



Sérgio Saraiva Alves

Licenciado em Radiologia

**Avaliação por Imagem de Ressonância Magnética
das alterações estruturais e fisiológicas dos músculos
da perna após exercício**

Dissertação para obtenção do Grau de Doutoramento em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professor Doutor Mário António Basto Forjaz Secca, FCT-UNL

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



Fevereiro 2016



Sérgio Saraiva Alves

Licenciado em Radiologia

**Avaliação por Imagem de Ressonância Magnética
das alterações estruturais e fisiológicas dos músculos
da perna após exercício**

Dissertação para obtenção do Grau de Doutoramento em
Engenharia Biomédica

Orientador: Professor Doutor Mário António Basto Forjaz Secca, FCT-UNL

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



Fevereiro 2016

Avaliação por Imagem de Ressonância Magnética das alterações estruturais e fisiológicas dos músculos da perna após exercício

Copyright©2016 - Todos os direitos reservados. Sérgio Saraiva Alves. 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.

“The important thing is not to stop questioning.”

Albert Einstein

“I was taught that the way of progress is neither swift nor easy.”

Marie Curie

Agradecimentos

A elaboração desta dissertação representa o final de um longo percurso. Tal como todas as viagens, este percurso foi constituído por pontos altos em que a paisagem foi partilhada com algumas pessoas em momentos de alegria e camaradagem... e por outros... pontos baixos em que essas mesmas pessoas me apoiaram, aconselharam, ajudaram ou simplesmente partilharam umas pequenas palavras, que me permitiram seguir em frente e ultrapassar os obstáculos presentes.

Assim, tenho a agradecer ao meu Orientador, o Prof. Dr. Mário Forjaz Secca, por aceitar a minha participação neste grande projecto, pela simpatia e boa disposição, pelos ensinamentos prestados e aconselhamento nas direcções a tomar. Da mesma forma, agradeço a disponibilidade e amabilidade do Prof. Dr. António Prieto Veloso, por me receber em sua casa – na FMH, e disponibilizar os meios necessários para a elaboração deste estudo.

À Prof. Dra. Cláudia Quaresma, um muito obrigado pelo apoio e motivação, pelas palavras amigas e disponibilidade oferecida.

À minha colega doutoranda e amiga, Andreia Duarte, pela companhia e partilha das várias etapas académicas realizadas ao longo do 1ºano e pela subjacente motivação e ajuda no restante percurso.

Estes agradecimentos estendem-se aos mestrandos Ana Rita Pereira, José Nuno Alves e Flávio Rocha, que embora terem participado no projecto num curto período de tempo, deixaram no entanto o seu impacto.

Tive também o privilégio de pertencer a duas instituições de elevada qualidade científica, se por um lado a FCT foi a casa-mãe, a FMH acabou por ser a minha casa adoptiva. Assim, deixo aqui as minhas palavras de agradecimento às pessoas que aí se cruzaram comigo, destacando a Sílvia Cabral, a Liliana Aguiar, a Vera Moniz-Pereira e a Prof. Dra. Filomena Carnide. A todas elas, um muito obrigado pelos sorrisos, ajudas várias e companhia nos diferentes congressos e eventos.

No entanto, tenho que destacar uma pessoa que se tornou uma grande conselheira e acima de tudo uma amiga exemplar, a Filipa João. Um grande obrigado por todo o apoio cedido, aconselhamento e quantidade de conversas experienciadas, especialmente nas fases mais críticas deste projecto. A constante disponibilidade, ajuda e amizade, nunca serão esquecidas.

Ao Prof. Dr. Michael Noseworthy da McMaster University (Canada) e ao seu doutorando Andrew Davis, agradeço as produtivas sessões de partilha e troca de ideias, lamentando o facto de terem sido poucas e demasiado curtas.

À equipa da Clínica de Ressonância Magnética de Caselas, em particular ao Dr. Nuno Jalles e à Técnica de Radiologia Cristina Menezes, um obrigado pela colaboração na obtenção e realização de todas as imagens de RM e testes necessários.

Agradeço também de forma carinhosa o apoio da minha família. Destaco em especial os meus pais, a quem agradeço todo o amor e apoio incondicional dado durante este percurso e em toda a minha vida. Um grande e profundo obrigado.

Não posso deixar de aqui também referir os meus amigos: Ivo Carvalho, Raquel Carreira, Duarte Pires, Vasco Martins, Inês Santos e Cláudia Morais. Obrigado por todas as vossas palavras reconfortantes de apoio e constante amizade.

Por fim, mas sem por isso ser menos sentido, quero agradecer à Paula Faria, pela compreensão e paciência, carinho e felicidade, por me acompanhar nos bons e maus momentos do dia-a-dia, e acima de tudo, por ser a pessoa que é e por me tornar na pessoa que sou. Obrigado.

Sérgio Saraiva Alves

Resumo

Esta dissertação tem como objectivo principal avaliar por IRM as alterações arquitectónicas e funcionais dos músculos mais importantes da perna quando submetidos a um protocolo de exercício intenso.

Para esse fim, foram utilizadas técnicas avançadas de imagem específicas tais como o DTI, o BOLD e a relaxometria T_2 . Estas técnicas forneceram-nos de forma não-invasiva diversas informações *in vivo* e em tempo real sobre os tecidos musculares. Para além destas, também foram utilizadas sequências ponderadas em DP que serviram de referência anatómica e das quais também foram retirados dados arquitectónicos.

Participaram neste estudo seis jovens atletas saudáveis do sexo feminino. Os músculos analisados foram o tibial anterior, os gastrocnémios (medial e lateral) e o solear. As diversas sequências de imagem foram adquiridas em duas fases distintas: pré e pós-exercício. O protocolo de exercício constou numa série de saltos unipedais realizados até à exaustão.

Depois de adquiridas, as imagens foram processadas e tratadas com *scripts* dedicados e/ou *software* especializado. Os valores obtidos através da delimitação de ROIs, manipulação das imagens em 3D e execução de tractografias permitiram-nos apreciar as alterações ocorridas nos músculos exercitados.

Após tratamento estatístico, verificou-se um comportamento semelhante entre os músculos nas várias técnicas de imagem. O ADC, o sinal BOLD e o valor de T_2 variaram de forma equivalente nos músculos gastrocnémios e solear (agonistas no exercício praticado), enquanto que no tibial anterior estas variações foram menores ou inclusivamente negativas.

Quanto aos dados arquitectónicos registados de forma directa na imagem ou obtidos através do DTI, não verificamos alterações estatisticamente significativas na maior parte das variáveis, à excepção do comprimento médio das fibras, do CSA e do ângulo de penetração de alguns músculos.

A IRM consegue assim avaliar a estrutura e função do músculo, complementando ou substituindo cada vez mais outras técnicas mais invasivas ou ineficazes.

Palavras-chave: músculo, DTI, BOLD, relaxometria, exercício.

Abstract

This study aims to evaluate through MRI architectural and functional changes of the most important leg muscles when subjected to an intense exercise protocol.

To this end, specific advanced imaging techniques were used such as DTI, BOLD and T_2 relaxometry. These techniques provide us various *in vivo* and real-time information on muscle tissues in a non-invasive way. Apart from these, we also used PD-weighted sequences that served as anatomical reference and which were also used to obtain architectural data.

The sample consisted of six healthy young female athletes. The muscles studied were the tibialis anterior, the gastrocnemius (medial and lateral) and the soleus. The various imaging sequences were acquired in two phases: before and after exercise. The exercise protocol consisted of a series of unipedal jumps performed to total exhaustion.

Once acquired, the images were processed and handled by dedicated scripts and / or specialized *software*. The values and data obtained through the delimitation of ROI, the manipulation of images in 3D and the tracking of fibers enabled us to appreciate the resulting changes in the exercised muscles.

After statistical analysis, a similar behavior was found between the muscles in the various imaging techniques. The ADC, the BOLD signal and the T_2 value varied equivalently in the gastrocnemius and soleus muscles (agonists in this specific exercise), whereas in the tibialis anterior these variations were smaller or even negative.

As for architectural data obtained directly on the different images or from the DTI procedure, we found no statistically significant changes in most of the variables, except for average fiber length, CSA and pennation angle of some muscles.

MRI can thus assess the structure and function of muscles, complementing or increasingly replacing other more invasive or ineffective techniques.

Keywords: muscle, DTI, BOLD, relaxometry, exercise.

