnética funcional. Através da ferramenta FEAT é possível o processamento de dados funcionais contendo vários volumes temporais. A correcção de movimento (MCFLIRT) pode ser escolhida no menu FEAT, assim como o co-registo das imagens funcionais. MCFLIRT, acrónimo para *Motion Correction FMRI's Linear Image Registration Tool*, é uma ferramenta eficaz para a correcção de movimento e para o co-registo linear de imagens.

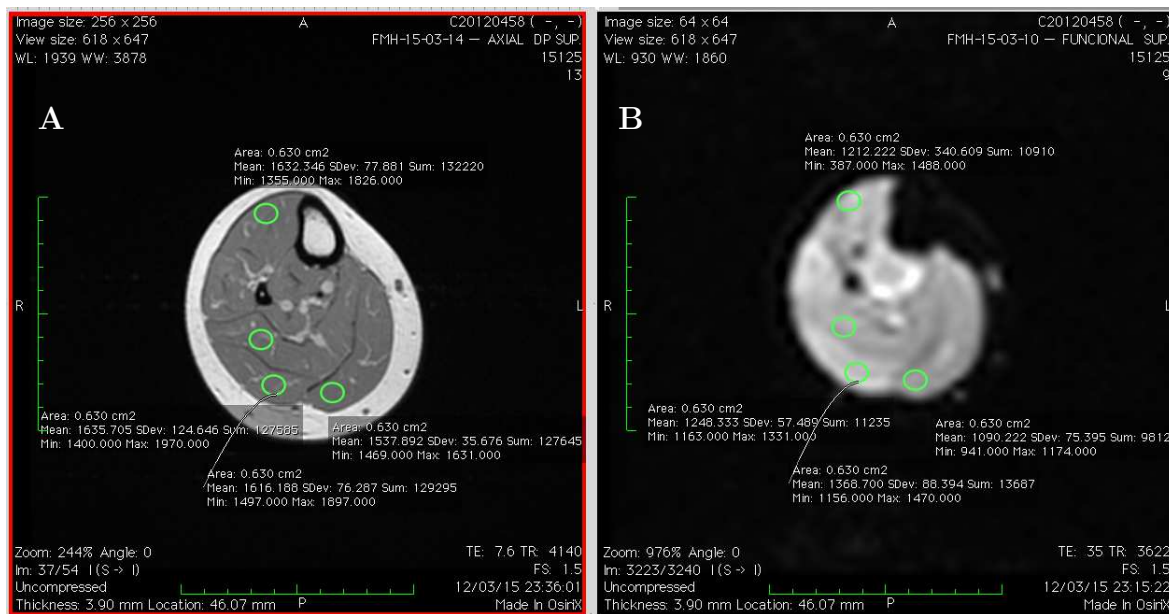
A conversão das imagens DICOM para nifti, formato lido pelo FSL, foi conseguida através do programa dcm2nii, e de nifti para DICOM utilizando o módulo Image Viewer do programa MedINRIA.

5.4. Marcação de Regiões de Interesse

A marcação dos ROIs¹⁷ foi feita sobre os músculos Tibial Anterior, Gêmeo Interno, Gêmeo Externo e Solear, de igual modo para todos os voluntários, utilizando uma ferramenta apropriada do programa OsiriX® [43].

Dos 54 cortes obtidos por cada aquisição BOLD, foram seleccionados 10 cortes da parte superior da perna para marcação dos ROIs. A selecção destes cortes foi feita de uma forma ascendente e alternada, a partir do corte mais inferior da aquisição superior, a qual abrange a parte mais volumosa do ventre muscular.

Por cada imagem axial, foram marcados quatro ROIs circulares idênticos (Figura 5.3) (cada um com uma área de 0,63 cm²), exceptuando-se os poucos casos em que a área dos músculos não o permitiu. A marcação dos ROIs foi feita manualmente e cuidadosamente, sempre pelo mesmo operador, tendo como referência as imagens anatómicas de Densidade Protónica e evitando a inclusão de vasos sanguíneos, tecido adiposo ou fáscias.



¹⁷ Do Inglês, *Region Of Interest*.

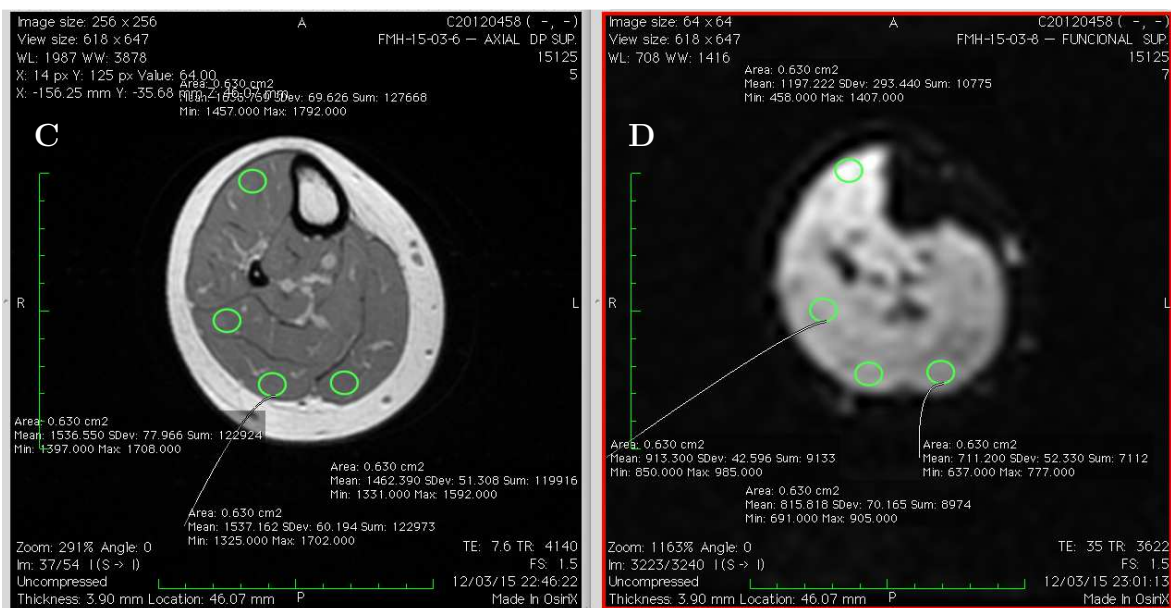


Figura 5.3: Marcação de ROIs sobre as imagens DP (A e C) e BOLD (B e D) do voluntário nº 4, nas fases pré (A e B) e pós-exercício (C e D) para o corte $z = 46,07$.

5.5. Análise do sinal BOLD

Para os 7 voluntários e em todos os 10 cortes seleccionados na parte superior da perna, foram registados os valores de intensidade sinal BOLD nos quatro ROIs marcados, para todos os 60 volumes temporais obtidos por aquisição BOLD.

A informação recolhida refere-se à intensidade média de sinal dos voxels contidos nessa área, sendo que em cada voxel, a intensidade de sinal está dependente do tempo de relaxação, da sequência utilizada e das estruturas e tecidos nele contidos.

Durante a marcação de ROIs houve um certo cuidado na escolha da correcta posição dos ROIs, pela convicção de que tal facto possa influenciar o sinal resultante. Um desses factores seria a inclusão de vasos sanguíneos, tecido adiposo ou fásCIAS que condicionariam variações acentuadas do sinal não dependentes do efeito BOLD no músculo.

O números de pixels presentes numa área de $0,63 \text{ cm}^2$ de ROI, para as aquisições DP e BOLD, são apresentados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2: Cálculo do número de pixels por área de ROI.

	Matriz aquisição	FOV (mm)	Dimensão do pixel (mm ²)	Área do ROI (mm ²)	Nº de pixels no ROI
DP	256x256	250	1	63	66
BOLD	64x64	250	15	63	4

5.6. Análise estatística

A análise estatística dos resultados obtidos permite demonstrar a veracidade ou falsidade das hipóteses colocadas sobre os dados, com base na teoria. Os dados adquiridos foram analisados no software SPSS (v.20, SPSS Inc., Chicado, IL, USA) permitindo retirar informação necessária à análise e discussão de resultados.

Os testes estatísticos dividem-se em duas categorias: os teste paramétricos e os não paramétricos. A diferença entre as categorias baseia-se nos requisitos: os testes paramétricos exigem que a variável dependente possua distribuição normal, sendo uma condição a garantir para as amostras de dimensão inferior ou igual a 30, enquanto que os testes não paramétricos aplicam-se a amostras de dimensão pequena que não possuam distribuição normal [44].

A aplicação do teste paramétrico teste t para amostras emparelhadas permite a comparação entre duas médias de duas amostras emparelhadas. O emparelhamento de amostras adequa-se ao presente estudo, uma vez que as amostras dizem respeito a duas fases de medição de sinal, pré e pós-exercício, para cada voluntário. Assim sendo, pretende-se verificar se as variações da fase pré para a pós-exercício são significativas e se a média da fase pós é superior à média da fase pré-exercício. Para o teste de apenas duas amostras emparelhadas, ao contrário do teste de amostras independentes, não é necessário assegurar a homocedasticidade das variâncias [45].

O intervalo de confiança utilizado nos testes estatísticos é de 95%, o que equivale a garantir com 95% de confiança que o valor verdadeiro do parâmetro está contido nesse intervalo. A partir do estabelecimento de um intervalo de confiança, um *p-value* é atribuído a cada resultado e consoante esse valor seja menor ou maior do que o nível de significância, $\alpha=5\%$,

a variação entre as amostras do par diz-se estatisticamente significativa ou não, respectivamente.

Dentro do “estatisticamente significativo” considera-se variação muito significativa se *p-value* $< 0,01$ e extremamente significativa se *p-value* $< 0,001$ [45]. O *p-value* define-se como a probabilidade de ser obtida uma estatística de teste igual ou mais extrema à observada quando se assume verdadeira a hipótese nula.

6. Resultados Experimentais

Após a visualização e processamento das imagens funcionais obtidas, os dados foram devidamente tratados e analisados. Sobre as imagens de BOLD, T_2 e DTI foram recolhidos dados de ROIs marcados sobre os músculos Tibial Anterior, Gêmeo Interno e Externo e Solear, que são apresentados nesta secção.

Inicialmente foi recolhida informação dos ROIs sobre imagens processadas. Porém ao serem detectados erros e claras incongruências a nível das imagens e dos dados, uma nova abordagem foi definida, rejeitando a etapa do processamento de imagem. Assim, como já referido, foram analisadas as imagens originais adquiridas e recolhida a informação dos ROIs dos músculos de interesse.

Os resultados relativos à nova abordagem tomada, são apresentados nesta secção para cada voluntário individualmente e para a totalidade dos sete voluntários. São igualmente apresentados os resultados dos ganhos percentuais obtidos pelas técnicas de ressonância magnética incluídos no projecto: BOLD, T_2 e DTI. Dos dados de T_2 e DTI apenas serão apresentados os necessários ao estudo comparativo a realizar.

Na análise dos resultados de cada voluntário foram obtidos os gráficos que evidenciam a variação temporal de intensidade de sinal BOLD, nas fases pré e pós-exercício, para cada um dos músculos.

Em cada um dos 60 volumes temporais adquiridos pela técnica BOLD, foi calculada a média da intensidade de sinal BOLD nos 10 cortes escolhidos para marcação dos ROIs. Estes 60 valores médios são apresentados nos gráficos de cada voluntário, nas fase pré e pós-exercício para cada músculo.

Constam nas tabelas em anexo, os dados obtidos e informação sobre os valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos mesmos, relativo a cada voluntário.

No estudo geral englobando os sete voluntários, pretendeu-se analisar o ganho da variação de sinal entre as duas fases, pelo que este foi calculado individualmente para cada voluntário, para cada músculo e posteriormente determinada a média dos ganhos dos sete voluntários.

Em relação à análise estatística pretendeu-se a comparação entre amostras emparelhadas feita pelo teste t. O emparelhamento das amostras fez-se entre as duas fases do exercício, para cada músculo, ao nível individual do voluntário e do conjunto dos sete voluntários. A comparação entre amostras emparelhadas pelo teste t averigua se as variações obtidas entre as fases pré e pós-exercício para cada músculo são estatisticamente significativas ou não, a partir do *p-value* em relação ao nível de significância. Consoante o tamanho da amostra, certos requisitos têm de ser assegurados. No estudo individual do voluntário, as amostras possuem dimensão superior a 30 ($N=60$) logo é assumido¹⁸ que a sua distribuição aproxima-se da distribuição normal, sendo possível aplicar o teste t. Para o estudo dos sete voluntários como um todo, foi necessário calcular a média dos 60 volumes temporais obtidos pelo BOLD, para cada fase, músculo e voluntário. A tabela resultante tem dimensão $N=7$, pelo que foi necessário verificar se os requisitos do teste t eram cumpridos, conforme descrito de seguida, na secção 6.2.8.

¹⁸ Assegurado pelo Teorema de Limite central.

6.1. Problemas com co-registo e correcção de movimento

Durante a análise dos ROIs marcados nas imagens após co-registo e correcção de movimento, foram detectados certos erros na imagem e incoerências nos valores obtidos. Dos sete voluntários apenas são representados graficamente os dados de dois, que foram escolhidos aleatoriamente, para demonstrar o comportamento anómalo do sinal obtido (Figura 6.1 e Figura 6.2).

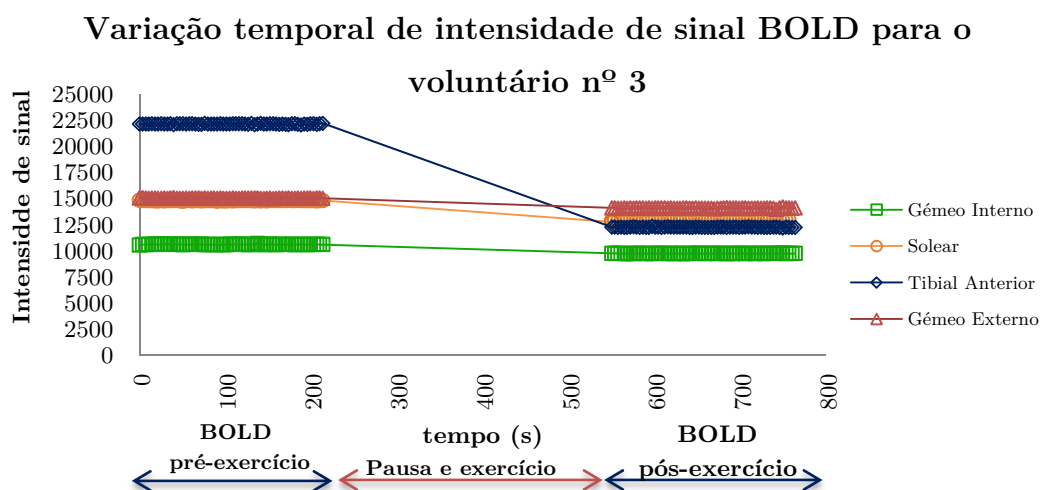


Figura 6.1: Variação temporal anómala da intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 3, quando foi considerado o processamento de imagem.

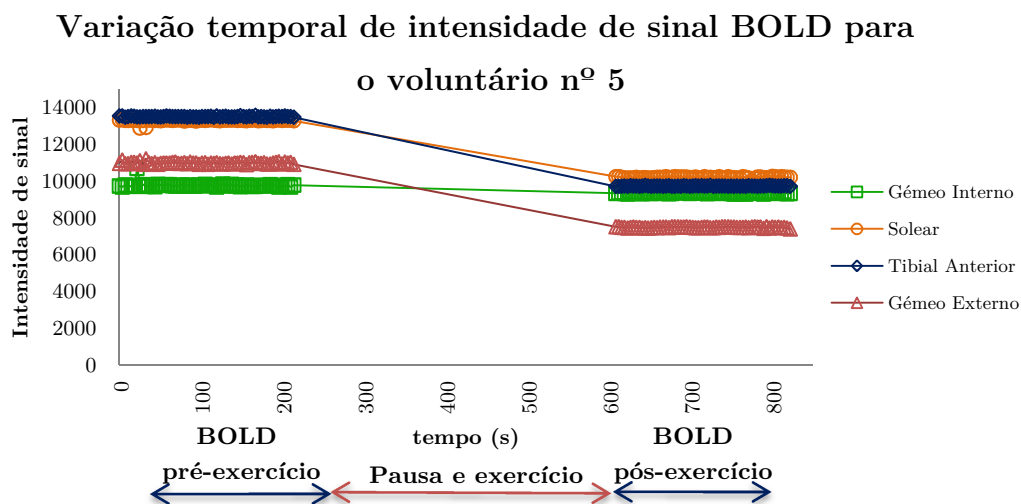


Figura 6.2: Variação temporal anómala da intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 5, quando foi considerado o processamento de imagem.

Pela observação das figuras acima representadas verifica-se que entre as fases pré e pós-exercício houve uma diminuição da intensidade de sinal BOLD, em oposição ao esperado (aumento de intensidade de sinal BOLD após realização de actividade física). Ambas as fases são caracterizadas por intensidades constantes de exercício ao longo do tempo, não apresentando grandes variações.

No que diz respeito aos erros detectados nas imagens, verificou-se que a realização do co-registo e correcção de movimento, inverteu a orientação das imagens. Os músculos anteriores eram apresentados com localização posterior e os músculos posteriores, com uma localização anterior (Figura 6.3).

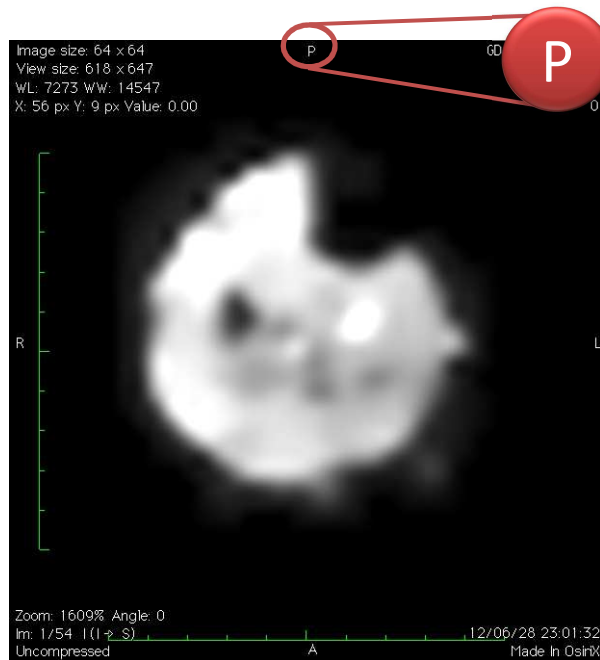


Figura 6.3: Exemplo de erro na imagem BOLD do voluntário nº 3. O tibial anterior está, segundo esta imagem, situado na região posterior e o Tricépite Sural na região anterior.

A existência de anomalias de orientação da imagem e incongruências no comportamento do sinal, levou à não utilização do processamento de imagem.

6.2. Comportamento de sinal BOLD

Todos os dados apresentados em seguida, têm por base as imagens originais, sem a etapa de processamento de imagem (co-registo e correcção de movimento).

6.2.1. Voluntário nº 1

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 1 é a seguinte:

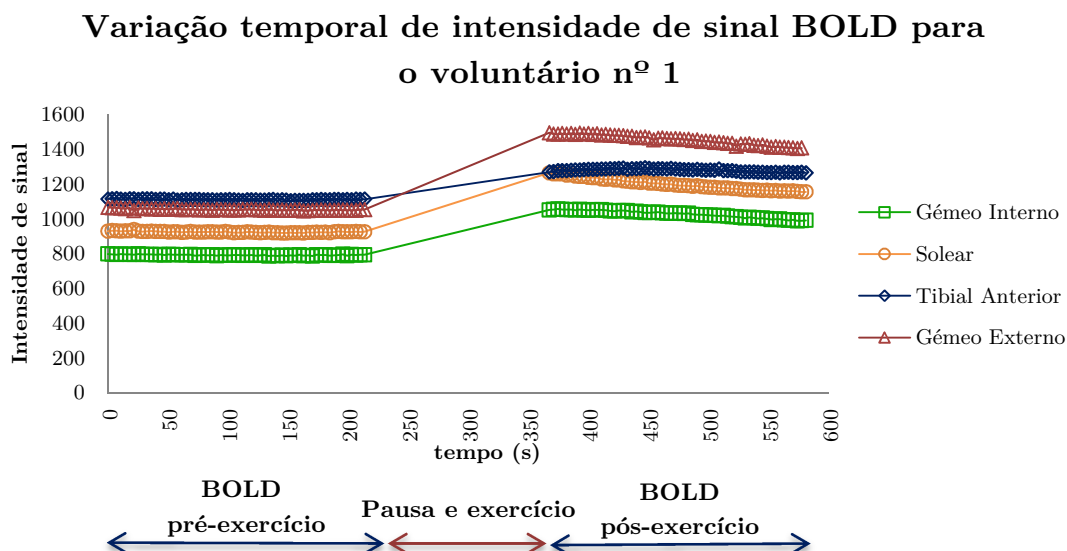


Figura 6.4: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 1.

Verificam-se de um modo geral dois aspectos: intensidades constantes de sinal BOLD durante os 60 volumes temporais da fase pré-exercício para cada músculo e valores de intensidade de sinal superiores na fase pós-exercício em comparação à fase pré, com decréscimo gradual de intensidade de sinal ao longo dos 60 valores temporais, para cada músculo.

Os valores de intensidade tomados pelo conjunto dos quatro músculos de interesse na fase pré-exercício são relativamente próximos (Tabela B. 5 do anexo B). Na fase pós-exercício, todos os músculos apresentam valores mais elevados de sinal, demonstrando o aumento de intensidade de sinal consequente da activação muscular, com posterior decréscimo conforme evidenciado na Figura 6.5. Apenas o músculo tibial anterior permite a visualização do aumento de intensidade de sinal, em oposição aos restantes músculos que experimentam já nesta fase o decréscimo de sinal.

Os resultados da análise estatística do teste t, indicam a existência de variações extremamente significativas entre as fases pré e pós-exercício para todos os músculos, com um *p-value* $\leq 0,001$.

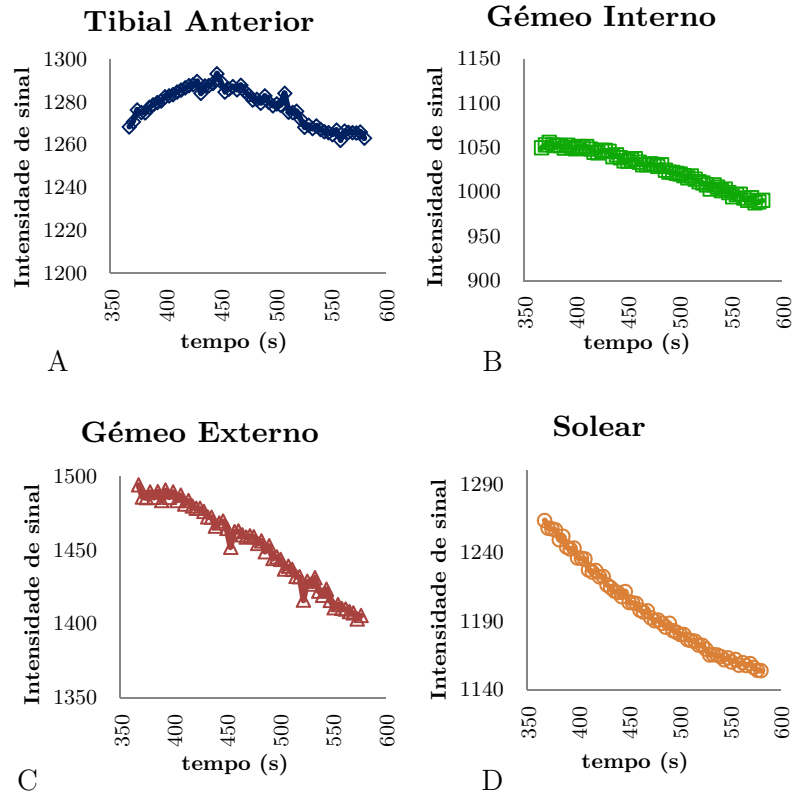


Figura 6.5: Valores de intensidade de sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gêmeo Interno, C – Gêmeo Externo e D – Solear.

6.2.2. Voluntário nº 2

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 2 está representada na Figura 6.6.

Todos os músculos em estudo apresentam valor de intensidade de sinal BOLD constante ao longo dos 60 volumes temporais da fase pré-exercício. Após o exercício, verifica-se um aumento considerável de intensidade de sinal para os músculos que constituem o tricípite sural, seguido de um decréscimo de intensidade de sinal. Dada a escala utilizada de intensidade de sinal no gráfico da variação temporal, o tibial anterior não apresenta aparentemente variação entre as duas fases. No entanto a observação dos valores máximos e mínimos na Tabela B. 6 do anexo B, confirma que existe variação, embora pequena. Na Figura 6.7, o músculo tibial anterior (A) evidencia um aumento de intensidade de sinal e decréscimo na fase pós-exercício.

Os valores de *p-value* $<0,05$ obtidos pelo teste estatístico permitem afirmar que as variações entre as fases consideradas são estatisticamente significativas para os pares em estudo.

Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 2

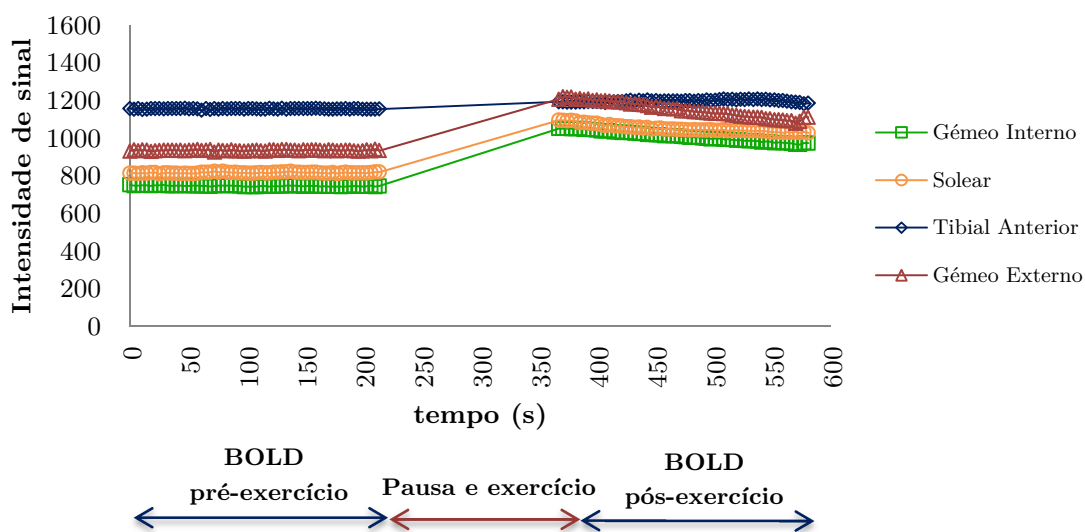


Figura 6.6: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 2.

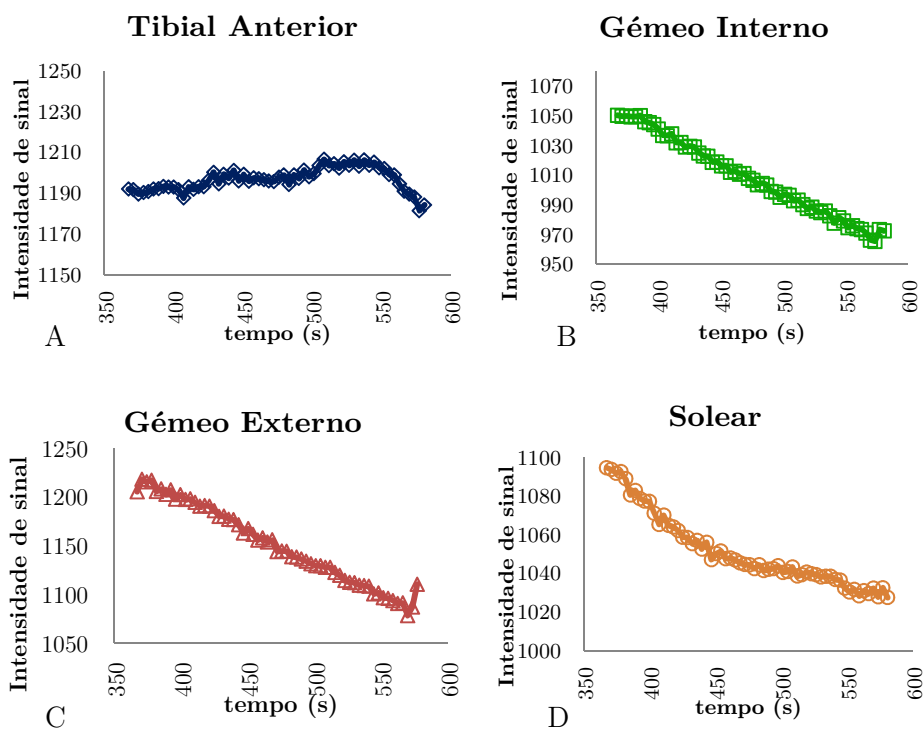


Figura 6.7: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D – Solear.

6.2.3. Voluntário nº 3

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 3 é a seguinte:

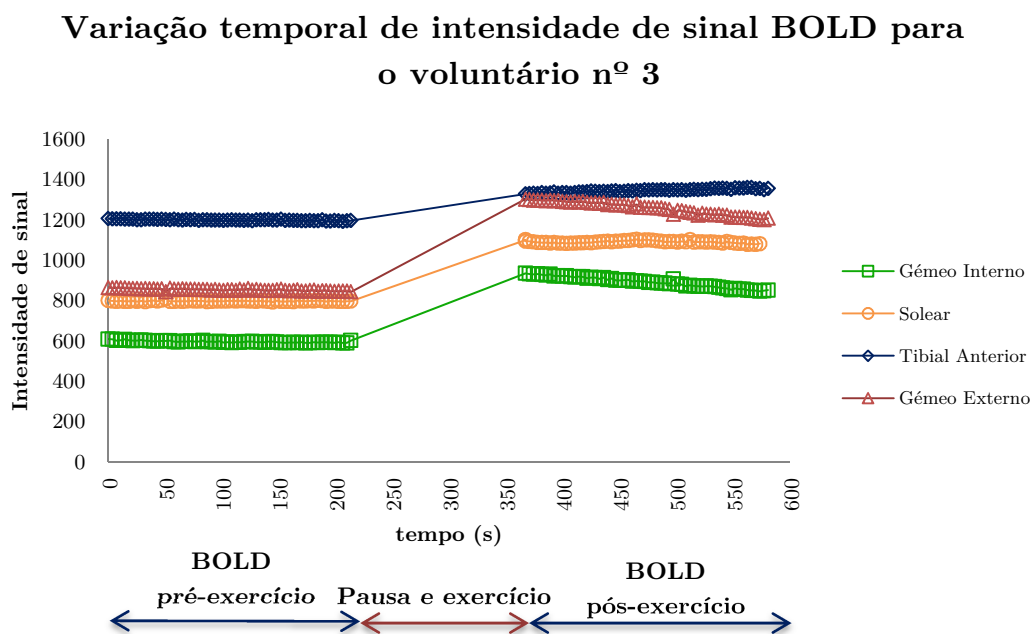


Figura 6.8: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 3.