Índice

Índice de Figuras	xix
Índice de Tabelas	xxv
Lista de Acrónimos	xxvii
1. Introdução	1
1.1. Enquadramento	1
1.2. Estrutura da Tese	5
2. O músculo	7
2.1. Citologia / Histologia	8
2.2 Anatomia	12
2.3. Fisiologia	14
2.3.1. Contração muscular	17
2.3.2. A fadiga muscular.....	19
2.4. Anatomia da perna	20
2.4.1. Solear	22
2.4.2. Gastrocnémio	22
2.4.3. Tibial Anterior	22
3. Imagem por ressonância magnética	23
3.1. Princípios básicos.....	23
3.1.1. Magnetização, precessão e relaxamento nuclear	23
3.1.2. Mecanismo de contraste, T_1 , T_2 e DP	26
3.1.3. Sequências de pulso	29
3.1.3.1. Sequência Spin-Eco	29
3.1.3.2. Sequência Eco de Gradiente	32
3.1.3.3. Sequências associadas a gradientes de difusão	33
3.1.3.1. DTI.....	35
3.1.4. Formação de imagem e espaço-k.....	36
3.1.5. SNR, resolução espacial e tempo de aquisição	41
3.1.6. Artefactos de imagem	43

3.1.6.1. Artefacto de susceptibilidade magnética.....	43
3.1.6.2. Artefacto de fluxo.....	44
3.2. Técnicas avançadas de imagem – DTI, BOLD e T ₂	45
3.2.1. DTI – <i>Diffusion Tensor Imaging</i>	45
3.2.1.1. Breve perspectiva histórica	45
3.2.1.2. Princípios básicos da difusão.....	47
3.2.1.3. Pâmetros do DTI: ADC, FA, <i>eigenvalues</i> e <i>eigenvectors</i>	50
3.2.1.4. Tractografia	53
3.2.1.5. Difusão em tecidos biológicos.....	55
3.2.1.6. Limitações e artefactos.....	56
3.2.1.6.1. Artefactos de correntes de <i>eddy</i>	56
3.2.1.6.2. Artefactos de movimento.....	57
3.2.1.6.3. Artefactos associados às sequências EPI	59
3.2.1.6.3.1. Correntes de <i>eddy</i> e “N/2 <i>ghosting</i> ”	59
3.2.1.6.3.2. Os artefactos de desvio químico.....	61
3.2.1.6.4. Artefactos relacionados com tractografia.....	62
3.2.2. BOLD.....	63
3.2.2.1. Princípios teóricos	64
3.2.2.2. BOLD em tecidos biológicos	65
3.2.3. Relaxometria T ₂	67
4. Metodologia	69
4.1. Caracterização da amostra de voluntários.....	69
4.2. Protocolo de estudo	70
4.2.1. Protocolo geral de estudo	70
4.2.1.1. Protocolo de exercício.....	71
4.2.1.2. Protocolo de RM.....	71
4.2.1.2.1. DP.....	73
4.2.1.2.2. DTI.....	74
4.2.1.2.2.1. Selecção do valor “b”	75
4.2.1.2.3. BOLD.....	77

4.2.1.2.4. Relaxamento T_2	77
4.2.2. Estudos preliminares.....	78
4.2.2.1. Aquisição de imagens de “ambas as pernas” vs. “perna dominante”.....	78
4.2.2.2. Criação de um suporte para a perna.....	79
4.2.2.3. Avaliação da recuperação dos parâmetros obtidos por DTI, BOLD e T_2	85
4.2.2.4. Impacto do NEX e número de direcções de difusão em DTI.....	89
4.2.2.5. Influência do tipo de ROI na tractografia e resultados obtidos.....	91
4.3. Processamento de Imagem.....	96
4.3.1. Corecção de artefactos e co-registo de imagens.....	97
4.3.2. Processamento avançado.....	98
4.4. Análise dos dados e imagens.....	98
4.4.1. Tractografia e parâmetros do DTI.....	98
4.4.2. Sequência BOLD.....	104
4.4.3. Comportamento do T_2	105
4.4.4. Cálculo de dados musculares estruturais e arquitectónicos.....	109
4.4.4.1. CSA, PCSA, comprimento do músculo e volume muscular.....	109
4.4.4.2. Ângulo de penação.....	109
4.4.4.3. Comprimento das fibras musculares.....	112
4.4.5. Análise estatística.....	112
5. Resultados Experimentais.....	113
5.1. Sujeito A.....	115
5.1.1. DTI.....	115
5.1.2. BOLD.....	116
5.1.3. Relaxometria T_2	117
5.1.4. Dados Arquitectónicos.....	119
5.2. Sujeito B.....	120
5.2.1. DTI.....	120
5.2.2. BOLD.....	121
5.2.3. Relaxometria T_2	123
5.2.4. Dados Arquitectónicos.....	124

5.3. Sujeito C	125
5.3.1. DTI.....	125
5.3.2. BOLD.....	126
5.3.3. Relaxometria T ₂	128
5.3.4. Dados Arquitectónicos	129
5.4. Sujeito D	131
5.4.1. DTI.....	131
5.4.2. BOLD.....	132
5.4.3. Relaxometria T ₂	133
5.4.4. Dados Arquitectónicos	135
5.5. Sujeito E	136
5.5.1. DTI.....	136
5.5.2. BOLD.....	137
5.5.3. Relaxometria T ₂	139
5.5.4. Dados Arquitectónicos	140
5.6. Sujeito F	141
5.6.1. DTI.....	141
5.6.2. BOLD.....	142
5.6.3. Relaxometria T ₂	143
5.6.4. Dados Arquitectónicos	145
5.7. Análise Global	146
5.7.1. DTI.....	146
5.7.2. BOLD.....	149
5.7.3. Relaxometria T ₂	150
5.7.4. Dados Arquitectónicos	151
5.7.5. Comparação entre as três técnicas de IRM.....	155
6. Discussão dos resultados.....	157
6.1. DTI.....	157
6.2. BOLD.....	159
6.3. Relaxometria T ₂	160

6.4. Dados arquitectónicos.....	161
6.5. Discussão geral dos resultados	162
6.6. Limitações do estudo	164
7. Conclusões	167
Bibliografia.....	169

Índice de Figuras

Figura 2.1: Os três tipos de tecidos musculares vistos através do microscópio.

Figura 2.2: Representação do filamento grosso (miosina) e do filamento fino (actina).

Figura 2.3: Músculo estriado visto através do microscópio.

Figura 2.4: Representação esquemática da estrutura do músculo estriado.

Figura 2.5: Representação da unidade básica contráctil de um músculo – o sarcómero.

Figura 2.6: Organização e disposição das miofibrilas.

Figura 2.7: Enervação muscular.

Figura 2.8: Tipos de músculos segundo a orientação dos seus fascículos.

Figura 2.9: Subtipos de músculos penados.

Figura 2.10: Representação esquemática do CSA em três tipos de músculos: fusiforme, unipenado e bipenado.

Figura 2.11: Contração muscular.

Figura 2.12: Representação esquemática das pontes cruzadas e do processo de ligação da miosina à actina.

Figura 2.13: Vistas laterais dos músculos da perna.

Figura 2.14: Acções musculares a nível da tibiotársica.

Figura 2.15: Vistas posteriores dos músculos da perna ao longo de dissecção progressiva em profundidade.

Figura 3.1: O momento magnético.

Figura 3.2: Orientação dos momentos magnéticos.

Figura 3.3: Relaxamento T_1 .

Figura 3.4: Esquema representado o relaxamento transversal.

Figura 3.5: Relaxamento T_2 .

Figura 3.6: *Free Induction Decay*.

Figura 3.7: Sequência Spin-Eco (SE).

Figura 3.8: Esquema demonstrativo do efeito do pulso de refasamento de 180° .

Figura 3.9: Sequência Turbo Spin-Eco (TSE).

Figura 3.10: Sequência Spin-Eco sensibilizada à difusão com o auxílio de gradientes (G_{diff}).

Figura 3.11: Sequência EPI ponderada com difusão, através do método introduzido por Stejskal e Tanner.

Figura 3.12: Seleção de corte.

Figura 3.13: Espessura de corte.

Figura 3.14: Codificação de frequência.

Figura 3.15: Codificação de fase.

Figura 3.16: Preenchimento do espaço-k de forma linear.

Figura 3.17: Preenchimento do espaço-k em sequências EPI.

Figura 3.18: A matriz, o píxel e o vóxel.

Figura 3.19: Exemplo de artefacto de susceptibilidade magnética.

Figura 3.20: Artefacto de fluxo.

Figura 3.21: Difusão simulada de uma molécula única – “*random-walk*”.

Figura 3.22: Distribuição probabilística Gaussiana de distâncias de difusão moleculares.

Figura 3.23: ADC e representação esquemática de tipos de difusão.

Figura 3.24: Elipsóides de difusão.

Figura 3.25: *Eigenvalues* e *eigenvectors* nas elipsóides de difusão.

Figura 3.26: Difusão representada num mapa de cores – corte axial do crânio.

Figura 3.27: Esquema demonstrando a reconstrução tractográfica.

Figura 3.28: Artefactos relacionados com a presença de correntes *eddy*.

Figura 3.29: Exemplo de artefacto de movimento.

Figura 3.30: A influência das correntes de eddy nos pulsos de gradientes.

Figura 3.31: *N/2 Ghosting*.

Figura 3.32: Exemplo de artefacto de desvio químico.

Figura 3.33: Esquema demonstrando erro na orientação do tracto.

Figura 3.34: A origem do sinal BOLD.

Figura 3.35: Modelo representativo do comportamento do sinal BOLD após activação em estudos funcionais cerebrais.

Figura 3.36: Modelo representativo da resposta à activação em estudos do cérebro. Resposta ao nível do fluxo sanguíneo, volume sanguíneo e saturação, consumo de O₂ e sinal de intensidade BOLD.

Figura 4.1: Protocolo de exercício utilizado – saltos unipedais.

Figura 4.2: Posicionamento do sujeito na mesa de exame com perna apoiada em suporte “*home-made*” e bobine colocada e fixa à mesa de exame.

Figura 4.3: Imagem de RM obtida durante os primeiros testes aquando da aquisição das duas pernas em simultâneo.

Figura 4.4: Imagens de RM da perna com diversas ponderações: DP, T_1 e T_2 .

Figura 4.5: A influência do valor de “b” na imagem.

Figura 4.6: Relação entre SNR e o índice de densidade de fibras.

Figura 4.7: Imagem de DTI obtida através da aquisição simultânea de ambas as pernas.

Figura 4.8: Vista lateral do suporte da perna.

Figura 4.9: Vista superior do suporte da perna.

Figura 4.10: Vista anterior do suporte da perna e vista 3D do suporte da perna.

Figura 4.11: Suporte da perna colocado na sua posição no equipamento de RM.

Figura 4.12: Perna a estudar colocada sobre o suporte.

Figura 4.13: Posicionamento final da perna sobre o suporte e das bobines de RF.

Figura 4.14: Protocolo de estudo utilizado por Nyger *et al.* no seu estudo das transferências e comportamento da água nas pernas aquando do exercício.