Os efeitos de intensidade de sinal constante na fase pré-exercício e a sua variação positiva entre as fases pré e pós-exercício verificam-se igualmente para o voluntário nº 3.

No entanto certas alterações são visíveis no gráfico temporal. Os valores de intensidade de sinal dos músculos, apesar de constantes ao longo da fase pré-exercício, apresentam valores de intensidade bastante mais díspares entre si, por comparação aos restantes voluntários. No entanto, o tibial anterior mantém-se como o músculo que exibe maior intensidade de sinal na fase pré-exercício e o gémeo interno como o que exibe menor intensidade.

Durante a fase pós-exercício, contrariamente ao verificado até agora, o tibial anterior não exibe decréscimo, tendo-se verificado mesmo um aumento de intensidade de sinal (Figura 6.9).

O teste estatístico aplicado confirma as variações ocorridas entre as duas fases e com um $p\text{-value} < 0,05$, essas variações dizem-se estisticamente significativas.

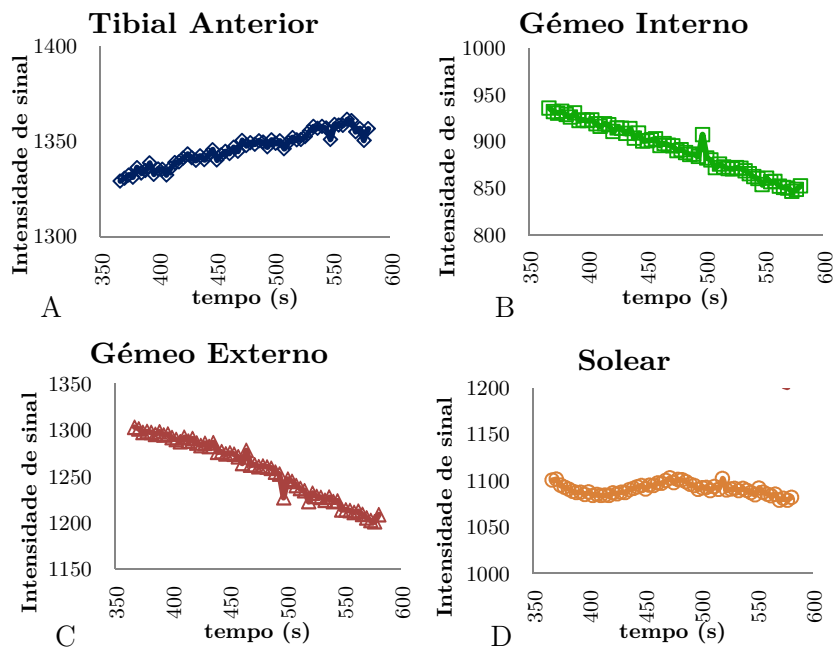


Figura 6.9: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gêmeo Interno, C – Gêmeo Externo e D – Solear.

6.2.4. Voluntário nº 4

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 4 é a seguinte:

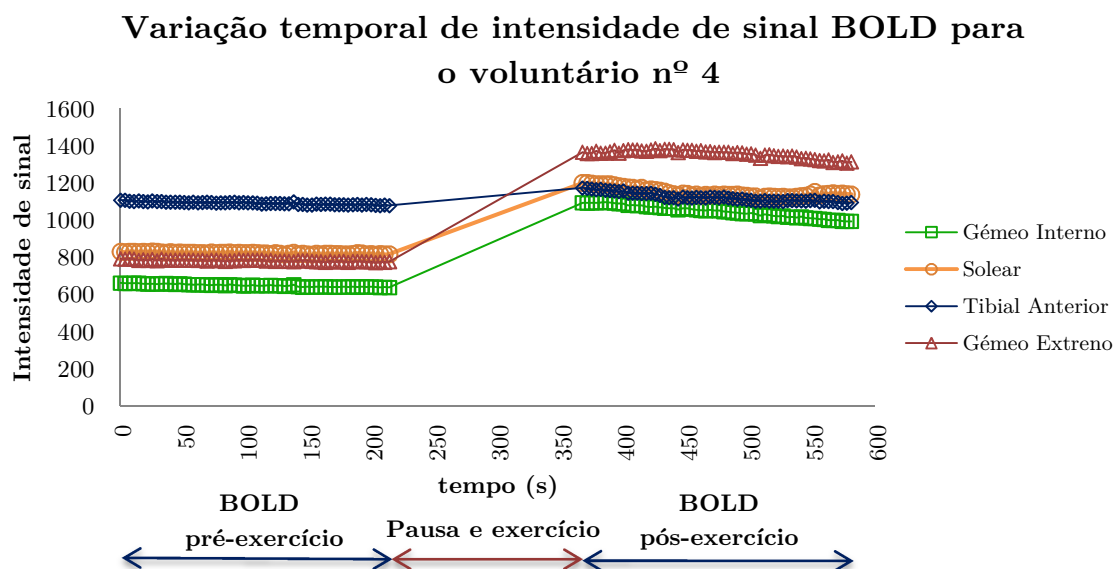


Figura 6.10: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 4.

Na fase pré-exercício todos os músculos permanecem com intensidade de sinal constante, apresentando o tibial anterior o maior valor de intensidade de sinal. Após a pausa para exercício, todos os músculos evidenciam um aumento de intensidade de sinal seguido de um decréscimo de intensidade de sinal (Figura 6.11). Os músculos tibial anterior, gêmeo externo e solear apresentam ligeiro decréscimo.

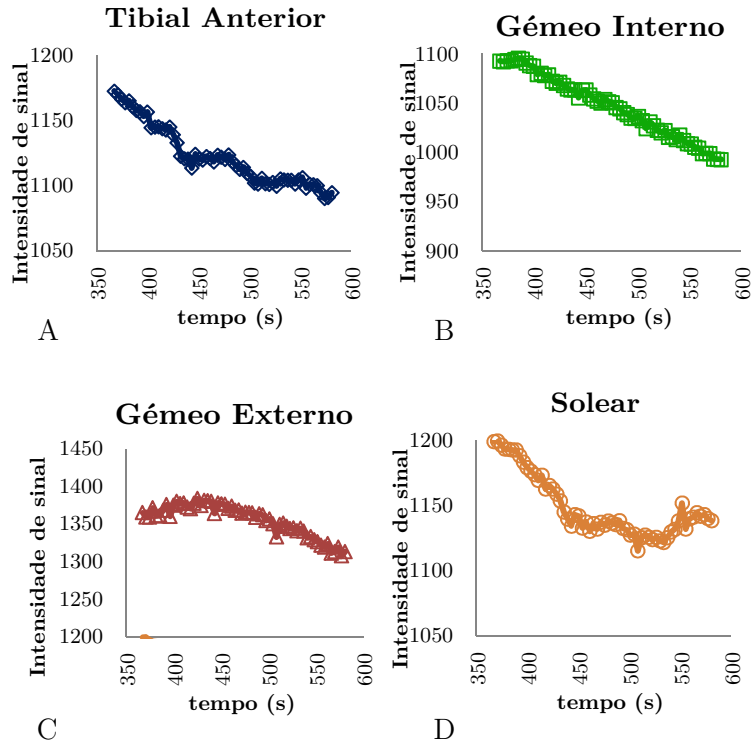


Figura 6.11: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gêmeo Interno, C – Gêmeo Externo e D – Solear.

6.2.5. Voluntário nº 5

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 5 é apresentada na Figura 6.12.

O voluntário nº 5 apresenta um padrão geral de comportamento de sinal semelhante aos restantes voluntários. Observa-se contudo que os valores de intensidade de sinal são muito superiores a todos os outros voluntários. Durante a fase pré-exercício, os músculos apresentam valores de intensidade semelhantes entre si e por vezes coincidentes, verificando-se no entanto, um ligeiro declive negativo de intensidade de sinal para o gêmeo interno.

Após a pausa e exercício, são verificadas variações de intensidade de sinal estatisticamente significativas ($p\text{-value} < 0,05$) para todos os músculos. Paradoxalmente o músculo tibial

anterior apresenta valores pós-exercício mais baixos que os de pré-exercício, evidenciando posteriormente um aumento de sinal (Figura 6.13 A).

Durante a fase pós-exercício, o gêmeo externo demonstra uma evolução negativa mais acentuada de sinal que os outros músculos e o gêmeo interno exibem um aumento e decréscimo de sinal.

Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 5

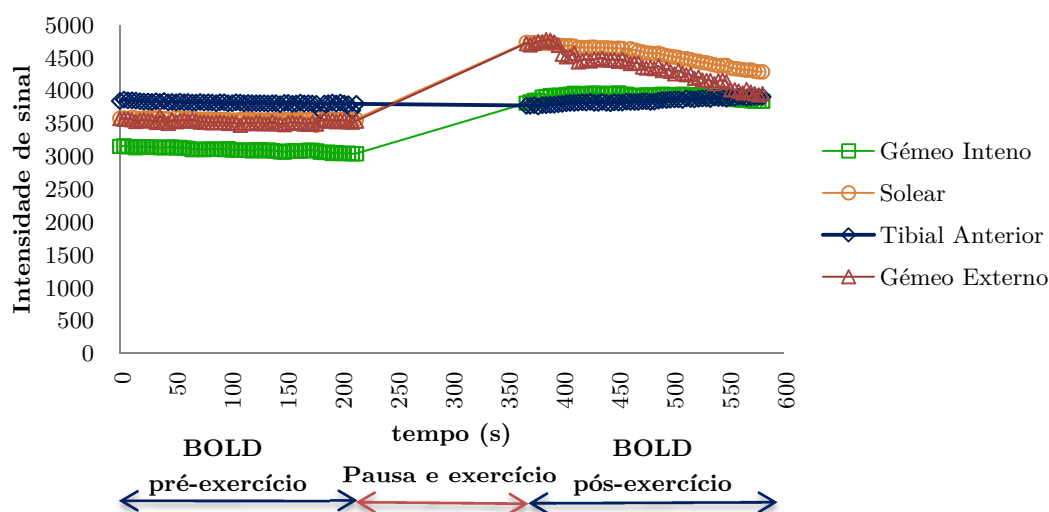
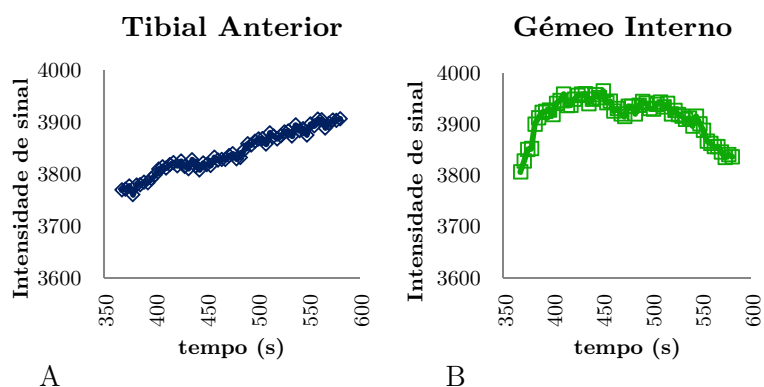


Figura 6.12: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 5.



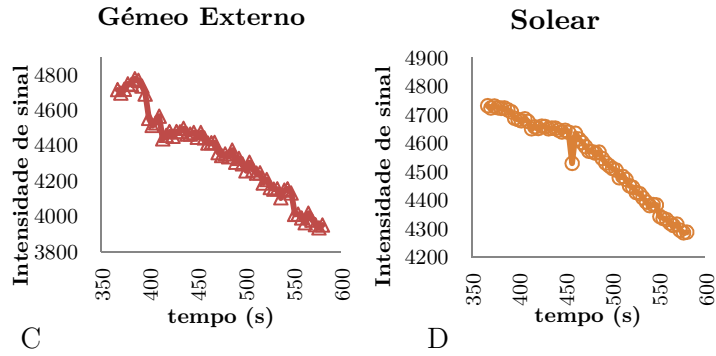


Figura 6.13: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D – Solear.

6.2.6. Voluntário nº 6

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 6 é a seguinte:

Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 6

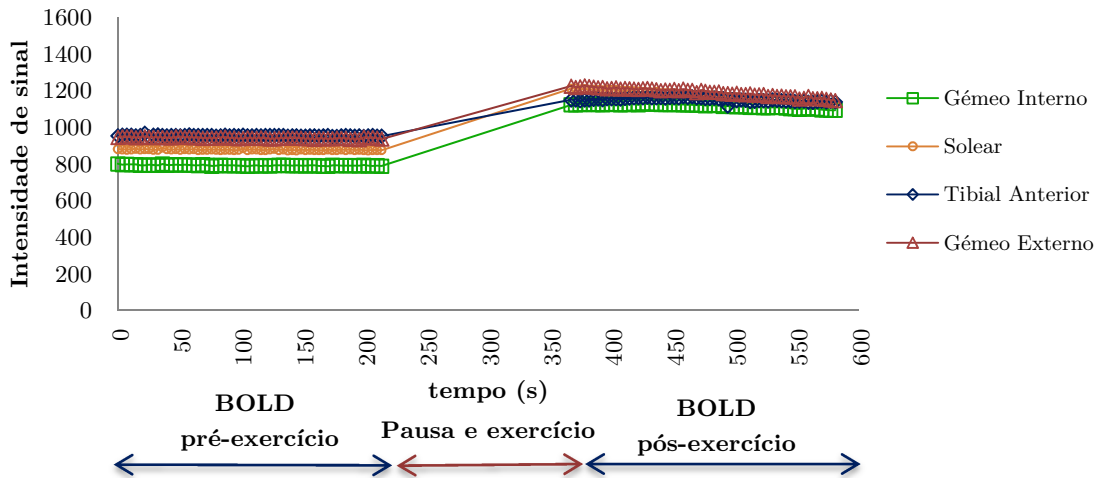


Figura 6.14: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 6.

O padrão de comportamento de sinal BOLD do voluntário nº 6 obedece ao padrão global, apresentando uma variação positiva de sinal após a realização do exercício, e o habitual decréscimo subsequente. Os músculos tibial anterior e gémeo interno evidenciaram ainda na fase pós-exercício aumento de sinal. Foi verificado um acentuado agrupamento na distribuição do sinal em ambas as fases.

As variações entre as fases são extremamente significativas com $p\text{-value} \ll 0,001$.

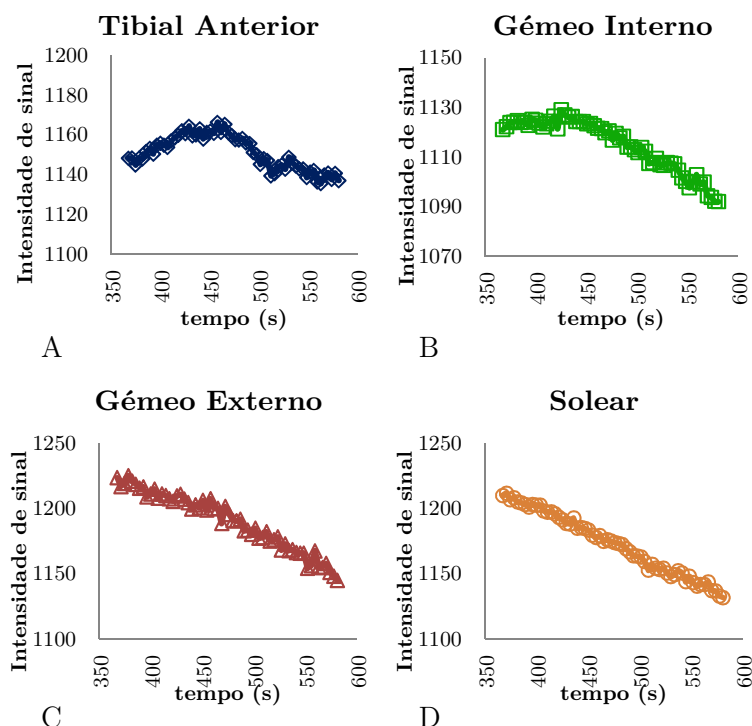


Figura 6.15: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D – Solear.