Figura 4.15: Comportamento do ADC ao longo do tempo (em minutos) na perna esquerda (referência; não-exercitada) e na perna direita (exercitada).

Figura 4.16: Direcções de gradiente.

Figura 4.17: Exemplos de marcações de ROI's.

Figura 4.18: Outros exemplos de marcações de ROI's.

Figura 4.19: Exemplos de tractografias originadas através de diferentes tipos de ROI's.

Figura 4.20: Outros exemplos de tractografias originadas através de diferentes tipos de ROI's.

Figura 4.21: Janela principal do TrackVis aquando da abertura de um ficheiro “*.trk”.

Figura 4.22: Janela principal do TrackVis com tractografia associada ao volume de imagens anatómicas.

Figura 4.23: Janela principal do TrackVis com delimitação de ROI's.

Figura 4.24: Delimitação de ROI's no TrackVis.

Figura 4.25: Tractografia do TA em vista posterior.

Figura 4.26: Janela “Statistics” relativa ao ADC.

Figura 4.27: Janela “Statistics” relativa ao FA.

Figura 4.28: Cápsula utilizada para calibração nas sequências T_2 .

Figura 4.29: Gráfico com as diferentes intensidades registadas a diferentes TE (em escala logarítmica).

Figura 4.30: Gráfico com as intensidades da cápsula de calibração registadas em DP e T_2 (em escala logarítmica).

Figura 4.31: Gráfico demonstrando a diferença entre o declive da recta determinado durante o cálculo do valor de T_2 da cápsula de calibração e o declive da recta obtido com base nas intensidades de sinal e TE das sequências DP e T_2 de dado sujeito (em escala logarítmica).

Figura 4.32: Cálculo do ângulo de penação no TrackVis.

Figura 4.33: Vista ampliada da figura 4.32 onde podemos verificar a determinação do ângulo de penação do TA de determinados sujeito através de ferramenta própria existente no *software* TrackVis.

Figura 4.34: Vista aproximada das fibras do GL em vista póstero-externa.

Figura 4.35: Janela “Statistics” relativa ao comprimento das fibras.

Figura 5.1: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito nº 1.

Figura 5.2: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 1.

Figura 5.3: T_2 registado nos quatro músculos do sujeito nº 1 antes e após realização de exercício.

Figura 5.4: Variação sofrida pelo T_2 nos quatro músculos do sujeito nº 1 após realização do protocolo de exercício.

Figura 5.5: Intensidades do sinal BOLD registadas antes e depois do exercício, nos quatro músculos em estudo do sujeito nº 2.

Figura 5.6: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 2.

Figura 5.7: Valores de T_2 registados nos quatro músculos do sujeito nº 2 pré e pós-realização de exercício.

Figura 5.8: Ganho percentual do valor de T_2 nos quatro músculos do sujeito nº 2 após realização do protocolo de exercício.

Figura 5.9: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito nº 3.

Figura 5.10: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 3.

Figura 5.11: Valores de T_2 registados antes e depois do protocolo de exercício nos quatro músculos do sujeito nº 3.

Figura 5.12: Variação dos valores de T_2 nos quatro músculos do sujeito nº 3 após exercício.

Figura 5.13: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito nº 4.

Figura 5.14: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 4.

Figura 5.15: T_2 registado nos quatro músculos do sujeito nº 4 antes e após realização de exercício.

Figura 5.16: Variação percentual ocorrida nos valores de T_2 nos quatro músculos do sujeito nº 4 após realização do protocolo de exercício.

Figura 5.17: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito nº 5.

Figura 5.18: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 5.

Figura 5.19: T_2 medido nos quatro músculos do sujeito nº 5 antes e após realização de exercício.

Figura 5.20: Variação dos valores T_2 dos quatro músculos do sujeito nº 5 após esforço.

Figura 5.21: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito nº 6.

Figura 5.22: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito nº 6.

Figura 5.23: T_2 registado nos quatro músculos do sujeito nº 6 antes e após realização de exercício.

Figura 5.24: Variação sofrida pelo T_2 nos quatro músculos do sujeito nº 6 após exercício.

Figura 5.25: Valores de FA médio pré e pós-exercício (A) e respectivos ganhos percentuais (B).

Figura 5.26: ADC médio calculado para os diferentes músculos em estudo antes e depois do exercício (A) e variação percentual correspondente (B).

Figura 5.27: λ_1 médio antes e depois do exercício (A) e ganho percentual correspondente (B).

Figura 5.28: Valores de λ_2 médio pré e pós-exercício (A) e respectivos ganhos percentuais (B).

Figura 5.29: λ_3 médio calculado para os quatro músculos estudados (A) e variação correspondente (B).

Figura 5.30: Valores de intensidade média do sinal BOLD antes e depois da execução do protocolo de exercício (A) e relativo ganho percentual (B).

Figura 5.31: Valores de T_2 médio calculados para os diferentes músculos avaliados antes e depois do exercício (A) e correspondente variação percentual (B).

Figura 5.32: Volume muscular médio dos músculos pré e pós-exercício (A) e respectivo ganho percentual (B).

Figura 5.33: O CSA médio dos quatro músculos (A) e ganho percentual respectivo (B).

Figura 5.34: Valores de PCSA médio para os diferentes músculos nas duas aquisições distintas (A) e correspondente variação percentual (B).

Figura 5.35: Comprimento médio das Fibras Musculares antes e depois do exercício (A) e ganho percentual respectivo (B).

Figura 5.36: Ângulo de Penação médio para os quatro músculos em estudo (A) e ganho percentual correspondente (B).

Figura 5.37: Comprimento do Músculo médio dos quatro músculos em estudo.

Figura 5.38: Comparação entre os ganhos percentuais das três diferentes técnicas de imagem (T_2 , BOLD e o ADC proveniente do estudo DTI) para os quatro músculos estudados.

Índice de Tabelas

Tabela 2.1: Os três tipos de músculos – características e diferenças.

Tabela 2.2: Tipos de fibras musculares – “*slow-twitch*” e “*fast-twitch*”.

Tabela 4.1: Caracterização da amostra quanto à idade, altura e massa corporal.

Tabela 4.2: Tabela de direcções de gradiente de difusão utilizada neste estudo.

Tabela 4.3: Tempos T_1 e T_2 de vários tecidos (a 1,5T).

Tabela 4.4: Parâmetros principais das sequências utilizadas neste estudo.

Tabela 4.5: Sequências utilizadas na avaliação do impacto do NEX e do número de direcções de gradiente utilizados no estudo DTI dos músculos da perna.

Tabela 5.1: FA e ADC quatro músculos em estudo pré e pós-exercício.

Tabela 5.2: Os três *eigenvalues* obtidos antes e depois do exercício para os quatro músculos em estudo do sujeito nº 1.

Tabela 5.3: Volume muscular e comprimento das fibras médio obtido pré e pós-exercício para os quatro músculos analisados do sujeito nº 1 e suas respectivas variações percentuais.

Tabela 5.4: CSA e PCSA calculados para os diferentes músculos em estudo antes e após a realização do protocolo de exercício pelo sujeito nº 1.

Tabela 5.5: Ângulo de penação e comprimento muscular observados nos músculos do sujeito nº1.

Tabela 5.6: Valores de FA e ADC pré e pós-exercício e respectivo ganho percentual, para os quatro músculos em estudo do sujeito nº 2.

Tabela 5.7: Resultados obtidos para os três *eigenvalues*, nos músculos do sujeito nº 2, antes e depois do protocolo de exercício.

Tabela 5.8: Volume muscular e comprimento das fibras médio obtido antes e depois do exercício (Sujeito nº 2).

Tabela 5.9: CSA máximo e PCSA dos músculos em estudo do sujeito nº 2 antes e depois de submetidos ao exercício, com respectiva variação percentual.

Tabela 5.10: Ângulo de Penação médio verificado pré e pós-esforço e comprimento muscular dos quatro músculos, no sujeito nº 2.

Tabela 5.11: FA e ADC obtidos para o sujeito nº 3 antes e depois do exercício.

Tabela 5.12: Os três *eigenvalues* pré e pós-esforço dos músculos do sujeito nº 3

Tabela 5.13: Valores obtidos pré e pós-exercício para o volume muscular e comprimento médio das fibras musculares relativas ao sujeito nº 3.

Tabela 5.14: CSA máximo e PCSA obtidos nos músculos do sujeito nº 3.

Tabela 5.15: Ângulos de penação registados nos quatro diferentes músculos antes e depois do exercício e comprimento muscular respectivo (sujeito nº 3).

Tabela 5.16: FA e ADC quatro músculos em estudo pré e pós-exercício, com respectivo ganho percentual na terceira coluna de cada variável (sujeito nº 4).

Tabela 5.17: Os três *eigenvalues* pré e pós-exercício, no caso do sujeito nº 4.

Tabela 5.18: O volume muscular e o comprimento das fibras dos quatro músculos em estudo, no caso do sujeito nº 4.

Tabela 5.19: O CSA e o PCSA antes e depois do esforço intenso, dos músculos do sujeito nº4.

Tabela 5.20: Ângulo de Penação e comprimento dos vários músculos para o sujeito nº 4.

Tabela 5.21: Valores de FA e ADC medidos pré e pós-exercício nos quatro músculos da perna dominante em estudo do sujeito nº 5.

Tabela 5.22: Os três *eigenvalues* registados antes e depois do esforço no sujeito nº 5.

Tabela 5.23: Volume muscular e comprimento das fibras obtido nos quatro músculos do sujeito nº 5, bem como os respectivos ganhos percentuais.

Tabela 5.24: Valores de CSA máximo e PCSA calculados antes e depois do exercício para o sujeito nº 5.