6.2.7. Voluntário nº 7

A variação temporal de intensidade de sinal BOLD obtida para o voluntário nº 7 está representada na Figura 6.16.

Verificou-se que ao longo da fase pré-exercício, todos os músculos revelaram comportamento semelhante com intensidade de sinal constante, apresentando mais uma vez o tibial anterior os valores de intensidade de sinal superiores e o gémeo interno, os inferiores.

Após a pausa para exercício, os músculos solear, gémeo interno e externo evidenciaram um aumento de intensidade de sinal seguido de um decréscimo linear (Figura 6.17) e o tibial anterior evidencia paradoxalmente uma diminuição de intensidade de sinal entre as duas fases, tal como observado anteriormente no voluntário nº 5. Todas as variações entre as duas fases são significativas com $p\text{-value} \ll 0,05$.

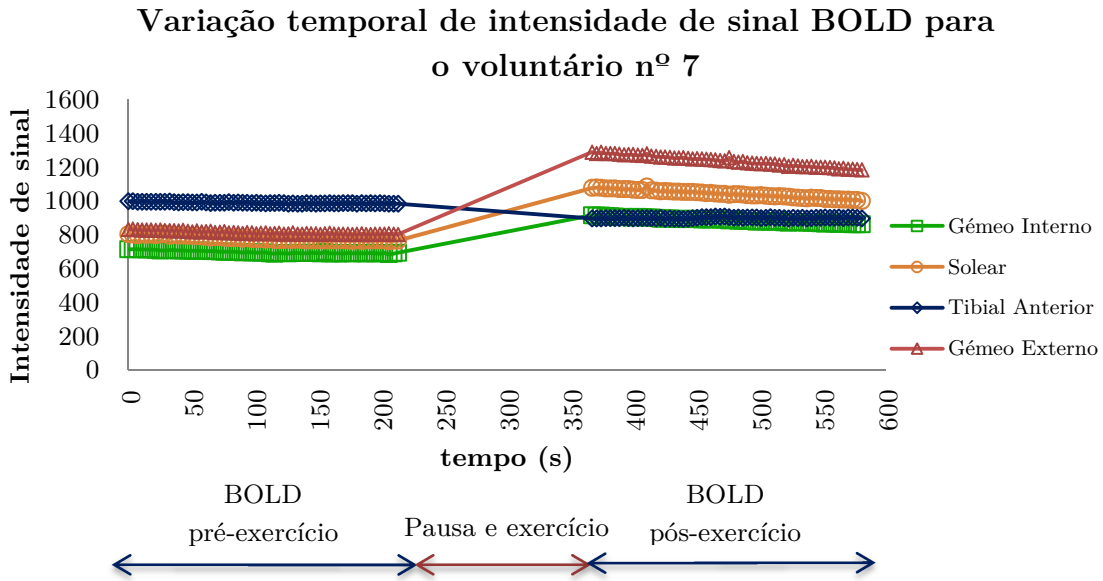


Figura 6.16: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD para o voluntário nº 7.

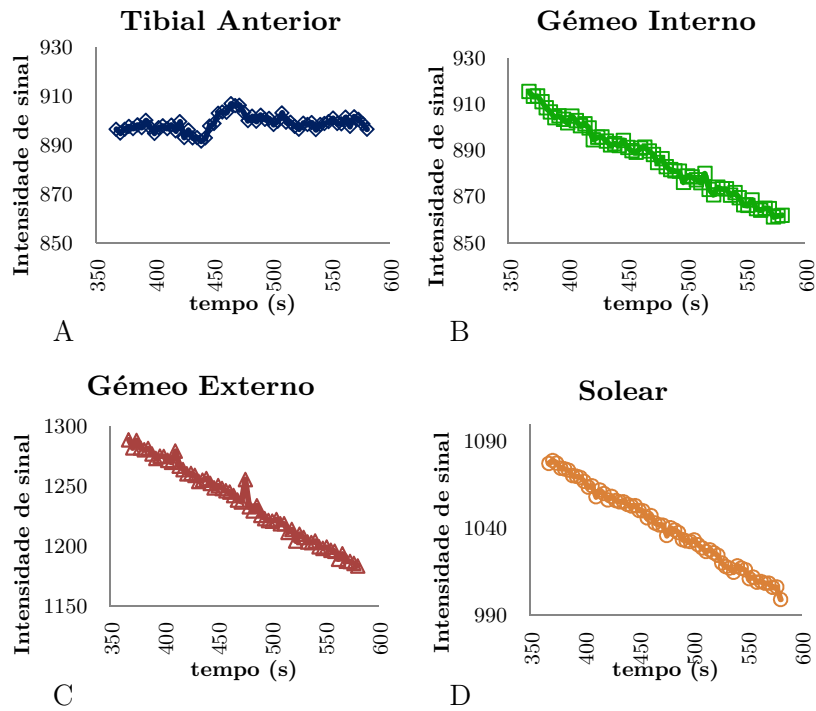


Figura 6.17: Valores de intensidade sinal para a fase pós-exercício para os músculos A – Tibial Anterior, B – Gémeo Interno, C – Gémeo Externo e D – Solear.

6.2.8. Resultados do ganho percentual para os sete voluntários

A quantificação da variação de intensidade de sinal entre as fases pré e pós exercício, faz-se através do ganho percentual. O cálculo do ganho percentual foi realizado para cada músculo através da diferença entre o valor de intensidade de sinal BOLD do primeiro volume temporal na fase pós-exercício e o valor de intensidade de sinal BOLD do último volume temporal na fase pré-exercício, dividido pelo valor de intensidade de sinal BOLD do último volume temporal na fase pré-exercício (Equação 6.1). Sobre a Figura 6.18 estão marcados os volumes temporais, o último na fase pré e o primeiro na fase pós-exercício.

$$\text{Ganho (\%)} = \frac{(\text{SI do BOLD PÓS} - \text{SI do BOLD PRÉ})}{\text{SI do BOLD PRÉ}} \times 100 \quad \text{Equação 6.1}$$

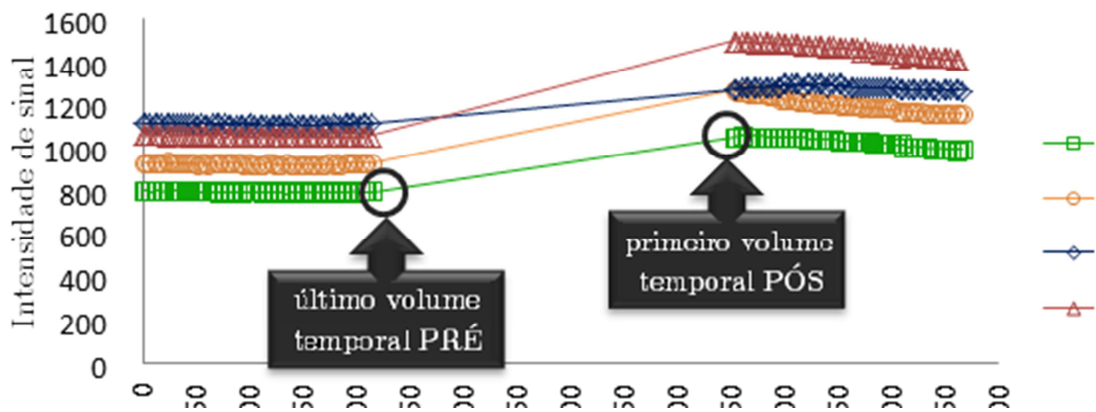


Figura 6.18: Indicação do último volume temporal da fase pré-exercício e primeiro volume temporal da fase pós-exercício.

O ganho percentual foi calculado para cada indivíduo, e seguidamente calculada a média dos ganhos percentuais, obtendo-se desta forma um ganho médio dos sete voluntários. Na Tabela B. 12 do anexo B são apresentados os valores de ganho percentual obtidos para cada músculo e a média calculada para todos os voluntários, evidenciando o ganho total de cada músculo na amostra de voluntários. Este ganho total está representado na Figura 6.19, sobre a forma de gráfico de barras com o respectivo desvio padrão.

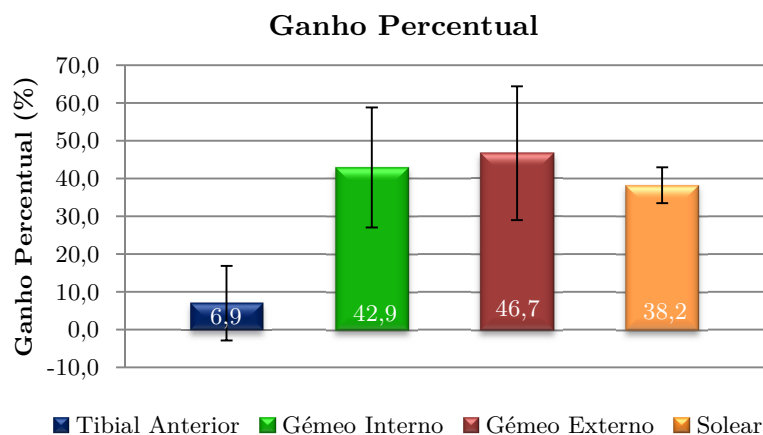


Figura 6.19: Ganho percentual obtido para os músculos da perna com a técnica BOLD.

Para a consideração do ganho percentual, os valores de intensidade de sinal pré-exercício foram normalizados a 0%, constatando-se que na fase pós-exercício os valores de intensidade de sinal aumentaram, com uma maior variação para o gêmeo externo (GE: $46,7 \pm 17,7\%$), gêmeo interno (GI: $42,9 \pm 15,9\%$) e solear (S: $38,2 \pm 4,8\%$) e uma variação menor para o tibial anterior (TA: $6,9 \pm 9,9\%$).

No estudo geral considerando os sete voluntários, foi realizado o teste t para amostras emparelhadas para confirmar estatisticamente se variações obtidas entre as fases pré e pós-exercício para cada músculo eram significativas ou não.

Na Tabela B. 13 do anexo B, são apresentadas as médias de cada músculo, para todos os voluntários nas duas fases, anteriormente calculadas. Como a amostra é agora de dimensão pequena ($N=7$), tem de se garantir que as amostras seguem distribuições normais para se poder aplicar o teste t para amostras emparelhadas. Foi verificado que as amostras não seguiam distribuições normais, havendo a existência de um erro aleatório, designado *outlier*. Assim, na tentativa de corrigir os desvios causados pela existência do *outlier* (voluntário nº 5) eliminou-se a contribuição deste voluntário e de novo, foi realizado teste à normalidade. Verificou-se então que as amostras seguiam agora distribuições normais e sendo possível a aplicação do teste t.

Os resultados obtidos do teste t para amostras emparelhadas sem o outlier, apresentaram variações extremamente significativas ($p\text{-value} < 0,001$) para os pares de músculos gêmeo interno, gêmeo externo e solear entre as fases pré e pós-exercício e variações não significativas ($p\text{-value} > 0,05$) para o par tibial anterior.

6.2.9. Análise da variação do Ganho Percentual com o peso dos voluntários

Com o intuito de perceber se o peso dos voluntários condicionava os resultados finais de ganho, procedeu-se à comparação gráfica destas variáveis, como se apresenta de seguida.

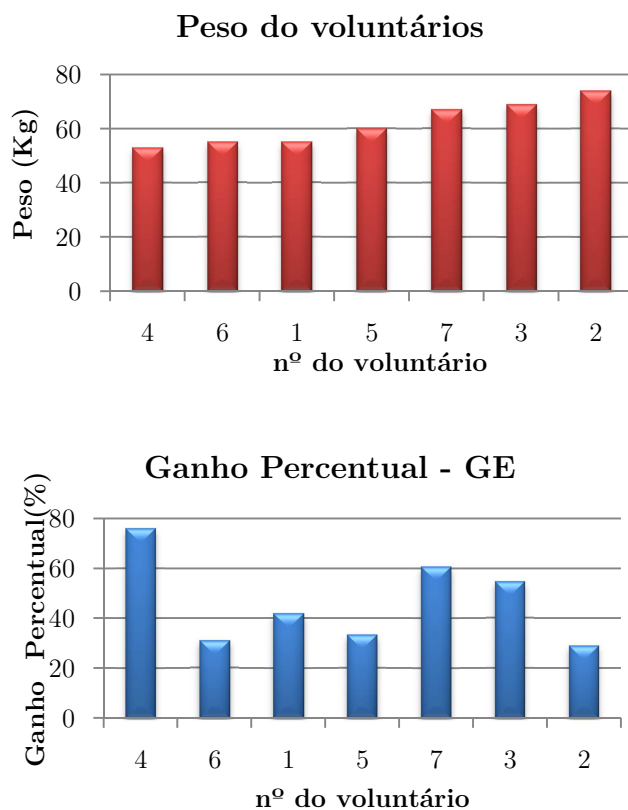


Figura 6.20: Comparação entre peso dos voluntários e o ganho percentual do músculo Gémeo Externo (GE).

O músculo gémeo externo foi escolhido para a representação do ganho, por ser o que apresentava as maiores variações de intensidade de sinal, verificando-se que não existe nenhuma correlação entre as variáveis.

6.3. Comparação com outras técnicas de IRM

A título de curiosidade são apresentados os resultados e feita uma comparação entre as três diferentes técnicas de ressonância magnética incorporados no mesmo estudo: BOLD, T₂ e DTI.

A comparação realizada entre os resultados obtidos é predominantemente qualitativa, uma vez que diz respeito a três técnicas que avaliam parâmetros diferentes, apesar de terem por base a mesma amostra de voluntários. Pretende-se, apesar de tudo, verificar se os diferentes padrões de evolução de sinal demonstram semelhanças entre si.

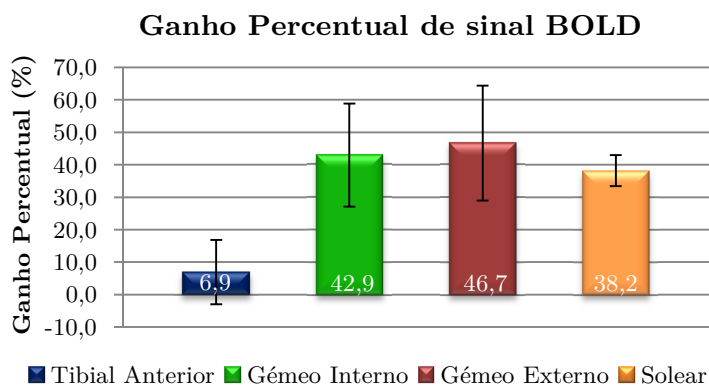


Figura 6.21: Ganho percentual obtido para os músculos da perna segundo a técnica BOLD.

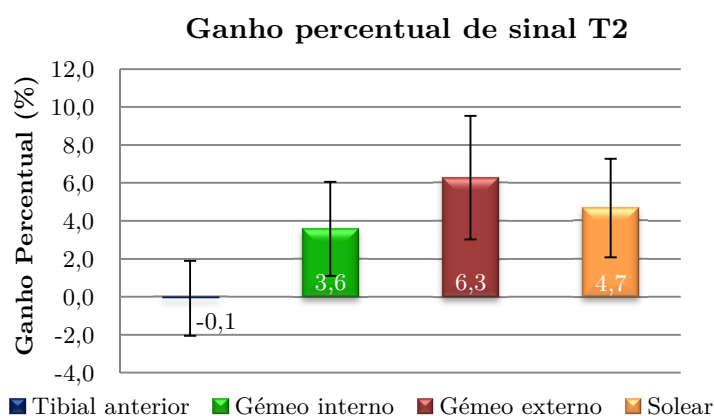


Figura 6.22: Ganho percentual de sinal T₂ obtido para os músculos da perna.

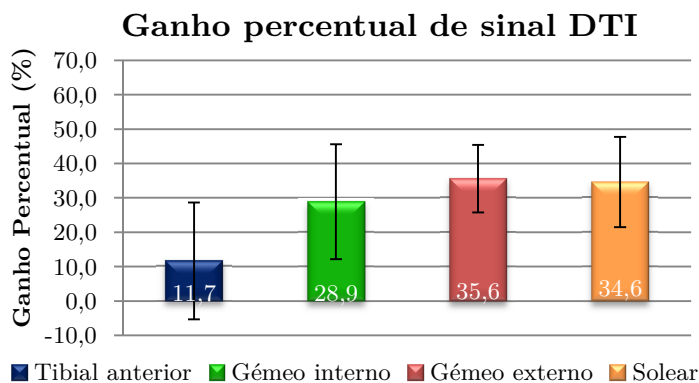


Figura 6.23: Ganho percentual de sinal DTI (ADC) obtido para os músculos da perna

Os valores de ganho percentual do estudo de T₂ são muito inferiores aos observados para DTI e BOLD, o que é realçado na avaliação comparativa da Figura 6.24 e na Tabela 6.1.

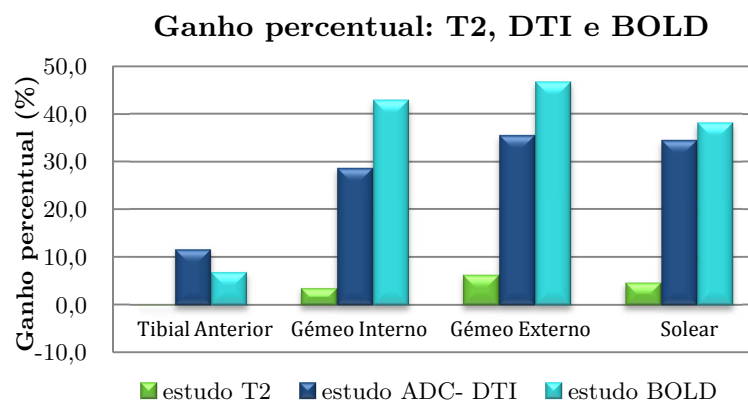


Figura 6.24: Análise comparativa entre técnicas de RM: T₂, DTI (ADC) e BOLD.

Tabela 6.1: Comparação entre os valores médios do ganho percentual com respectivos desvio padrão, para cada músculo e para cada técnica.

	Tibial Anterior	Gémeo Interno	Gémeo Externo	Solear
BOLD	6,9 ± 9,9%	42,9 ± 15,9%	46,7 ± 17,7%	38,2 ± 4,8%
T₂	-0,1 ± 2,0%	3,6 ± 2,5%	6,3 ± 3,3%	4,7 ± 2,6%
DTI	11,7 ± 17,0%	28,9 ± 16,8%	35,6 ± 9,8%	34,6 ± 13,1%

7. Discussão e Conclusões

Nesta secção são discutidos os resultados obtidos e atrás apresentados. Primeiro são abordados e discutidos os resultados obtidos pelo co-registo e correcção de movimentos e em seguida os resultados de sinal BOLD sem processamento de imagem. As variações obtidas são discutidas face à base teórica apresentada nas secções introdutórias e é também apresentada uma análise comparativa entre as diferentes técnicas de ressonância magnética utilizadas.

As limitações da dissertação, assim como as perspectivas futuras são também mencionados nesta secção e por último, são apresentadas as conclusões finais da dissertação.

7.1. Co-registo e Correção de Movimento

A abordagem inicial que incluía o processamento de imagens BOLD foi alterada face aos erros detectados. Essa alteração foi assumida com base em dois eventos: obtenção de dados incoerentes ao estudo e falhas na representação anatômica das imagens.

Analisando os dados registados, não foram verificadas quaisquer relações entre os dados de ROIs dos mesmos músculo nas duas fases, pelo que se pode rejeitar a hipótese das incoerências verificadas serem resultado de ajuste automático ou calibração do equipamento.

A razão de existência dos erros é desconhecida. No entanto coloca-se a hipótese de ser consequência da utilização de um programa que não é específico para o processamento de imagens BOLD do músculo ou de alterações decorridas do processos de conversão do formato das imagens. O programa FSL é específico para o processamento de imagens cerebrais, pelo que a aplicação das suas ferramentas de processamento às imagens da perna pode não ser adequada.

A recolha de dados de ROIs marcados nas imagens processadas não foi terminada para todos os voluntários, dada a total incoerência dos primeiros resultados obtidos. Consequentemente, foi decidido reiniciar a recolha e análise dos dados dos ROIs marcados sobre as imagens originais, sem realizar qualquer tipo de processamento de imagem. Nos novos resultados obtidos verificou-se o desaparecimento das incongruências e de erros, o que permite concluir que tais erros dependiam do processamento de imagem.

Um estudo mais aprofundado da aplicação de programas de processamento de imagem de tecido muscular, pode surgir como seguimento da presente dissertação de mestrado.

7.2. Sinal BOLD

Todos os voluntários apresentaram de uma forma geral, um padrão semelhante de comportamento de sinal BOLD em função do tempo.

Pela observação dos gráficos temporais obtidos para cada voluntário verificaram-se dois eventos distintos para todos os músculos: valores constantes de intensidade de sinal ao longo da fase anterior ao exercício e um aumento de intensidade de sinal após a realização de exercício, com posterior decréscimo.

Na fase pré-exercício de cada um dos sete voluntários, os diferentes músculos apresentaram valores médios de intensidade de sinal similares, distinguindo-se um padrão de distribuição do sinal entre os vários músculos, onde o músculo tibial anterior apresentou sempre os valores mais elevados, seguido do gêmeo externo e solear e por último com valores de intensidade mais baixos, o gêmeo interno.

De um modo geral, após o exercício, todos os músculos apresentaram valores de intensidade de sinal superiores ao observado na fase pré-exercício, seguido de decaimento da intensidade do sinal ao longo do tempo. Esta variação positiva entre as duas fases é relacionável com o processo de activação muscular durante a execução de exercício físico.

O decaimento da intensidade de sinal verificado para a maioria dos músculos, na fase pós-exercício foi aproximadamente linear. Contudo foram verificadas excepções: dois dos voluntários apresentaram aumentos paradoxais de intensidade de sinal, embora ligeiros num dos músculos (Figura 6.9 e Figura 6.13).

O facto de persistirem aumentos de intensidade de sinal para alguns músculos durante a fase pós-exercício, leva à colocação da hipótese que o pico máximo de intensidade de sinal para esses músculos, ainda não tivesse sido atingido. A realização de nova aquisição BOLD abrangendo tempos mais tardios, poderia ser uma forma de confirmar a eventual presença do pico máximo de intensidade e progressivo decréscimo, para esses músculos.

Observou-se ainda, duas outras excepções ao comportamento do esperado do sinal, em dois voluntários que apresentaram, para o músculo tibial anterior, diminuição dos valores de sinal entre a fase pré e pós-exercício, contrariamente ao esperado e ao verificado nos outros voluntários. Tal facto é paradoxal, não existindo uma resposta evidente para explicar o sucedido.

Pela observação dos gráficos temporais verificou-se que o tibial anterior apresenta os valores mais elevados de intensidade de sinal por comparação aos outros músculos na fase pré exercício. Tal facto poderá estar relacionado com a activação deste músculo, por um lado no momento de subida e posicionamento do voluntário sobre a mesa do equipamento, por outro pelo posicionamento do pé e perna no suporte. Quando o pé está no suporte, pode garantir-se a sua imobilização mas não a sua total descontração, e pelo facto de o pé ser colocado num ângulo de 90° em relação à perna, poderá condicionar a ligeira contração involuntária do músculo tibial anterior.

Em relação aos valores de intensidade de sinal, apenas o voluntário nº 5 se destaca dos restantes, por ter apresentado todos os valores num patamar significativamente mais elevado que os outros voluntários. Este facto levou mesmo a que fosse excluído da análise estatística

global envolvendo os sete voluntários. Esta variação cuja causa é desconhecida, pode estar relacionada com factores do equipamento ou factores do próprio voluntário. Apesar de todas as variáveis de aquisição das sequências (TE, TR, espessura de corte, matriz de aquisição, FOV) serem iguais para todos os voluntários, não se pode excluir a hipótese de ter havido alguma alteração na calibração inicial do equipamento, neste voluntário. Para verificar esta hipótese seria necessário realizar um novo estudo com os todos os voluntários, garantindo que não havia nenhuma variação dos parâmetros de calibração inicial. Se no novo estudo se verificasse uma elevação dos valores num outro voluntário que não o nº 5, esse facto permitiria garantir que a variação não era devida a factores próprios do voluntário.

Na análise do comportamento de sinal para o conjunto dos sete voluntários procedeu-se ao estudo das variações de sinal ocorridas entre as fases pré e pós-exercício, avaliando o ganho percentual médio para cada músculo. Os ganhos médios mostraram um aumento percentual máximo para os gêmeos e solear e mínimo para o tibial anterior. Desta forma pode concluir-se que os músculos gêmeos e solear foram muito activados durante o exercício, e consequentemente são os mais solicitados para o tipo de exercício efectuado.

Estas variações estão de acordo com a execução do salto unipedal, onde são realizados movimentos de flexão plantar, sendo os músculos gêmeo interno, gêmeo externo, e solear os principais agonistas deste movimento. Surpreendentemente, em quatro dos sete voluntários os valores de ganho percentual obtidos foram superiores para o gêmeo externo e inferiores para o gêmeo interno. Sendo o gêmeo interno mais volumoso, seria de esperar que fosse o mais recrutado durante o exercício.

O ganho percentual menor obtido para o tibial anterior compreende-se e pode ser explicado devido à sua activação prévia na fase anterior ao exercício (como discutido acima) e por este não ser um músculo agonista do movimento de flexão plantar, não sendo muito activado durante o exercício.

Observando o gráfico de ganho percentual relativo ao estudo de BOLD para cada músculo (Figura 6.19), constata-se que existe uma grande discrepância entre os diferentes valores obtidos para cada voluntário, o que explica a existência de desvios padrão elevados (Tabela B. 12 do anexo B).

Analisando os valores de ganho obtidos para o músculo tibial anterior na Tabela B. 12 do anexo B, verificou-se a presença de valores negativos de ganho percentual para dois dos sete voluntários, o que implica que a barra de erro assumiu também valores negativos para este músculo. Se o ganho percentual foi negativo, quer dizer que houve uma diminuição dos valores de intensidade de sinal entre as fases pré e pós-exercício.

No que diz respeito à realização do salto unipedal, houve o cuidado de o realizar de uma forma padronizada (com as mãos nas ancas e o olhar fixo num mesmo ponto) sem variações significativas nomeadamente da frequência e amplitude do salto, para que não constituísse factor de indução de erro nos resultados. A comparação entre o peso dos voluntários e o ganho percentual do gêmeo externo (que foi o músculo que apresentou maior ganho percentual), não demonstra nenhuma correlação perceptível entre estas duas variáveis (Figura 6.20).

7.3. BOLD, T_2 e DTI

A presente dissertação de mestrado incide sobre a aplicação da técnica BOLD aos músculos da perna. Paralelamente, outros dois estudos foram realizados com DTI e T_2 , sobre a mesma amostra de jovens voluntários. Uma vez que se tratam de estudos realizados em paralelo e na mesma amostra, justifica-se uma breve análise comparativa.

O estudo com a técnica DTI focou-se na obtenção de informação da difusão da água nos tecidos através das variações de parâmetros, nomeadamente ADC, para perceber a influência da actividade física no músculo e a arquitectura muscular. O estudo de T_2 baseou-se na análise dos tempo de relaxação T_2 intrínsecos dos músculos da perna, para a compreensão das variações fisiológicas que ocorrem após a realização de exercício físico intenso.

Os resultados obtidos pelas três técnicas mostraram-se concordantes. Verificou-se uma maior variação entre as fases pré e pós-exercício para o gêmeos externo, gêmeo interno e solear e uma variação menor para o tibial anterior. Cada estudo apresentou valores típicos de ganho percentual, de acordo com o ajuste da máquina e a sequência de aquisição de imagens.

O ganho percentual de sinal T_2 apresentou, para todos os músculos, os valores mais baixos existindo uma diferença significativa entre estes e os das restantes técnicas, conforme evidente na análise da Figura 6.24. O facto da sequência T_2 , na fase pós-exercício, ser adquirida após as sequências BOLD que demoram cada uma 3min48s, poderá ter tido alguma influência nos valores obtidos.

Apesar dos resultados dos nossos estudos indicarem uma concordância nas variações entre T_2 e BOLD nas fases pré e pós-exercício, existem estudos de outros autores, que embora efectuados com outro paradigma reportaram que não existe uma correlação entre o aumento de T_2 e o sinal BOLD [13].

O facto de durante a activação muscular haver aumento de fluxo e volume sanguíneo nos vasos, pode estar na origem da relação entre os aumentos de sinal BOLD e ADC. No entanto não é descartada a possibilidade da existência de outros factores que podem condicionar esta relação.

7.4. Limitações e perspectivas futuras

Ao longo do desenvolvimento do estudo e análise de resultados, certas limitações foram encontradas, que podem ser contornadas e melhoradas em estudos futuros.

A existência de um sinal de referência homogéneo e imutável, que não dependa do equipamento ou do voluntário, é útil para verificar a calibração nas diferentes sequências. As sequências T_2 e DP recorreram ao uso de uma cápsula de óleo de fígado de bacalhau (fixada no revestimento cutâneo da face antero-externa da perna, no seu terço superior) como referência de sinal. A escolha desta teve por base a sua constituição, com gordura, sendo facilmente visível nas imagens T_2 e DP, mas não nas imagens BOLD.

Não foi possível encontrar uma referência de sinal útil, que fosse aplicável às sequências BOLD. Isto constitui uma limitação à presente dissertação, por comparação com os estudos de T_2 .

O facto de não se ter prosseguido com a aplicação do co-registo e correcção de movimento às imagens, foi inicialmente considerada como uma possível limitação. No entanto, dado que os resultados obtidos sem co-registo e correcção de movimento foram coerentes e concordantes com a literatura, a não utilização do processamento de imagem não constituiu limitação da presente dissertação.

Em estudos futuros, seria desejável a utilização de programas de processamento de imagem específicos para o sistema músculo-esquelético.

Seria igualmente desejável aumentar a amostra de voluntários para o estudo, abrangendo número igual de ambos os géneros.

7.5. Conclusões finais

A presente dissertação de mestrado foi desenvolvida com o intuito de responder às questões:

- Será possível avaliar quantitativamente as variações de intensidade de sinal de vários músculos da perna, após realização de exercício físico intenso, através da técnica BOLD?
- Serão os dados obtidos através de diferentes técnicas de ressonância magnética: BOLD, T_2 e DTI, semelhantes em termos qualitativos, para um mesmo modelo de exercício físico?

Tendo em consideração os objectivos definidos para a presente dissertação, foi elaborado um planeamento e definida uma estratégia de procedimento que passou por várias fases: a fase de aquisição das imagens na Clínica de Ressonância Magnética de Caselas; o registo e análise dos resultados obtidos; a fase de tratamento estatístico dos mesmos e por último a discussão e elaboração das conclusões.