Tabela 5.25: Ângulos de Penação e comprimento muscular dos músculos do sujeito nº 5.

Tabela 5.26: Valores de FA e ADC registados para os músculos do sujeito nº 6, antes e depois da realização do protocolo de exercício.

Tabela 5.27: Os três *eigenvalues* pré e pós-exercício, para o sujeito nº 6.

Tabela 5.28: Volume muscular e comprimento das fibras antes e depois do exercício, para os músculos analisados do sujeito nº 6.

Tabela 5.29: Valores de CSA e PCSA calculados nos músculos do sujeito nº 6.

Tabela 5.30: Valores de Ângulos de Penação medidos no sujeito nº 6 antes e depois do exercício, e comprimento muscular dos quatro músculos em estudo.

Lista de Acrónimos

- ADC** *Apparent Diffusion Coefficient*, Coeficiente de Difusão Aparente.
- ATP** Adenosine triphosphate.
- B₀** Campo magnético estático principal.
- BOLD** *Blood Oxygenation Level Dependent*.
- CIPER** Centro Interdisciplinar de Estudo da Performance Humana
- CSA** *Anatomical Cross-sectional Area*, Área de Secção Transversal.
- DP** Densidade Protónica
- DTI** *Diffusion Tensor Imaging*, Imagem por Tensor de Difusão.
- DWI** *Diffusion-weighted Imaging*, Imagem com ponderação em difusão.
- EMG** Electromiografia.
- EPI** *Echo Planar Imaging*, Imagem Eco-Planar.
- FA** *Fractional Anisotropy*, Anisotropia Fraccional.
- FACT** *Fiber assignment by continuous tracking*.
- FCT** Faculdade de Ciências e Tecnologia.
- FMH** Faculdade de Motricidade Humana.
- FoV** *Field of View*, Campo de Visão.
- FSE** *Fast Spin Echo*.
- GE** *Gradient Echo*, Eco de Gradiente.
- GL** Gastrocnémios Lateral.
- GM** Gastrocnémios Medial.
- Hb** Desoxihemoglobina.
- HbO₂** Oxihemoglobina.
- IRM** Imagem por Ressonância Magnética.
- LCR** Líquido cefalorraquidiano.
- M₀** Vector de magnetização efectivo.
- M_{xy}** Vector de magnetização transversal.
- M_z** Vector de magnetização longitudinal.
- NEX** Número de excitações.
- N_y** Número de codificações de fase.
- PCSA** *Physiological Cross-sectional Area*, Área de Secção Transversal Fisiológica.
- RF** Radiofrequência.
- RM** Ressonância Magnética.
- RMN** Ressonância Magnética Nuclear.
- ROI** *Region of Interest*, Região de Interesse.
- SAR** *Specific Absorption Rate*, Taxa Específica de Absorção.
- SE** *Spin Echo*, Eco de Spin.
- SNR** *Signal-to-Noise Ratio*, Razão Sinal-Ruído.
- SOL** Solear.
- TA** Tibial Anterior.
- TC** Tomografia Computorizada.
- T₁** Tempo de relaxamento *spin/rede*
- T₂** Tempo de relaxamento *spin/spin*
- TE** Tempo de Eco
- TSE** *Turbo Spin Echo*.
- TR** Tempo de Repetição.
- US** Ultrassonografia.

1. Introdução

1.1. Enquadramento

A arquitectura do músculo esquelético que é definida como o “arranjo das fibras musculares relativas ao eixo de geração de força” [1] é o determinante principal do comportamento mecânico dos músculos esqueléticos [2]. As fibras musculares diferem nas suas propriedades mecânicas, histológicas, morfológicas, bioquímicas e biomecânicas, permitindo que possam assim desempenhar diversas funcionalidades.

Na produção de força existem vários parâmetros arquitectónicos musculares a ter em conta tais como o comprimento de fibras, a área de secção transversal (ACSA¹ ou simplesmente CSA), área de secção transversal fisiológica (PCSA²) e o ângulo de penetração. O PCSA é mais importante do que o CSA já que o primeiro é o parâmetro arquitectónico que é directamente proporcional à máxima força originada pelo músculo, já que tem em conta o ângulo de penetração [1, 3].

Modelos computacionais do sistema músculo-esquelético são cada vez mais usados nos estudos dos mecanismos de performance muscular em atletas de alta competição e na simulação de condições específicas a que estes atletas possam estar sujeitos. No entanto, os dados anatómicos incorporados nestes modelos computacionais são usualmente recolhidos em estudos com base em cadáveres [4, 5, 6, 7]. Claro que esta situação não é ideal já que após a morte os tecidos biológicos sofrem diversos processos de decomposição e alterações não-colmatáveis que irão condicionar e originar erros nos dados recolhidos, resultando em simulações computacionais que não se encontram próximas da realidade que se pretende avaliar.

Estas bases de dados dão-nos uma compreensão dos princípios gerais da função muscular mas a sua correspondência à performance muscular individual não está ainda bem definida.

¹ Do inglês. *Anatomical Cross-Sectional Area*.

² Do inglês. *Physiological Cross-Sectional Area*.

Para além disso e tendo em conta a população alvo deste estudo – jovens atletas – é muito provável que a informação recolhida de espécimes cadavéricos não reflecta de forma precisa todos os parâmetros arquitectónicos importantes para a performance muscular de sujeitos jovens e saudáveis.

Para além disso, estes modelos biomecânicos assumem uma similaridade geométrica entre pessoas e tomam as propriedades arquitectónicas como estatísticas, não acompanhando assim as alterações estruturais e fisiológicas individuais que ocorrem aquando da aplicação de cargas e instalação do processo de fadiga.

É neste contexto de optimização dos modelos computacionais e avaliação de parâmetros arquitectónicos de músculos esqueléticos de jovens atletas de alta performance que surge um projecto proposto à Fundação para a Ciência e Tecnologia pelo Professor António Veloso intitulado “Desenvolvimento de metodologias experimentais e de modelação para a avaliação de carga mecânica no sistema músculo-esquelético” (PTDC_DES_103178_2008). Este foi desenvolvido pelo grupo de Neuromecânica do Movimento Humano (NMH) do Centro Interdisciplinar de Estudo da Performance Humana (CIPER/FMH/UTL) sediado na Faculdade de Motricidade Humana (FMH), em colaboração com a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL) e a Clínica de Ressonância Magnética de Caselas. O CIPER especializou-se na avaliação das alterações estruturais, funcionais e de controlo neuromuscular do sistema músculo-esquelético, em resposta à aplicação de carga mecânica cíclica, de intensidade moderada ou elevada no sistema.

Este projecto engloba uma equipa multidisciplinar que pretende através da utilização de diversas técnicas como a Imagem por Ressonância Magnética (IRM), a ultrassonografia (US), a electromiografia (EMG), a sonoelastografia e a captura de movimentos, colmatar as dificuldades referidas anteriormente no que se refere aos dados arquitectónicos usados em modelação biomecânica. Cada técnica possui vantagens e desvantagens, complementando-se entre si, e assim cada uma delas produzirá resultados que serão comparados e incorporados num modelo biomecânico final, ajustado a atletas de alta competição.

Da responsabilidade do autor desta dissertação e conseqüentemente do âmbito da investigação descrita nesta tese consta toda a parte relativa à IRM. A IRM é uma técnica que permite o estudo da morfologia muscular a três dimensões, permitindo o cálculo de parâmetros arquitectónicos como a CSA e o volume muscular de forma muito acessível e precisa, já que a IRM nos apresenta imagens anatómicas *in vivo*, em tempo muito próximo do real e de fácil reconstrução multiplanar. De notar que a tomografia computadorizada (TC) também possui essas características (apesar de que as imagens relativas a tecidos moles em geral e músculos em particular não possuírem a mesma qualidade que em IRM), no entanto esta utiliza radiação ionizante e como tal não é aconselhável em estudos *in vivo*.

Até ao aparecimento da IRM e ao desenvolvimento de técnicas mais adaptadas ao estudo de tecidos musculares sob o ponto de vista estrutural e fisiológico, a maior parte das investigações da arquitectura muscular, avaliação da performance muscular e determinação das

consequências do exercício no tamanho e força dos músculos eram realizados através da US [8, 9, 10, 11, 12]. No entanto, esta técnica possui diversas limitações que reduzem a sua potencialidade. As medidas/imagens obtidas são essencialmente planares e de reduzido alcance, limitando a sua utilização a músculos superficiais. Este facto implica que fibras musculares mais longas sejam impossíveis de ser medidas directamente tendo que ser estimadas por regressão. Outros parâmetros arquitectónicos como o volume, CSA e PCSA ou ainda o ângulo de penação podem ser mesmo impossíveis ou em alguns casos muito difíceis de ser obtidos. A IRM por outro lado consegue obter esta informação.

Mas a grande vantagem da IRM é que para além da informação anatómica obtida de forma quase directa, permite com o auxílio de técnicas mais avançadas e complexas tais como a Imagem por Tensor de Difusão (DTI³), o BOLD (acrónimo inglês para *Blood Oxygenation Level Dependent*) e a relaxometria T₂, a exploração de características funcionais e arquitectónicas a nível dos tecidos e células em estudo.

O estudo presente nesta dissertação possuiu diversas fases: a selecção do grupo de voluntários, preparação e desenvolvimento da metodologia do estudo, realização de diversos estudos preliminares de forma a otimizar o protocolo de exame e aspectos relacionados, aquisição das imagens de ressonância magnética (RM) e finalmente o tratamento e análise dos resultados. Durante o percurso, esta investigação teve a colaboração com maior ou menor impacto de diversos elementos: Professor Doutor António Prieto Veloso da FMH como responsável do projecto; Professor Doutor Mário Forjaz Secca, orientador do autor desta dissertação e responsável pela componente da imagem por RM; os alunos de doutoramento Sérgio Saraiva Alves (autor desta tese) por parte da FCT e Filipa Oliveira João da FMH; Ana Rita Pereira e José Nuno Alves, alunos de mestrado da FCT; Professor Doutor Michael Noseworthy e o seu doutorando Andrew Davids, da Universidade McMaster do Canada e colaboradores no projecto; e por fim, Dr. Nuno Jalles Tavares (médico radiologista) e a Técnica de Radiologia Cristina Menezes, membros da equipa ligada à Clínica de Ressonância Magnética de Caselas.

Neste estudo foram estudados seis atletas voluntários com prática regular de exercício e sem patologia músculo-esquelética, todos do sexo feminino e com idades compreendidas entre 21 e 34 anos.

O processo de aquisição de imagens de RM anatómicas e funcionais foi realizado para cada sujeito em dois dias diferentes. Uma sessão foi dedicada ao BOLD e à relaxometria T₂, sendo que na outra sessão foi efectuado o DTI. Em cada dia, o sujeito do estudo realizava duas aquisições de imagens anatómicas e funcionais, separadas entre si por um protocolo de exercício baseado na realização de saltos unipedais até à obtenção de fadiga muscular. Desta forma foi possível estudar a influência e as consequências do exercício na estrutura e arquitectura muscular.

³ Do inglês. *Diffusion Tensor Imaging*.

Os dados obtidos através de todas as técnicas foram depois processados através de diversos algoritmos computacionais e *software* dedicado, sendo posteriormente analisados estatisticamente e comparados entre si. Daí obtiveram-se todos os dados arquitectónicos procurados e necessários à implementação do modelo biomecânico, objectivo principal deste trabalho.

Pretendeu-se desta forma e com este estudo responder às seguintes questões:

- Será possível avaliar qualitativamente e quantitativamente as características estruturais e arquitectónicas dos músculos da perna e verificar as suas alterações após a realização de exercício físico intenso com recurso à IRM?
- Quais são as alterações e ajustamentos arquitectónicos sofridos pelos músculos quando submetidos a um protocolo de exercício físico intenso com subsequente instalação do processo de fadiga?
- Serão os dados obtidos através das diferentes técnicas, DTI, BOLD e relaxometria T_2 , semelhantes em termos qualitativos, demonstrando um consenso quanto às alterações sofridas pelo músculo após a realização do exercício físico?

É de referir que diversas partes do trabalho realizado durante o percurso desta investigação foram apresentadas em eventos científicos nacionais e internacionais e/ou seleccionadas para publicação.

Assim, destacam-se os seguintes: o artigo publicado no *Journal of Biomechanics* em 2012 intitulado de “*Recovery of Leg Muscle ADC and FA after fatigue (Work in Progress)*” [13]; a comunicação oral realizada no *29th Annual Scientific Meeting of the European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology (ESMRMB 2012)* em Outubro de 2012 com o título de “*The Assessment of the Effect of Fatigue on Muscle Architecture through Diffusion Tensor Imaging (DTI) Parameters*”; o poster electrónico “*The use of diffusion tensor imaging (DTI) on the evaluation of architectural changes of the lower leg muscles when submitted to intense fatigue*” presente no *European Congress of Radiology (ECR 2013)* realizado em Março de 2013 em Vienna, Austria; a co-autoria do capítulo de livro intitulado de “*Multimodal MRI Evaluation of Physiological Changes on Leg Muscles due to Fatigue after Intense Exercise*” existente no livro “*XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013*” publicado pela *Springer International Publishing* [14].

1.2. Estrutura da Tese

A presente dissertação encontra-se dividida em seis capítulos. Nestes são desenvolvidos diversos aspectos que permitem uma melhor compreensão da investigação realizada, tanto quanto à sua fundamentação teórica e identificação dos respectivos objectivos de estudo, como a nível da descrição da metodologia aplicada e os resultados obtidos. Estes capítulos são por vezes apoiados com figuras, tabelas e equações que permitem uma melhor compreensão dos vários tópicos descritos no texto.

No capítulo referente ao músculo (capítulo 2) são descritos os tipos de músculos existentes e as suas características distintivas, com um enfoque nos músculos esqueléticos. Aspectos histológicos, estruturais e funcionais dos tecidos musculares são também explorados, passando-se depois a uma visão mais macroscópica e a uma exploração da anatomia geral dos músculos, caracterização das fibras musculares e sua fisiologia.

Neste capítulo são ainda analisados as características arquitectónicas próprias dos músculos, o mecanismo da contracção muscular e a instalação da fadiga muscular. O capítulo termina por fim com uma pequena descrição da anatomia dos músculos da perna e caracterização dos seus músculos e acções motoras, especialmente no que respeita os quatro músculos alvo desta investigação.

No capítulo seguinte (capítulo 3) dá-se uma pequena revisão da Imagem por Ressonância Magnética. São explicados os princípios físicos básicos desta técnica e descrição das principais sequências de pulso existentes. Matérias mais técnicas tais como a formação da imagem, a razão sinal-ruído e a resolução espacial, entre outras, também são explicadas neste capítulo. De seguida são retratados os principais artefactos de imagem que podem ocorrer em estudos de Imagem por Ressonância Magnética, sendo mencionadas as suas características e alguns exemplos de técnicas utilizadas para a sua redução ou eliminação.

Este capítulo possui ainda uma análise mais detalhada das técnicas avançadas de Imagem por Ressonância Magnética – o DTI, o BOLD e a relaxometria T_2 . É apresentada uma breve perspectiva histórica do DTI e são retratados alguns princípios básicos e conceitos mais teóricos desta técnica tais como: os parâmetros DTI (ADC, FA, *eigenvalues* e *eigenvectors*), a tractografia, limitações e artefactos associados e esta técnica. No caso do BOLD e da relaxometria T_2 também são descritos os princípios teóricos por detrás de cada técnica e a sua respectiva interpretação fisiológica.

Segue-se o capítulo onde é descrita a metodologia de estudo (capítulo 4). Aqui é caracterizada a amostra de estudo, os diferentes protocolos utilizados e as diversas etapas realizadas desde a aquisição das imagens até a obtenção dos resultados propriamente dita. Em grande destaque, são descritos também os diversos estudos preliminares que foram realizados de forma a permitir a definição do protocolo de estudo final e do método usado para a obtenção dos resultados.

Os resultados experimentais são apresentados no capítulo seguinte (capítulo 5). São enumerados os resultados obtidos nas diversas técnicas de Imagem por Ressonância Magnética em cada sujeito, bem como no conjunto destes. São feitas neste capítulo comparações entre os resultados dos diversos sujeitos nos quatro músculos em estudo, entre cada técnica e entre as aquisições pré e pós-exercício e subsequente instalação dos efeitos da fadiga.

No capítulo (capítulo 6) são discutidos os resultados. São referidas possíveis explicações para os fenómenos e resultados observados, sendo estes últimos relacionados com os resultados verificados em outros estudos semelhantes. As limitações da presente investigação são aqui também identificados, bem como as sugestões e propostas para estudos futuros.

Por fim, no último capítulo (capítulo 7) são apresentadas as conclusões deste estudo de investigação.

2. O músculo

Os músculos são estruturas que se podem dividir em três categorias – esquelético, cardíaco e liso. Os tecidos que constituem estes músculos têm formas e propriedades que diferem entre si, já que estes possuem funções muito distintas (Figura 2.1) (Tabela 2.1).

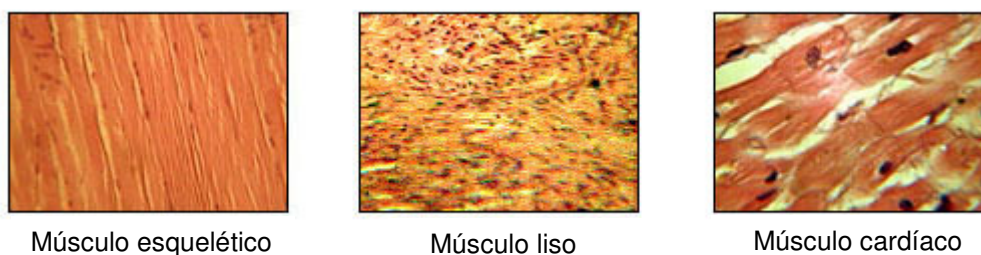


Figura 2.1: Os três tipos de tecidos musculares vistos através do microscópio – Músculo Esquelético, Músculo Liso e Músculo Cardíaco. Adaptado de [15].

Tabela 2.1: Os três tipos de músculos – Características e diferenças. Adaptado de [16].

	Músculo Esquelético	Músculo Liso	Músculo Cardíaco
Fibras	Cilíndricas	Fusiformes	Ramificadas
Tamanho das fibras	≤ 15 cm	≤ 0,2 mm	-
Mitocôndrias	Poucas (variado)	Poucas	Muitas
Núcleos por fibra	Múltiplos	1	1
Sarcómeros	Sim, ≤ 3,65 μm	Não	Sim, ≤ 2,6 μm
Retículo endoplasmático	Altamente desenvolvido	Pouco desenvolvido	Moderadamente desenvolvido
Placas motoras	Sim	Não	Não
Resposta a estímulo	Graduado	Tudo ou Nada	Variado
Tétano alcançável?	Sim	Sim	Não

Do âmbito desta dissertação fazem parte os músculos esqueléticos, sendo que só estes vão ser analisados mais a fundo neste capítulo. Neste tipo de músculos ocorrem fenómenos com óbvia importância na performance atlética ou simplesmente na habilidade de um indivíduo exercer as suas actividades do dia-a-dia, não descurando factores como a idade ou existência de condicionamento físico.