De acordo com os resultados obtidos pode concluir-se em primeiro lugar, que foi possível analisar quantitativamente as variações de intensidade de sinal dos músculos da perna após realização de exercício físico intenso, usando a técnica BOLD e em segundo lugar, que os resultados obtidos pelas três técnicas BOLD, T_2 e DTI são semelhantes e concordantes. Responde-se assim, de forma afirmativa, às duas questões inicialmente colocadas.

Vários outros estudos indicam que a ressonância magnética apresenta elevado potencial no mapeamento da actividade muscular [6], de um modo não invasivo[8], pela utilização de várias técnicas. Os resultados apresentados na presente dissertação confirmam que a análise das alterações fisiológicas dos músculos pela técnica BOLD poderá ser útil para a avaliação não invasiva da actividade muscular, constituindo-se como uma alternativa ou complemento válido aos métodos superficiais ou invasivos. A RM apresenta-se também vantajosa em relação a outras técnicas, pelo facto de não usar radiação ionizante, permitindo múltiplas aquisições num mesmo indivíduo, sem riscos para o mesmo.

Ainda, no âmbito do projecto estão planeados estudos envolvendo Electromiografia e a realização de exercício, utilizando os mesmos voluntários, pelo que a análise comparativa será de grande interesse em estudos futuros. A ressonância magnética funcional deve servir como complemento e não como substituto da Electromiografia, em estudos de actividade muscular, apresentando esta última uma desvantagem pelo facto de não possibilitar o estudo de músculos em regiões mais profundas.

Por último, podem também antecipar-se estudos em atletas de alta competição, e eventuais futuras aplicações desta técnica a estudos de fisiopatologia do músculo.

Bibliografia

- [1] L. Pauling and C. D. Coryell, “*The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin*” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 22, no. 4, pp. 210–216, Abr. 1936.
- [2] S. Ogawa, T.-M. Lee, A. S. Nayak, and P. Glynn, “*Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields*” *Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 14, no. 1, pp. 68–78, 1990.
- [3] S. Ogawa and T. M. Lee, “*Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields: in vivo and in vitro measurements and image simulation*” *Magn Reson Med*, vol. 16, no. 1, pp. 9–18, Out. 1990.
- [4] S. Ogawa, T. M. Lee, A. R. Kay, and D. W. Tank, “*Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation*” *PNAS*, vol. 87, no. 24, pp. 9868–9872, Dez. 1990.
- [5] S. Ogawa, D. W. Tank, R. Menon, J. M. Ellermann, S. G. Kim, H. Merkle, and K. Ugurbil, “*Intrinsic signal changes accompanying sensory stimulation: functional brain mapping with magnetic resonance imaging*” *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, vol. 89, no. 13, pp. 5951–5955, Jul. 1992.
- [6] R. A. Meyer and B. M. Prior, “*Functional magnetic resonance imaging of muscle*” *Exerc Sport Sci Rev*, vol. 28, no. 2, pp. 89–92, Abr. 2000.

- [7] T. F. Towse, "Mechanism of the post-contraction blood oxygenation level-dependent (BOLD) effect in human skeletal muscle". ProQuest, UMI Dissertation Publishing, 2011.
- [8] A. H. E. Michael D. Noseworthy and Andrew D. Davis, "Advanced MR Imaging Techniques for Skeletal Muscle Evaluation" *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, vol. 14, no. 2, pp. 257–268, 2010.
- [9] H. P. Ledermann, H.-G. Heidecker, A.-C. Schulte, C. Thalhammer, M. Aschwanden, K. A. Jaeger, K. Scheffler, and D. Bilecen, "Calf Muscles Imaged at BOLD MR: Correlation with TcPo₂ and Flowmetry Measurements during Ischemia and Reactive Hyperemia—Initial Experience" *Radiology*, vol. 241, no. 2, pp. 477–484, Nov. 2006.
- [10] K. S. J. Hennig and A. Schreiber, "Time resolved observation of BOLD effect in muscle during isometric exercise" .
- [11] T. F. Towse, J. M. Slade, and R. A. Meyer, "Effect of physical activity on MRI-measured blood oxygen level-dependent transients in skeletal muscle after brief contractions" *J. Appl Physiol*, pp. 715–722, 2005.
- [12] T. F. Towse, J. M. Slade, J. A. Ambrose, M. C. DeLano, and R. A. Meyer, "Quantitative analysis of the postcontractile blood-oxygenation-level-dependent (BOLD) effect in skeletal muscle" *J Appl Physiol*, vol. 111, no. 1, pp. 27–39, Jul. 2011.
- [13] J. Z. K. Bénédicte F Jordan, "Contribution of oxygenation to BOLD contrast in exercising muscle" *Magnetic resonance in medicine: official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, vol. 52, no. 2, pp. 391–6, 2004.
- [14] R. Seeley, T. Stephens, and P. Tate, *Anatomia e Fisiologia*, 6th ed. McGraw-Hill, 2003.
- [15] P. Pezarat Correia and M. Espanha, *Aparelho Locomotor: Anatomofisiologia dos Sistemas Nervoso, Ostoarticular e Muscular*, vol. 1, 2 vols. Faculdade de Motricidade Humana: edições FMH, 2010.
- [16] R. M. Berne, M. N. Levy, B. M. Koeppen, and B. A. Stanton, *Physiology*, 5e, 5th ed. Mosby, 2003.
- [17] A. Micheu and D. Hoa, "IMAIOS," 2009. [Online]. Disponível em: <http://www.imaios.com/en>.
- [18] P. Pezarat Correia, *Aparelho Locomotor: Função Neuromuscular e Adaptações à Atividade Física*, vol. 2, 2 vols. Faculdade de Motricidade Humana: edições FMH, 2012.
- [19] F. Bloch, W. W. Hansen, and M. Packard, "Nuclear induction," *Physical review*, vol. 70, no. 7–8, pp. 460–474, 1946.
- [20] R. R. Edelman, J. Hesselink, M. Zlatkin, R. Irwan, and M. Oudkerk, *Clinical Magnetic Resonance Imaging: in chapter 1 History of Magnetic Resonance*, 3rd ed., vol. 1, 3 vols. Saunders, 2006.
- [21] "Ressonância Magnética: Princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional" *Revista Brasileira de Física Médica*, vol. 3, no. 1, pp. 117–129, 2009.
- [22] R. R. Edelman, J. Hesselink, M. Zlatkin, and J. P. Mugler III, *Clinical Magnetic Resonance Imaging: in chapter 2 Basic Principles*, 3rd ed., vol. 1, 3 vols. Saunders, 2006.

- [23] H. Tavares, “*Mapeamento de áreas visuais em cérebros sujeitos a reconstrução plana, usando ressonância magnética estrutural e funcional*” Ibili, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade de Coimbra, Coimbra, Relatório de cadeira de projecto Engenharia Biomédica, Jul. 2007.
- [24] R. B. Buxton, *Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: Principles and Techniques*. Cambridge University Press, 2002.
- [25] D. W. McRobbie, E. A. Moore, M. J. Graves, and M. R. Prince, *MRI from Picture to Proton*. Cambridge University Press, 2007.
- [26] Qun Chen, Klaus W. Stock, Pottumarthi V. Prasad, and Hiroto Hatabu, “*Fast magnetic resonance imaging techniques*” *European Journal of Radiology*, pp. 90–100, 1999.
- [27] P. Mansfield and I. L. Pykett, “Biological and medical imaging by NMR,” *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, vol. 29, no. 2, pp. 355–373, Fev. 1978.
- [28] “Magnetic Resonance - basic principles, history, facts. The primer by TRTF / EMRF.” [Online]. Disponível em: <http://www.magnetic-resonance.org/index.htm>. [Acedido a: 07-Set-2012].
- [29] B. Horwitz, “*Neural Modelind and Functional Brian Imaging: An Overview*” [Online]. Disponível em: <http://mbi.osu.edu/2002/ws2materials/horwitz.pdf>.
- [30] P. Jezzard, P. M. Matthews, and S. M. Smith, Eds., *Functional MRI: An Introduction to Methods*, 1st ed. Oxford University Press, USA, 2002.
- [31] M. D. Noseworthy, D. P. Bulte, and J. Alfonsi, “*BOLD Magnetic Resonance Imaging of Skeletal Muscle*” *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, vol. 7, pp. 307–315, 2003.
- [32] K. Miller, “*Introduction to MRI Physics*” [Online]. Disponível em: http://users.fmrib.ox.ac.uk/~karla/grad_program/fmrib_induction_physics.html. [Acedido a: 06-Out-2012].
- [33] R. R. Edelman, J. Hesselink, M. Zlatkin, K. Uludag, D. J. Dubowitz, and Buxton, *Clinical Magnetic Resonance Imaging: in chapter 9 Basic Principle of Functional MRI*, 3rd ed., vol. 1, 3 vols. Saunders, 2006.
- [34] S. Partovi, A.-C. Schulte, B. Jacobi, M. Klarhöfer, A. B. Lumsden, M. Loebe, M. G. Davies, G. P. Noon, C. Karmonik, L. Zipp, G. Bongartz, and D. Bilecen, “*Blood oxygenation level-dependent (BOLD) MRI of human skeletal muscle at 1.5 and 3 T*” *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 35, no. 5, pp. 1227–1232, 2012.
- [35] J. L. Fleckenstein, R. C. Canby, R. W. Parkey, and R. M. Peshock, “*Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers*” *AJR Am J Roentgenol*, vol. 151, no. 2, pp. 231–237, Ago. 1988.
- [36] R. R. Edelman, J. Hesselink, M. Zlatkin, and P. J. Bassler, *Clinical Magnetic Resonance Imaging: in chapter 11 Diffusion-Tensor MR imaging Fundamentals*, 3rd ed., vol. 1, 3 vols. Saunders, 2006.
- [37] “*Diffusion-weighted and Diffusion Tensor MR imaging*,” *IMAIOS*. [Online]. Disponível em: <http://www.imaios.com/en/e-Courses/e-MRI/Diffusion-Tensor-Imaging>. [Acedido a: 30-Ago-2012].
- [38] P. J. Bassler, J. Mattiello, and D. LeBihan, “*MR diffusion tensor spectroscopy and imaging*” *Biophys J*, vol. 66, no. 1, pp. 259–267, Jan. 1994.

- [39] T. R. Oakes, T. Johnstone, K. S. Ores Walsh, L. L. Greischar, A. L. Alexander, A. S. Fox, and R. J. Davidson, “*Comparison of fMRI motion correction software tools*” *Neuroimage*, vol. 28, no. 3, pp. 529–543, 2005.
- [40] T. Johnstone, K. S. Ores Walsh, L. L. Greischar, A. L. Alexander, A. S. Fox, R. J. Davidson, and T. R. Oakes, “*Motion correction and the use of motion covariates in multiple-subject fMRI analysis*” *Human brain mapping*, vol. 27, no. 10, pp. 779–788, 2006.
- [41] M. Jenkinson, P. Bannister, M. Brady, and S. Smith, “*Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images*” *Neuroimage*, vol. 17, no. 2, pp. 825–841, 2002.
- [42] Analysis Group, *FSL: FMRIB Software Library*. Oxford, UK: , 2012.
- [43] A. Rosset and J. Heuberger, *OsiriX Imaging Software*. .
- [44] J. N. Gageiro and M. H. Pestana, *Análise de Dados para Ciências Sociais - A complementaridade do SPSS*, 5ª ed. Edições Sílabo, 2008.
- [45] J. Maroco, *Análise Estatística com Utilização do SPSS*, 3ª ed. Edição sSílabo, 2007.

Anexos

Anexo A

Poster Electrónico apresentado no ESMRMB congress 2012

Encontra-se em anexo o poster electrónico submetido e aceite no congresso 2012 – *29th Annual Scientific Meeting*, organizado pela *European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology* (ESMRMB), realizado nos dias 4 a 6 de Outubro de 2012. O trabalho desenvolvido durante a presente dissertação foi tema seleccionado para comunicação oral na sessão *fMRI applications and methods - Poster Highlights Sessions*, cujo o título é “*BOLD MRI evaluation of the physiological changes of various leg muscles under intense exercise*”.

ESMRMB 2012

European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology

29th Annual Scientific Meeting,
October 4–6, Lisbon/PT



BOLD MRI evaluation of the physiological changes of various leg muscles under intense exercise

e-Poster: 102

Congress: ESMRMB 2012

Type: Scientific Poster

Topic: Preclinical Studies and Basic Science / Functional imaging (data analysis)

Authors: A.R.J. Pereira¹, J.N. Alves¹, S.S. Alves¹, M.F. Secca^{1, 2}, F. João³, A. Veloso³, M.D. Noseworthy⁴,
⁵, T. Nuno Jalles², C. Menezes²; ¹Caparica/PT, ²Lisboa/PT, ³Cruz Quebrada/PT, ⁴Hamilton/CA, ⁵
Hamilton, ON/CA

MeSH:

Muscle, Skeletal [A02.633.567]

Leg [A01.378.610.500]

Exercise [E02.403.500]

Keywords: Muscle, FMRI, BOLD, Exercise

Any information contained in this pdf file is automatically generated from digital material submitted to e-Poster by third parties in the form of scientific presentations. References to any names, marks, products, or services of third parties or hypertext links to third-party sites or information are provided solely as a convenience to you and do not in any way constitute or imply ESMRMB's endorsement, sponsorship or recommendation of the third party, information, product, or service. ESMRMB is not responsible for the content of these pages and does not make any representations regarding the content or accuracy of material in this file.

As per copyright regulations, any unauthorised use of the material or parts thereof as well as commercial reproduction or multiple distribution by any traditional or electronically based reproduction/publication method is strictly prohibited.

You agree to defend, indemnify, and hold ESMRMB harmless from and against any and all claims, damages, costs, and expenses, including attorneys' fees, arising from or related to your use of these pages.

Please note: Links to movies, ppt slideshows and any other multimedia files are not available in the pdf version of presentations.

www.esmrmb.org

1. Purpose

The BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) technique allows the non-invasive acquisition of functional images of muscle in real time [1,2]. Using BOLD, it is possible to evaluate the physiological changes of various leg muscles, assessing which muscles are more active and where hyperemia is more pronounced under intense physical exercise [2,3,4].

2. Material and Methods

Seven young healthy volunteers (average age: 24 years \pm 4), who regularly practice physical exercise, participated in this study. Imaging was conducted using a 1.5T GE Signa HD MRI (GE Healthcare, Milwaukee WI). Inside the scanner, leg immobilization was carried out using a purpose built support, avoiding gravitational-induced deformation of leg muscles against the table. Axial BOLD images were obtained through the lower leg using a Gradient-Echo EPI sequence (54 slices, 60 temporal points, TE/TR=35/3622ms, 64x64matrix, and 3.9mm thick). BOLD images were acquired prior to, and immediately following exercise outside of the scanner. In this study Density Proton images of the lower leg were acquired as anatomical images, using a Turbo Spin-Eco Gradient (54 slices, TE/TR=7.6/4140ms and 3.9mm thick). The exercise paradigm used was one-legged jump movements in a standing position, executed until exhaustion and making sure that volunteers always kept their hands on the hips. Image analysis was performed with Osirix.

Region of Interest (ROI) analysis of Tibialis Anterior (TA), Gastrocnemius Medial (GM) and Lateral (GL) and Soleus (S) muscles was done using Osirix, avoiding inclusion of fascia, fat or blood vessels. We obtained 60 temporal points for each BOLD acquisition, and analyzed only 10 axial slices of the superior part of the lower leg. This slice selection comprises the majority of muscle body, where were marked circular ROIs (0.63cm^2).

3. Results

During data acquisition at rest, BOLD signal intensity remained constant for all muscles studied. In all cases, the values at rest were normalized to 0%.