Para poderem exercer as suas funções, todos os músculos possuem as seguintes características:

- Excitabilidade – Capacidade de responder a estímulos externos.
- Condutibilidade – Capacidade de transmitir um estímulo ao longo de toda célula de modo a que este tenha efeito em localizações mais distantes.
- Contractilidade – Essencial nos músculos, esta característica representa a capacidade que células musculares têm em se contraírem substancialmente quando estimuladas.
- Extensibilidade – Em oposição ao ponto anterior, as células musculares são também extensíveis, evitando que haja rupturas quando esticadas.
- Elasticidade – Esta característica representa a capacidade que as células musculares têm em regressar ao seu comprimento de repouso após libertação de tensão.

2.1. Citologia / Histologia

O tecido muscular é composto por células alongadas que contraem quando estimuladas. Estas células são essencialmente dispositivos especializados na transformação de energia química em energia mecânica contráctil.

As fibras musculares possuem múltiplos núcleos achatados contra o interior da membrana plasmática, reflexão do seu desenvolvimento embrionário em que várias células estaminais – mioblastos – se fundem para produzir cada fibra muscular, com cada mioblasto a contribuir com o seu núcleo para a célula madura.

A membrana plasmática – designada por sarcolema – possui invaginações que atravessam a fibra de um lado para emergir do lado oposto formando assim túbulos transversais (túbulos T). A função destes é a de conduzir corrente eléctrica de uma superfície da célula para o seu interior quando esta é estimulada. O citoplasma – sarcoplasma – é ocupado quase na totalidade por longos conjuntos de proteínas apelidadas de miofibrilas com cerca de 1 μm de diâmetro cada. [17, 18, 19]. As miofibrilas encontram-se tão compactadas entre elas dentro da fibra muscular que outros organitos celulares ficam restritos a espaços citoplasmáticos muito pequenos e situados entre miofibrilas adjacentes. No sarcoplasma também encontramos uma abundância de glicogénio que pode fornecer energia armazenada ao músculo durante o

exercício e um pigmento vermelho a que se dá o nome de mioglobina e que fixa oxigénio até que este seja requisitado pela actividade muscular.

O reticulo endoplasmático das células musculares – reticulo sarcoplasmático – forma uma rede à volta de cada miofibrila, exibindo dilatações saculares juntamente dos túbulos T chamadas de cisternas terminais. Este reticulo armazena iões de cálcio que ao serem libertados estimulam as células musculares, provocando a sua contracção.

Cada miofibrila é composta por uma colecção de microfilamentos proteicos paralelos designados por miofilamentos. Estes podem ser de três tipos:

- **Filamento grosso** (Figura 2.2.A) – constituídos por centenas de proteínas de miosina e com diâmetro cerca de 110 Å. [18].
- **Filamento fino** (Figura 2.2.B) – compostos maioritariamente por duas cadeias encadeadas de proteínas de actina, mas também por algumas moléculas de tropomiosina e de troponina [19]. Estes filamentos possuem normalmente cerca de 50-60 Å de diâmetro [18].
- **Filamento elástico** – Com um diâmetro de 1 nm, estes filamentos são constituídos por titina, uma proteína responsável por manter os filamentos grosso e finos alinhados uns com os outros e por provocar o retorno ao tamanho de repouso de fibras distendidas [17].

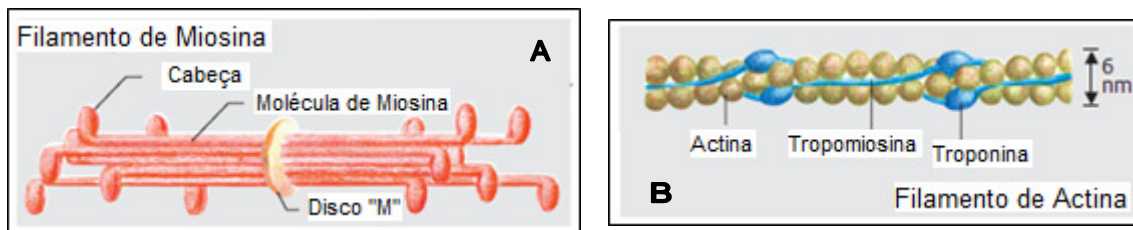


Figura 2.2: Representação do filamento grosso – miosina (A) e do filamento fino – actina (B). Adaptado de [16].

A miosina e a actina são consideradas as proteínas contracteis dos músculos pois são responsáveis pela contracção das fibras musculares, enquanto que a tropomiosina e a troponina passam a ser as proteínas reguladoras já que determinam quando é que a fibra muscular pode ou não contrair [17, 19].

O arranjo e sobreposição destas proteínas contracteis internas dão origem a um padrão característico das células/fibras musculares (presente nos músculos esqueléticos e cardíaco), onde se podem visualizar alternadamente um padrão de bandas claras e escuras (Figura 2.3). É por causa deste facto que estas células são consideradas células estriadas [18, 19, 20].

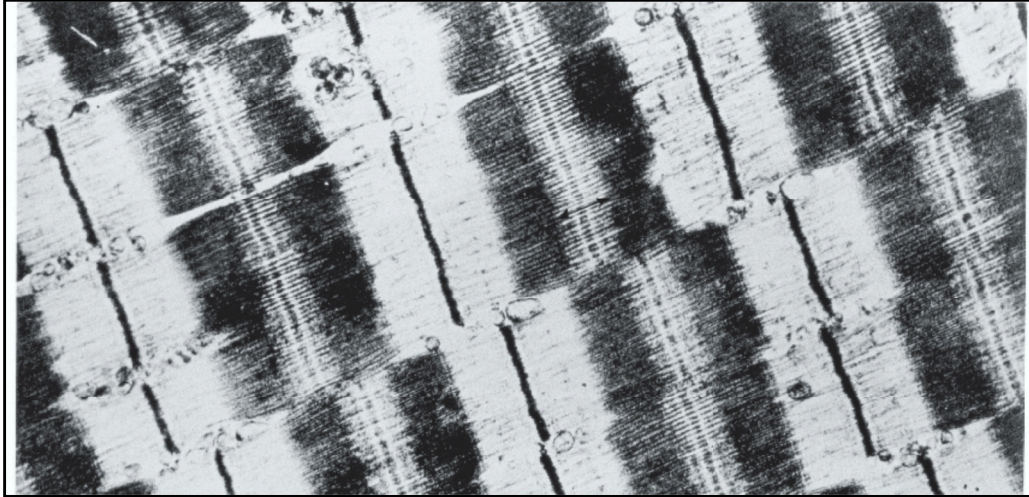


Figura 2.3: Músculo estriado visto através de microscópio. Adaptado de [18].

O músculo estriado possui assim “bandas A” escuras que alternam com “bandas I” claras. Cada “banda A” consiste num conjunto de filamentos grossos dispostos lado-a-lado. Parte da “banda A” (as suas extremidades) em que se sobrepõem filamentos grossos e finos é particularmente escura. No meio da “banda A” existe ainda uma região chamada de “banda H” correspondente à uma área não alcançada pelos filamentos finos e que assim se apresenta mais clara. No centro da banda “H” surge uma pequena linha escura denominada de linha “M” que corresponde a uma região com proteínas onde se encontram ligados os dois filamentos grossos. Cada “banda I” é ainda dividida por um estreito “disco Z” que proporciona um local de ancoragem para o filamento fino e filamento elástico de titina, sendo que este último se estende até a linha “M” (Figura 2.4). [17, 19].

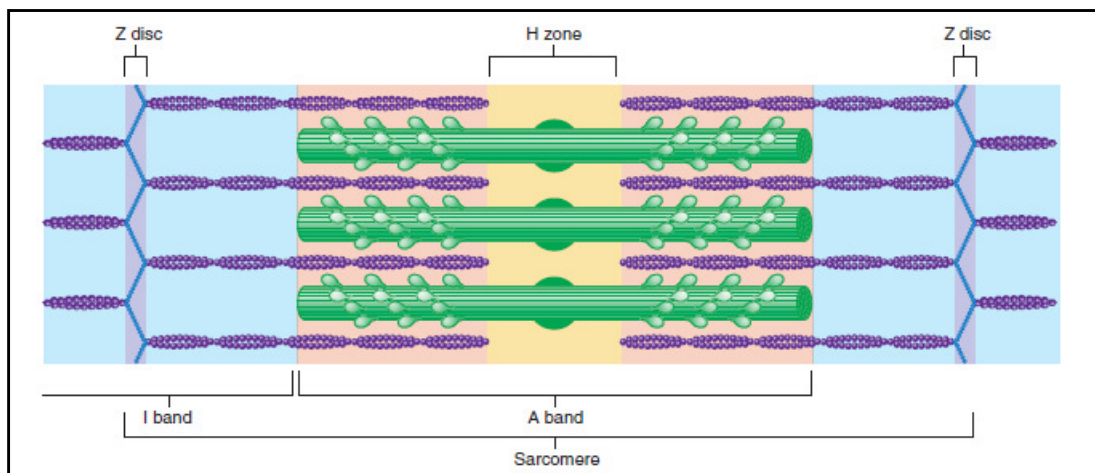


Figura 2.4: Representação esquemática da estrutura do músculo estriado. Adaptado de [18].

Chegamos assim à unidade funcional contráctil de uma fibra muscular – o sarcómero. O sarcómero é o segmento da miofibrila que vai de um “disco Z” a outro “disco Z” vizinho (Figura

2.5). São estes sarcômeros que ao contraírem e ao aproximarem os “discos Z” um de outro, puxando-os, levam ao encurtamento do músculo macroscopicamente.

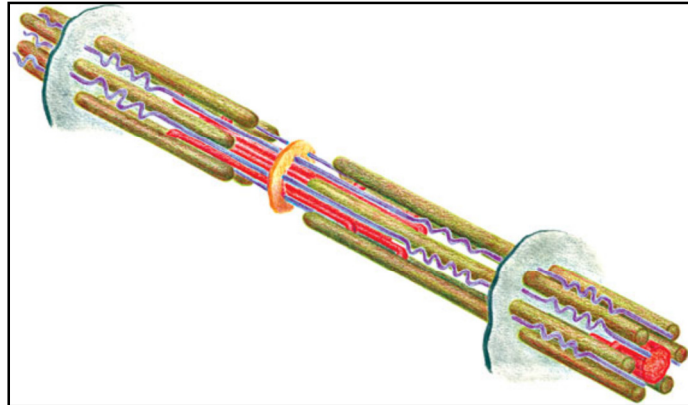


Figura 2.5: Representação da unidade básica contrátil de um músculo – o sarcômero. Adaptado de [16].

Quando representados em secção, cada filamento grosso encontra-se rodeado por um arranjo hexagonal de seis filamentos finos enquanto estes possuem à sua volta um arranjo triangular de três filamentos grossos (Figura 2.6.A e 2.6.B) [19].

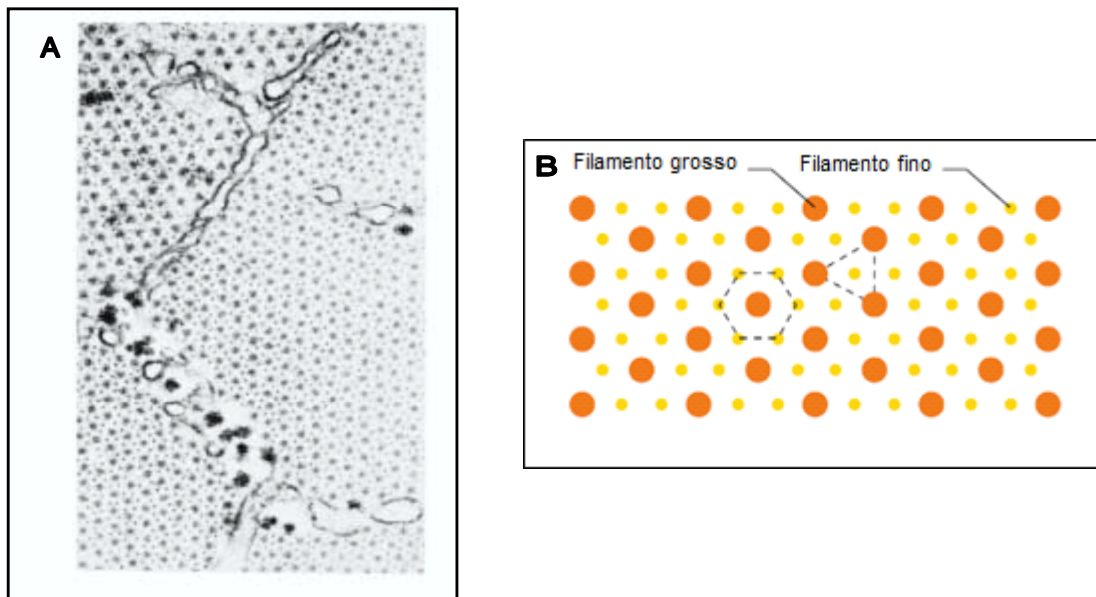


Figura 2.6: Organização e disposição das miofibrilas. Corte axial através de várias miofibrilas de uma só fibra muscular visto através de microscopia electrónica (A) e representação esquemática da distribuição e organização dos filamentos grossos e finos em vista axial (B). Adaptado de [19].

Cada fibra muscular recebe um único axónio terminal proveniente de uma unidade motora somática. É esta unidade motora que estimula as fibras musculares através da libertação de acetilcolina na junção neuromuscular. No entanto o mesmo axónio pode ter varias terminações e assim enervar uma maior quantidade de fibras nervosas (Figura 2.7.A). A região especializada do sarcolema onde se dá esta libertação química é designada por placa motora

[16, 19, 20]. Quando um neurónio somático terminal é activado, todas as fibras musculares que enerva são estimuladas a contrair. Infere-se assim que nem todas as fibras musculares de um dado músculo são accionadas simultaneamente, podendo estas ser estimuladas em maior ou menor quantidade através de um maior ou menor número de axónios terminais dependendo da força muscular requerida para realizar determinada acção ou movimento (Figura 2.7.B) [18].

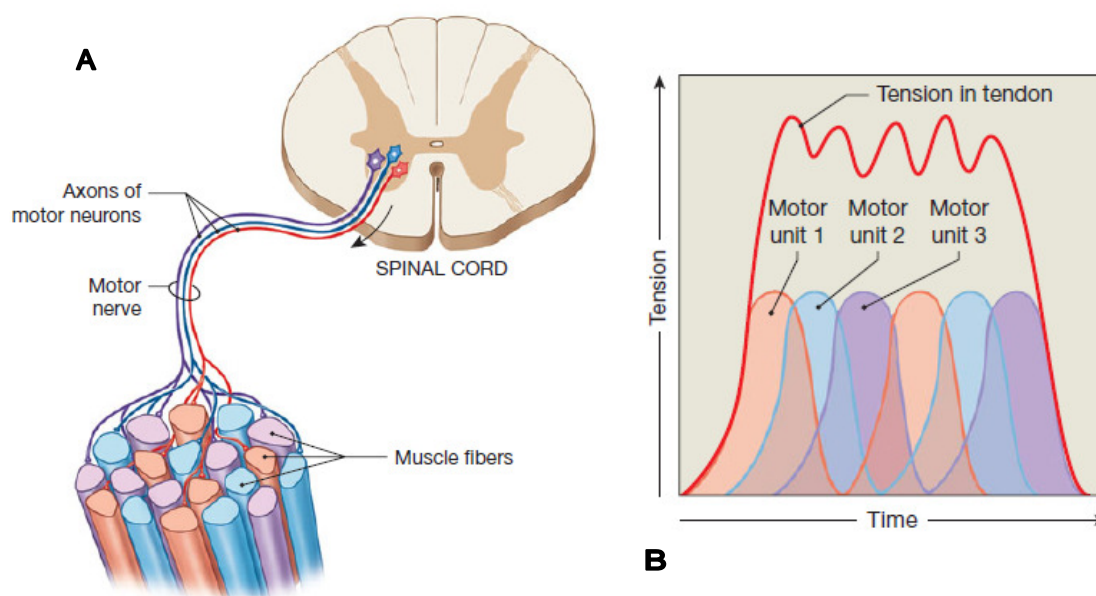


Figura 2.7: Enervação muscular. Representação esquemática da enervação de várias fibras musculares por um ou mais axónios motores (A). Gráfico demonstrando que diversos conjuntos de fibras musculares podem ser activados em tempos diferentes, permitindo o relaxamento de outros conjuntos sem no entanto haver perda de tensão produzida (B). Adaptado de [21].

2.2. Anatomia

O músculo esquelético é composto por tecido muscular e tecido conjuntivo. Uma célula muscular esquelética (fibra muscular) tem um diâmetro aproximado de 10 a 100 μm e até 30 cm de comprimento [17, 19]. Esta é envolta por uma camada esparsa de tecido conjuntivo denominado de endomísio e que permite a passagem de capilares sanguíneos e fibras nervosas de modo a que estes possam alcançar cada fibra muscular. As fibras musculares agrupam-se em conjuntos a que se dá o nome de fascículos. Cada fascículo encontra-se separado dos outros fascículos vizinhos através de um tecido conjuntivo denominado de perimísio. Em volta do músculo como um todo encontramos um terceiro tecido conjuntivo chamado epimísio. Este último emaranha-se finalmente de forma quase imperceptível com um último tecido conjuntivo denominado de fáscia – fáscia profunda quando no meio de outros músculos ou fáscia superficial quando situada entre músculo e pele.

Os músculos podem-se conectar ao osso de duas formas. Esta ligação pode ocorrer de forma directa sob forma de continuidade entre as fibras de colagénio do epimísio e o perióstio que envolve o osso; ou sob forma indirecta em que as fibras de colagénio do epimísio originam um tendão fibroso resistente que por sua vez se funde com o perióstio do ósseo. Durante a contracção muscular estes tendões transferem força do músculo para o esqueleto [22]. Estas conexões fibrosas são bastante fortes sendo mais provável que *stress* excessivo provoque a ruptura do tendão do que o arranque da sua inserção óssea ou conexão com o músculo [17, 23].

Alguns músculos estão conectados a um tendão mais vasto e de formato semelhante a um lençol denominado de aponeurose. Este nome é atribuído a tendões que se encontram numa localização mais interna com respeito ao tecido muscular do músculo em causa.

A força de um músculo e a direcção da força exercida por este são determinadas em parte pela orientação das suas fibras. Diferenças na orientação dos fascículos são a base para a classificação dos músculos em cinco grupos (Figura 2.8) [17, 22]:

- **Fusifformes** – Estes são grosso na sua parte central e estreitos nas extremidades. São músculos capazes de produzir força moderada.
- **Paralelos** – Músculos longos semelhantes a cintas, possuindo fascículos uniformes e paralelos uns com os outros. Podem contrair mais do que os fusiformes mas produzem menor força.
- **Convergentes** – Tem um formato semelhante a um leque, alargando a partir da sua origem (extremidade conectada à parte estática do sistema) e convergindo até à sua inserção (extremidade conectada à parte mais móvel do sistema).
- **Penados** – Estruturalmente parecidos a penas. Os seus fascículos inserem-se obliquamente à aponeurose. Estes podem ainda ser divididos em 3 categorias (Figura 2.9):
 - **Unipenados** – Quando os fascículos se aproximam da aponeurose de um só lado;
 - **Bipenados** – Quando os fascículos se aproximam da aponeurose de ambos os lados;
 - **Multipenados** – Quando diversas “penas” tem a sua origem a convergir no mesmo ponto.
- **Circulares** – Músculos que formam anéis em volta de orifícios corporais ou outros locais específicos como as orbitas ou boca por exemplo.