Post-exercise, all values increased with maximal change seen in Gastrocnemius Lateral (GL: $46.7\% \pm 18$), Gastrocnemius Medial (GM: $42.9\% \pm 16$) and Soleus (S: $38.2\% \pm 5$), and with minimal, although positive, change in Tibialis Anterior (TA: $6.9\% \pm 10$) (Figure 1). During the stage after exercise, a linear decrease in BOLD signal intensity was noticeable for almost all muscles. (Figure 2, 3, 4, 5). Some exceptions were verified where, instead of a linear decrease, some muscles experienced a decrease with a small curvature (Figure 5).

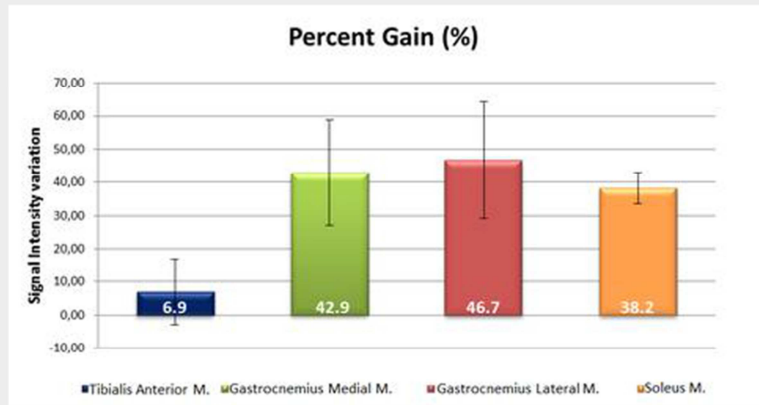


Figure 1: Percent gain obtained for muscle of the lower leg

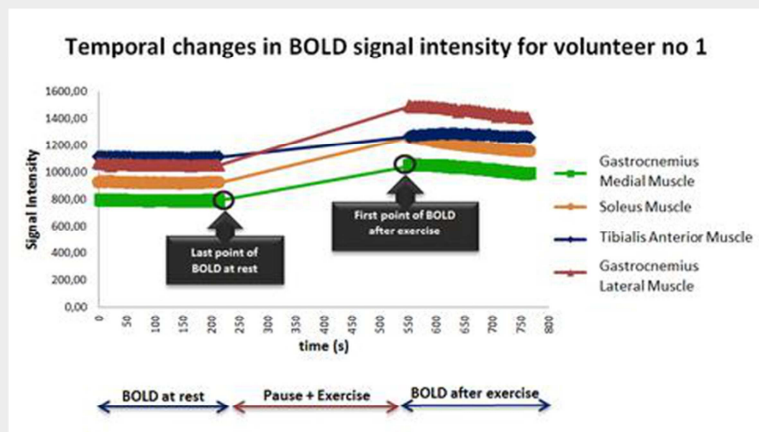


Figure 2: Temporal changes in BOLD signal intensity for volunteer number 1

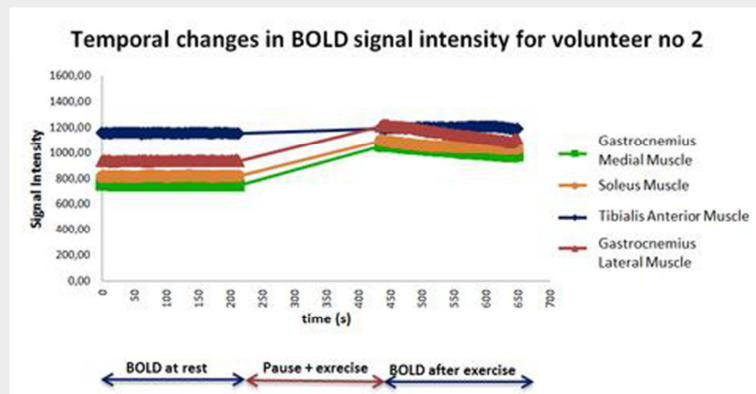


Figure 3: Temporal changes in BOLD signal intensity for volunteer number 2

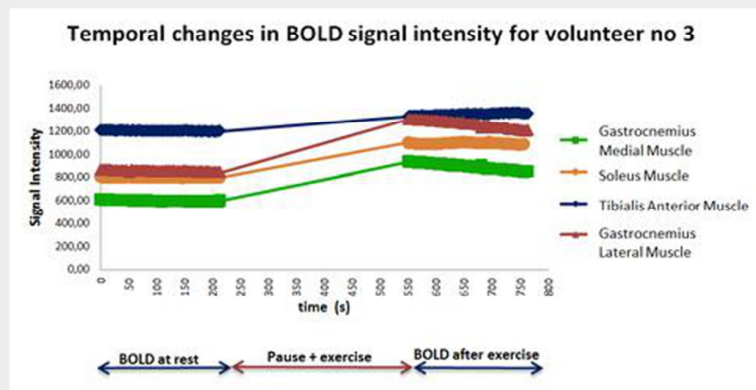
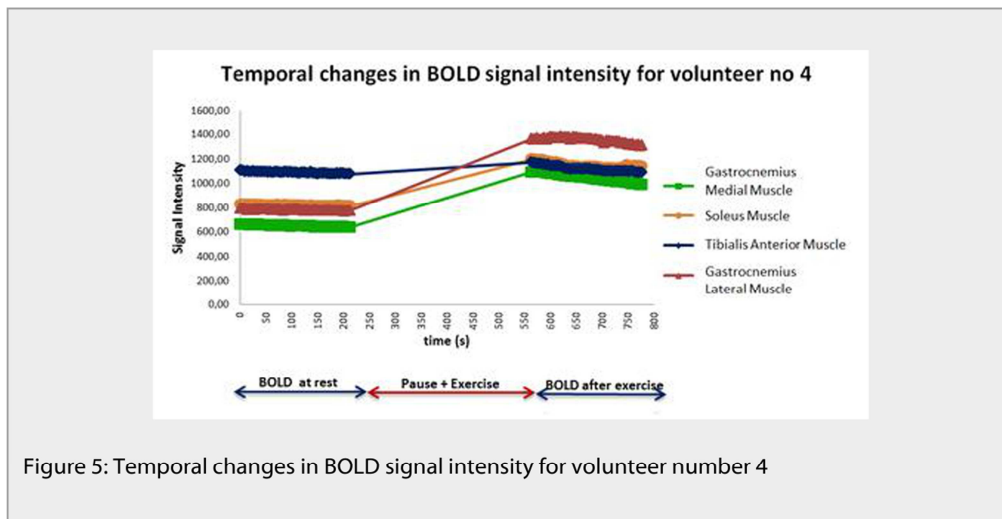


Figure 4: Temporal changes in BOLD signal intensity for volunteer number 3



4. Conclusion

All the volunteers exhibited similar patterns of exercise-induced BOLD signal intensity (SI) changes. For the type of exercise performed, there was an increase in signal intensity for all muscles. The Soleus and Gastrocnemius muscles were most solicited, showing the greatest change in oxygenation, as implied by the increased BOLD signal. This change is consistent with theory. Plantar flexion is executed during one-legged jump movements, and making reference only to the muscles included in this study, triceps surae muscles, Gastrocnemius and Soleus, are the most active ones and responsible for this movement [5]. Even so, the lower values obtained for Tibialis Anterior are accepted, being the participation of this muscle less evident for the type of exercise performed.

The percent gain for each muscle was obtained applying a simple formula: the difference between the first point SI value of BOLD after exercise and the last point SI value of BOLD at rest, divided for the last point SI value of BOLD at rest (See equation 1 and points marked in Figure 2). Then, the average value for each volunteer was obtained showing the total percent gain for each muscle.

$$\text{Percent gain (\%)} = \frac{(\text{first point SI value of BOLD after exercise} - \text{last point SI value of BOLD at rest})}{\text{last point of BOLD at rest}} \times 100$$

Equation 1: Percent gain

The BOLD values at rest were normalized to 0%, and from rest to post exercise stage, a gain increase was notable for all muscles.

BOLD images at rest and after exercise were acquired, with an average 5 minutes time delay. This interval proved sufficient for volunteers to get out of the MRI's table, to prepare themselves to perform the exercise, to perform it and then get back on the MRI's table. The exercise period lasted on average 1min30s.

In this study, the one-legged jump movement was chosen to be executed by healthy volunteers as a simple movement paradigm allowing the fast changes in BOLD signal intensity, the fast execution (few minutes) and acquisition.

In future, other types of exercise such as running, sprinting and cycling, performed by elite athletes, should be preferred.

The use of BOLD imaging has many potential applications in muscle exercise physiology, being useful for future modeling muscle effort during exercise of this nature, by a non-invasive technique.

Although the MRI is costly, it might be an alternative or complement to superficial methods or invasive techniques and future applications in muscle exercise pathophysiology may be envisioned.

References:

- [1] Meyer R. A., Prior B. M. "Functional magnetic resonance imaging of muscle," (2000) *Exerc Sport Sci Rev*, vol. 28(2), pp. 89–92.
- [2] Noseworthy M. D., Bulte D. P., Alfonsi J. "BOLD Magnetic Resonance Imaging of Skeletal Muscle," (2003) *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, vol. 7, pp. 307–315.
- [3] Hennig J., Schreiber A. "Time resolved observation of BOLD effect in muscle during isometric exercise".
- [4] Noseworthy M.D., Davis A.D., Elzibak A.H. "Advanced MR Imaging Techniques for Skeletal Muscle Evaluation," (2010) *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, vol. 14(2), pp. 257–268.
- [5] Pezarat-Correia P. *Aparelho Locomotor: Função Neuromuscular e Adaptações à Actividade Física* (2012), vol. 2, pp 113-131

Figura A. 1: Poster electrónico submetido para o *29th Annual Scientific Meeting* ESMRMB, na sessão *fMRI applications and methods - Poster Highlights Sessions*.

Apresento igualmente os slides expostos durante a exposição oral.

BOLD MRI evaluation of the physiological changes of various leg muscles under intense exercise

Ana Rita Justo Pereira, José N. Alves, Sérgio Alves, Mário Forjaz Secca, Filipa João, António Veloso, Michael Noseworthy, Nuno Jalles, Cristina Menezes

Departamento de Física, FCT/UNL, Univ. Nova de Lisboa, Portugal
Ressonância Magnética de Caselas, Lisboa

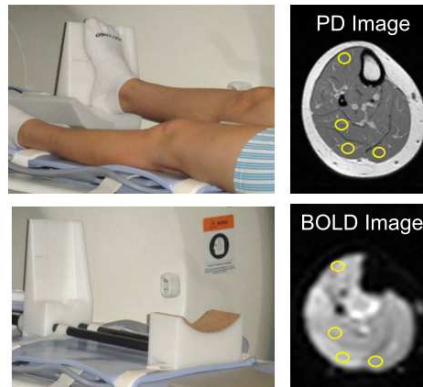
29th Annual Scientific Meeting ESMRMB, 4-6 October 2012 Lisbon



BOLD MRI in muscle

Methods

- 7 healthy volunteers
- Lower leg muscles
- Leg immobilization
- Circular ROIs marked by OsiriX



Acquisition details:

- 1.5T GE Signa HDxt MRI
- Gradient-Echo EPI sequence
- 54 slices, 60 temporal points
- TE/TR=35/3622ms

BOLD MRI in muscle

BOLD Aquisition at rest



Pause + Exercise

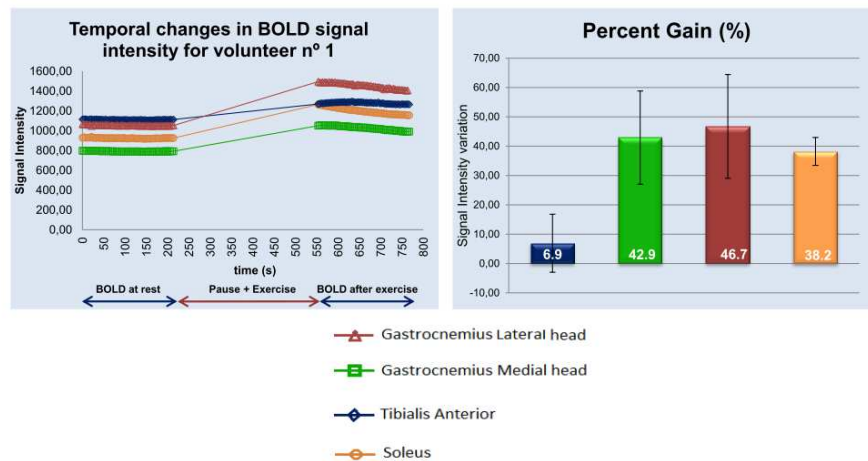


BOLD Aquisition after exercise

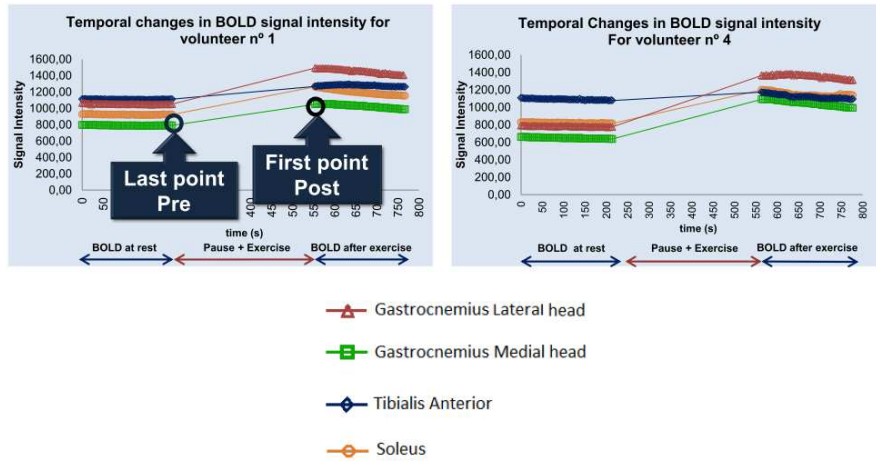


Results

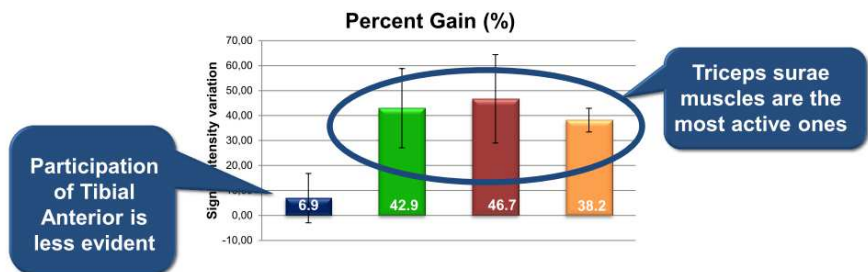
Temporal Changes in BOLD Signal and Percent Gain results for each muscle



Discussion and Conclusion



Discussion and Conclusion



- It was possible to evaluate the physiological changes and to know which muscles were more active under intense physical exercise, using BOLD technique.
- The use of BOLD imaging has many potential applications in muscle exercise physiology.

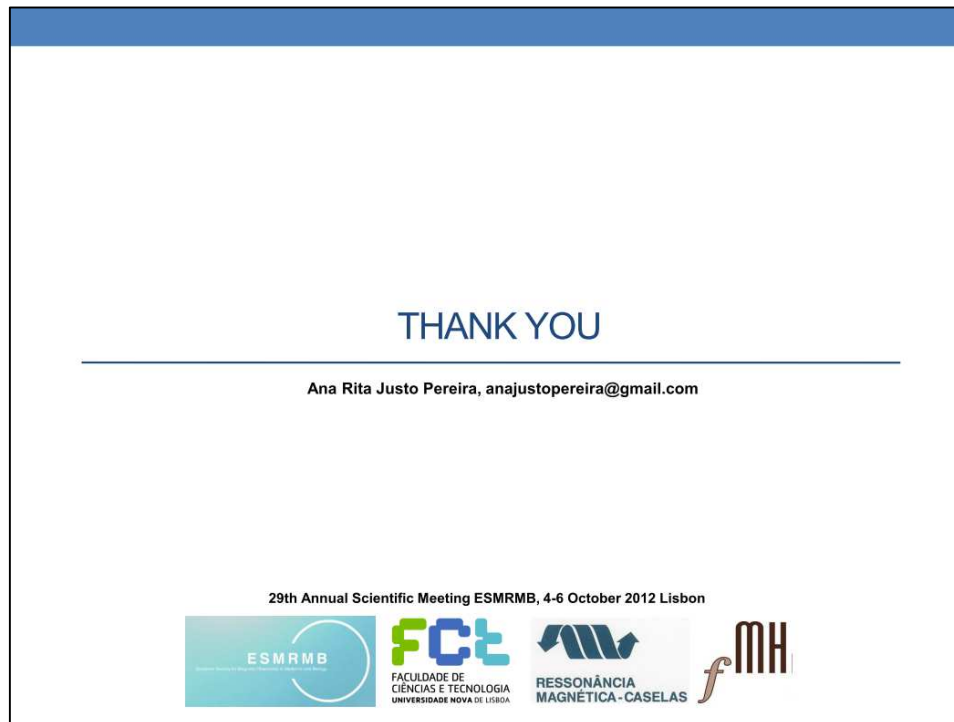


Figura A. 2: Slides apresentados durante a exposição oral no *29th Annual Scientific Meeting ESMRMB*, na sessão *fMRI applications and methods - Poster Highlights Sessions*

Anexo B

Caracterização da amostras de voluntários

Apresenta-se de seguida a descrição das idades e pesos dos voluntários que participaram no presente estudo.

Tabela B. 1: Idades e pesos dos voluntários.

Voluntário	1	2	3	4	5	6	7	Média	Desvio
Idade	20	23	35	22	30	23	30	26	6
Peso	55	74	69	53	60	55	67	62	8

Apresentação de exemplo de dados registados

Apresenta-se de seguida a tabela de registo dos valores médios de 10 cortes axiais da perna, para cada músculo de interesse e para os 60 volumes temporais, para o voluntário nº 1. Os dados registados foram retirados das imagens originais adquiridas, sem processamento de imagem.

Tabela B. 2: Tabela de registo dos valores médios de 10 cortes para cada músculo para o voluntário nº 1.

Valores médios de 10 cortes para cada músculo para 60 volumes temporais					Valores médios de 10 cortes para cada músculo para 60 volumes temporais				
Volumes temporais	Tibial Anterior	Gémeo Interno	Gémeo Externo	Solear	Volumes temporais	Tibial Anterior	Gémeo Interno	Gémeo Externo	Solear
1	1112,60	796,71	1064,50	927,70	31	1107,40	790,57	1048,67	920,50
2	1114,50	794,71	1062,50	931,50	32	1105,50	788,71	1052,67	920,50
3	1115,50	793,00	1062,83	929,80	33	1107,80	789,57	1051,33	924,00
4	1111,80	796,14	1060,00	927,60	34	1108,30	791,00	1053,00	922,70
5	1110,30	794,71	1056,83	929,70	35	1107,70	788,00	1050,50	920,80
6	1114,30	793,86	1061,83	929,40	36	1106,00	789,29	1049,00	918,90
7	1113,90	793,00	1046,33	936,90	37	1107,30	791,29	1048,00	920,20
8	1109,60	797,14	1060,17	927,50	38	1107,70	784,43	1053,17	921,70
9	1113,20	794,29	1056,17	925,50	39	1109,30	787,43	1047,67	919,60
10	1113,60	794,14	1058,67	926,40	40	1106,30	786,14	1049,00	919,30
11	1113,60	793,71	1055,83	928,50	41	1108,50	789,71	1049,17	916,90
12	1110,80	792,43	1056,83	926,10	42	1106,40	785,57	1047,83	917,30
13	1112,00	794,14	1053,83	925,30	43	1102,40	789,29	1048,50	919,40
14	1111,60	790,57	1056,33	925,50	44	1104,40	787,43	1049,67	918,00
15	1108,40	793,57	1053,33	921,50	45	1105,20	792,00	1050,83	918,90
16	1112,90	792,86	1056,00	924,80	46	1105,10	786,29	1044,67	917,50
17	1106,70	792,29	1058,50	925,10	47	1105,40	788,29	1046,33	920,70
18	1108,60	792,14	1051,83	921,40	48	1107,80	784,86	1048,50	919,80
19	1109,30	791,86	1052,17	923,10	49	1107,60	792,14	1049,83	922,30
20	1109,40	793,14	1053,83	925,20	50	1110,60	790,14	1048,67	920,70
21	1110,80	787,86	1052,67	922,00	51	1108,30	791,57	1047,67	921,80
22	1110,40	789,43	1048,83	922,90	52	1107,50	787,29	1048,83	919,30
23	1108,40	791,00	1051,33	923,00	53	1110,20	788,14	1047,83	923,80
24	1108,00	789,29	1052,00	924,00	54	1111,00	790,00	1049,67	926,50
25	1108,50	791,57	1048,00	924,80	55	1109,20	795,00	1049,00	924,90
26	1107,30	786,86	1052,50	923,00	56	1109,80	786,71	1049,00	923,80
27	1107,90	790,29	1050,83	921,50	57	1108,40	792,86	1048,00	923,70
28	1108,20	789,43	1051,17	926,90	58	1111,50	789,86	1048,17	925,20
29	1109,90	789,71	1049,33	921,50	59	1110,60	792,14	1052,50	923,70
30	1109,00	790,86	1049,50	919,50	60	1111,80	791,71	1052,00	925,00

Apresentação de dados estatísticos dos resultados

Nesta anexo são apresentadas em detalhe as tabelas relativas à descrição estatística de cada voluntário, onde são mencionadas os valores máximo, mínimo, média, variância e desvio padrão dos conjuntos de amostras em estudo, auxiliando na análise dos valores obtidos.

Quanto aos resultados não coerentes de sinal BOLD, os dados relativos aos dois voluntários analisados aleatoriamente são os seguintes:

Voluntário nº 3:

Tabela B. 3: Descrição estatística para os dados não concordantes do voluntário nº 3.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Variância	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	22200,4	22048,6	22134,9	849,2	29,1
	G. Interno	60	10702,7	10547,0	10606,1	455,6	21,3
	G. Externo	60	15079,8	14998,2	15038,5	314,2	17,7
	Solear	60	14838,9	14747,9	14798,7	316,1	17,8
Pós	Tibial Anterior	60	12324,5	12178,5	12250,2	381,4	19,5
	G. Interno	60	9764,3	9718,9	9737,3	103,2	10,2
	G. Externo	60	14192,6	13953,1	14082,7	784,1	28,0
	Solear	60	12971,8	12752,6	12914,4	1505,6	38,8

Voluntário nº 5:

Tabela B. 4: Descrição estatística para os dados não concordantes do voluntário nº 5.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Variância	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	13566,2	13464,4	13505,0	440,5	21,0
	G. Interno	60	10684,8	9668,8	9765,4	15897,4	126,1
	G. Externo	60	11210,7	10897,7	10983,5	2964,3	54,4
	Solear	60	13355,0	12872,7	13291,9	5927,2	77,0
Pós	Tibial Anterior	60	9769,7	9705,4	9727,7	204,4	14,3
	G. Interno	60	9413,7	9294,2	9352,0	1101,8	33,2
	G. Externo	60	7523,0	7390,2	7484,9	618,0	24,9
	Solear	60	10249,3	10000,6	10188,3	1442,0	38,0

A nova abordagem seguida, sem realizar o processamento de imagem deu origem aos seguintes resultados:

Voluntário nº 1:

Tabela B. 5: Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 1.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	1115,5	1102,4	1109,3	2,7
	G. Interno	60	797,1	784,4	790,8	3,0
	G. Externo	60	1064,5	1044,7	1052,1	4,6
	Solear	60	936,9	916,9	923,4	3,8
Pós	Tibial Anterior	60	1293,3	1262,1	1277,8	8,6
	G. Interno	60	1055,7	987,4	1026,2	21,2
	G. Externo	60	1494,0	1401,5	1452,1	28,6
	Solear	60	1263,6	1154,0	1198,2	32,5

Voluntário nº 2:**Tabela B. 6: Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 2.**

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	1157,6	1147,1	1154,6	2,0
	G. Interno	60	750,7	741,5	745,4	2,3
	G. Externo	60	941,0	925,3	934,0	2,7
	Solear	60	822,6	809,3	815,4	2,9
Pós	Tibial Anterior	60	1206,7	1181,5	1196,8	5,7
	G. Interno	60	1050,5	965,5	1008,7	26,3
	G. Externo	60	1218,3	1078,7	1150,6	40,7
	Solear	60	1094,8	1027,6	1051,6	18,9

Voluntário nº 3:**Tabela B. 7: Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 3.**

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	1206,8	1192,8	1200,1	3,3
	G. Interno	60	608,8	590,1	596,4	4,7
	G. Externo	60	864,4	842,9	853,5	5,3
	Solear	60	809,4	792,6	797,6	2,2
Pós	Tibial Anterior	60	1361,7	1329,3	1346,2	8,8
	G. Interno	60	935,7	846,2	892,0	26,7
	G. Externo	60	1303,2	1201,2	1257,4	32,2
	Solear	60	1103,4	1078,9	1091,0	6,0

Voluntário nº 4:

Tabela B. 8: Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 4.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	1107,3	1077,0	1091,0	7,6
	G. Interno	60	660,8	636,9	647,8	7,2
	G. Externo	60	792,6	770,2	781,2	5,1
	Solear	60	830,8	813,7	821,8	4,7
Pós	Tibial Anterior	60	1172,7	1090,2	1122,5	23,0
	G. Interno	60	1095,4	998,6	1046,5	31,8
	G. Externo	60	1383,6	1311,0	1355,4	21,2
	Solear	60	1199,8	1115,2	1148,6	23,7

Voluntário nº 5:

Tabela B. 9: Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 5.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	3862,1	3701,7	3813,6	25,8
	G. Interno	60	3158,0	3035,5	3098,3	32,3
	G. Externo	60	3615,0	3472,0	3523,9	25,9
	Solear	60	3593,2	3469,4	3562,6	17,5
Pós	Tibial Anterior	60	3906,5	3759,8	3841,2	41,3
	G. Interno	60	3965,0	3806,4	3914,1	39,2
	G. Externo	60	4777,3	3935,7	4354,6	236,2
	Solear	60	4731,9	4284,4	4546,7	141,3

Voluntário nº 6:**Tabela B. 10:** Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 6.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	966,9	947,5	953,2	2,7
	G. Interno	60	798,8	786,1	790,7	2,8
	G. Externo	60	947,7	931,3	940,8	3,9
	Solear	60	887,2	872,1	876,1	2,8
Pós	Tibial Anterior	60	1166,2	1115,1	1150,4	9,8
	G. Interno	60	1129,0	1092,0	1115,0	10,5
	G. Externo	60	1225,0	1144,7	1189,9	22,2
	Solear	60	1211,5	1131,6	1172,7	23,7

Voluntário nº 7:**Tabela B. 11:** Apresentação dos valores máximo, mínimo, média e desvio padrão dos dados do voluntário nº 7.

		N	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Pré	Tibial Anterior	60	998,4	983,6	988,4	4,1
	G. Interno	60	713,7	684,6	697,3	8,5
	G. Externo	60	833,0	800,4	811,6	9,7
	Solear	60	807,4	761,0	778,7	13,5
Pós	Tibial Anterior	60	906,8	891,5	898,7	3,2
	G. Interno	60	915,4	861,3	886,0	15,3
	G. Externo	60	1288,4	1183,6	1236,3	31,7
	Solear	60	1085,2	999,2	1041,2	23,2

Os dados obtidos para o ganho percentual de cada indivíduo assim como os valores máximo, mínimo, média dos ganhos dos sete voluntários e desvio padrão são apresentados em baixo:

Tabela B. 12: Valores obtidos de ganho percentual entre as fases pré e pós-exercício para os vários voluntários.

	1	2	3	4	5	6	7	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão
Tibial Anterior	14,1	3,3	11,0	8,8	-0,7	20,8	-8,9	20,8	-8,9	6,9	9,9
Gémeo Interno	32,6	40,9	55,5	71,5	25,3	42,5	32,1	71,5	25,3	42,9	15,9
Gémeo Externo	42,0	29,2	54,6	76,1	33,4	30,9	60,8	76,1	29,2	46,7	17,7
Solear	36,6	33,6	38,1	46,9	32,7	38,6	40,8	46,9	32,7	38,2	4,8

Tabela B. 13: Valor médio de cada voluntário, nas fases pré e pós-exercício para cada músculo.

Voluntário	Tibial Anterior		G. Interno		G. Externo		Solear	
	pré	pós	pré	pós	pré	pós	pré	pós
1	1109,27	1277,79	790,80	1026,17	1052,07	1452,15	923,42	1198,25
2	1154,61	1196,80	745,42	1008,71	934,0	1150,57	815,44	1051,63
3	1200,10	1346,24	596,37	891,98	853,5	1257,44	797,6	1090,96
4	1091,03	1122,47	647,76	1046,49	781,18	1355,43	821,77	1148,59
5	3813,62	3841,17	3098,3	3914,14	3523,88	4354,61	3562,58	4546,67
6	953,22	1150,42	790,7	1115,01	940,79	1189,86	876,06	1172,68
7	988,42	89,71	697,33	886,01	811,63	1236,25	778,67	1041,22

Anexo C

Aquisições na sessão BOLD e T₂

Neste anexo são apresentados os tempos de início de cada sequência e a ordem de aquisição seguida, em função do voluntário. Em relação à duração das sequências, a DP demorou 6 minutos, a T₂ 5min05s e a BOLD 3min48s.

Tabela C. 1: Tempos iniciais de cada sequência, consoante o voluntário.

	1	2	3	4	5	6	7
T ₂ Sup	22:05:18	20:46:07	20:46:53	22:34:20	21:25:50	22:10:42	20:32:35
T ₂ Inf	22:11:14	20:52:08	20:53:14	22:40:16	21:32:54	22:16:43	20:38:32
DP Sup	22:17:22 22:25:31	20:58:09	20:59:41	22:46:22	21:40:09	22:22:38	20:44:39 0:52:59
DP Inf	22:32:17	21:04:58	21:07:00	22:53:09	21:46:00	22:29:31	20:59:41
BOLD Sup	22:39:33	21:12:47	21:14:13	23:01:13	21:51:49	22:36:38	21:07:22
BOLD Inf	22:44:15	21:17:22	21:18:58	23:05:56	21:56:26	22:41:21	21:11:50
BOLD Sup	22:53:29	21:24:38	21:28:09	23:15:22	22:06:31	22:46:25	21:16:39
BOLD Inf	22:58:56	21:30:05	21:32:45	23:19:54	22:11:12	22:54:52	21:27:00
T ₂ Sup	23:03:29	21:34:42	21:37:24	23:24:29	22:15:50	22:59:31	21:31:55
T ₂ Inf	23:09:16	21:40:28	21:43:11	23:30:15	22:21:37	23:05:17	21:37:42
DP Sup	23:15:11	21:46:17	21:49:04	23:36:01	22:27:27	23:11:08	21:43:29
DP Inf	23:21:58	21:53:09	21:56:21	23:42:49	22:34:19	23:18:02	21:50:17

Ana Rita Lindo dos Santos Justo Pereira

Outubro 2012