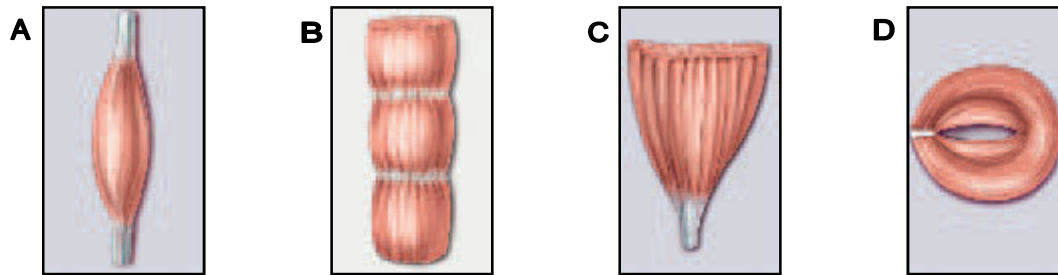


FIGURA 2.8: Tipos de músculos segundo a orientação dos seus fascículos: Fusiformes (A), Paralelos (B), Convergentes (C), Circulares (D). Adaptado de [17].

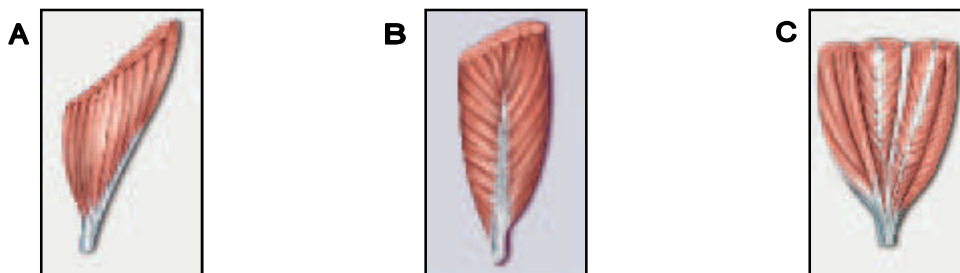


FIGURA 2.9: Subtipos de músculos penados: Unipenados (A), Bipenados (B), Multipenados (C). Adaptado de [17].

2.3. Fisiologia

O músculo é um órgão especializado na produção de movimento de uma parte corporal. As suas células convertem energia química armazenada nas moléculas de ATP em energia mecânica, criando-se assim movimento com base em forças exercidas em outros tecidos. Os músculos possuem várias formas e tamanhos dependendo da função exercida. As funções principais destes são [16, 19]:

- **Movimento** – a contracção muscular e as forças exercidas por estes em outros tecidos permitem a locomoção e a movimentação de partes específicas do corpo. Estas contracções têm também um papel importante nos mecanismos de respiração, digestão, circulação sanguínea, micção e no parto.
- **Estabilidade** – Os músculos mantem a postura corporal, resistindo à gravidade e prevenindo movimentos indesejados. Mantêm também algumas articulações estáveis através de tensões nos seus tendões.
- **Comunicação** – Alguns músculos são utilizados na formação de expressões faciais, na linguagem verbal e linguagem escrita.
- **Controlo de passagens e aberturas corporais** – Esfíncteres de forma anelar que rodeiam os olhos, pupilas e boca controlam a admissão de luz, comida e bebida no corpo; outros com aqueles que rodeiam a uretra e orifício anal

controlam a eliminação de dejectos para fora do corpo; outros ainda controlam a movimentação de comida, bílis e outros pelo corpo.

- **Produção de calor** – Músculos esqueléticos produzem até 85% do calor corporal, função vital para um correcto funcionamento de enzimas e consequentemente para todo o metabolismo corporal.

O movimento produzido por um músculo é designado por acção. Músculos esqueléticos raramente actuam sozinhos, mas sim activam em grupos fazendo com que as suas acções combinadas produzam uma movimentação coordenada de uma articulação. Desta forma, estes músculos são também apelidados de voluntários, já que as suas acções são realizadas de forma consciente, o que não acontece nos músculos lisos e cardíacos [16, 20].

Os músculos podem ser também classificados em pelo menos quatro categorias tendo em conta a sua acção, ressaltando que o mesmo músculo pode funcionar de uma maneira durante uma determinada acção articular e de forma diferente noutra. Desta forma, temos:

- **Agonistas** – músculos que produzem a maior parte da força necessária a determinada acção articular.
- **Sinergistas** – são músculos que ajudam os agonistas na sua acção. Vários sinergistas a actuar numa articulação em simultâneo podem produzir mais força do que um só músculo de maior dimensão. Ao mesmo tempo os sinergistas ajudam a estabilizar a articulação, prevenindo rotações ou movimentos indesejados e ajustando a direcção do movimento.
- **Antagonistas** – músculos que se opõem ao agonista. Estes controlam a velocidade e alcance do agonista, prevenindo desta forma movimentos excessivos e possíveis lesões. No entanto, estes podem também encontrar-se totalmente relaxados de maneira a permitirem que o agonista tenha completo domínio sobre a acção.
- **Fixador** – estes músculos previnem o movimento de dado osso. Os fixadores prendem ossos no seu lugar, permitindo que outro(s) músculo(s) conectado(s) a esses mesmos ossos possam exercer forças e acções em outras estruturas.

Da mesma forma que os mesmo músculos podem ter funções diferentes conforme o movimento pretendido também as suas fibras musculares podem ser de diferentes tipos dependendo da intensidade, velocidades e resistência à fadiga necessárias para exercer determinada acção. Assim, podemos identificar dois tipos principais de fibras musculares: As fibras de “tipo I” ou “*slow-twitch*” e as de “tipo II” ou “*fast-twitch*” [16, 17, 19]. O mesmo músculo pode possuir os dois tipos de fibras, o que varia é o grau de predominância de um tipo em relação ao outro consoante o tipo de exercício a que costumam estar sujeitos e/ou acção que necessitam de desempenhar [16, 18, 19] (Tabela 2.2).

Tabela 2.2: Tipo de fibras musculares – “*slow-twitch*” e “*fast-twitch*”. Características principais e diferenças. Adaptado de [19].

	<i>Slow-twitch</i> ou tipo I	<i>Fast-twitch</i> ou tipo II
Produção de ATP primária	Fosforilação oxidativa	Glicólise
Mitocôndrias	Muitas	Poucas
Capilares sanguíneos	Muitos	Poucos
Presença de mioglobina	Elevada	Reduzida
Presença de glicogénio	Reduzida	Elevada
Instalação da fadiga	Lenta	Rápida
Velocidade de contracção	Lenta	Rápida
Actividade da miosina-ATPase	Baixa	Alta
Diâmetro da fibra muscular	Pequeno	Grande
Tamanho da unidade motora	Pequeno	Grande
Tamanho do neurónio motor	Pequeno	Grande

As fibras de “tipo I” de cor mais avermelhada possuem um maior número de mitocôndrias, maior taxa de mioglobina (que proporciona uma maior difusão de oxigénio pela fibra muscular ao mesmo tempo que o armazena para situações em que seja necessário) e maior concentração de capilares sanguíneos. Estão assim mais adaptadas à actividade aeróbica e consequentemente não geram ácido láctico. Estas fibras não fatigam tão facilmente mas tem um tempo de resposta (velocidade) mais demorado de cerca de 100 milissegundos [19]. O músculo solear é constituído maioritariamente por este tipo de fibras dado o seu papel de sustentador e estabilizador.

Em oposição, as fibras de “tipo II” encontram-se mais adaptados a acções rápidas (tão curtas quanto 7,5 milissegundos) e intensas, mas de menor duração já que fatigam rapidamente. Tem um tom mais pálido pois tem menor quantidade de mitocôndrias, mioglobina e presença de capilares sanguíneos. Como se pode prever, estas fibras tem uma actividade anaeróbica, o que leva a produção de um grande volume de ácido láctico e consequente instalação rápida de fadiga muscular. O gastrocnémio é um exemplo de um músculo com predominância deste tipo de fibras.

Esta predominância de um tipo de fibra ou de outra afecta como se viu a potencialidade de um músculo, mas existem outras que determinam a força muscular tais como [18, 22]:

- **Tamanho do músculo** – característica que mais influencia a força muscular. Quanto maior for a CSA maior a força passível de ser exercida.
- **Arranjo dos fascículos** – Músculos penados são mais fortes do que músculos paralelos e que os circulares por exemplo.
- **Tamanho das unidades motoras** – Unidades motoras maiores conseguem produzir contracções musculares mais intensas.

- **Quantidade de unidades motoras activadas** – Quantas mais unidades motoras forem activadas pelo sistema nervoso, maior será a contracção resultante.
- **Somação temporal** – Quanto menor for o intervalo de tempo entre as estimulações musculares por parte do sistema nervoso, mais intensas se tornam as contracções das fibras.
- **Relação comprimento-tensão** – Um musculo que se encontre em repouso está preparado para contrair com mais intensidade do que um musculo previamente activado/contraído.
- **Fadiga** – Músculos fatigados contraem numa escala muito menor.

Deve-se aqui definir que para efeitos de produção máxima de força por parte dos músculos esqueléticos a CSA só é usada em músculos não-penados. Nos músculos penados a CSA é substituído para estes efeitos pela PCSA que é obtido através do cálculo da área que contenha o músculo quando se traça um plano perpendicular à orientação das fibras musculares (Figura 2.10) [22].

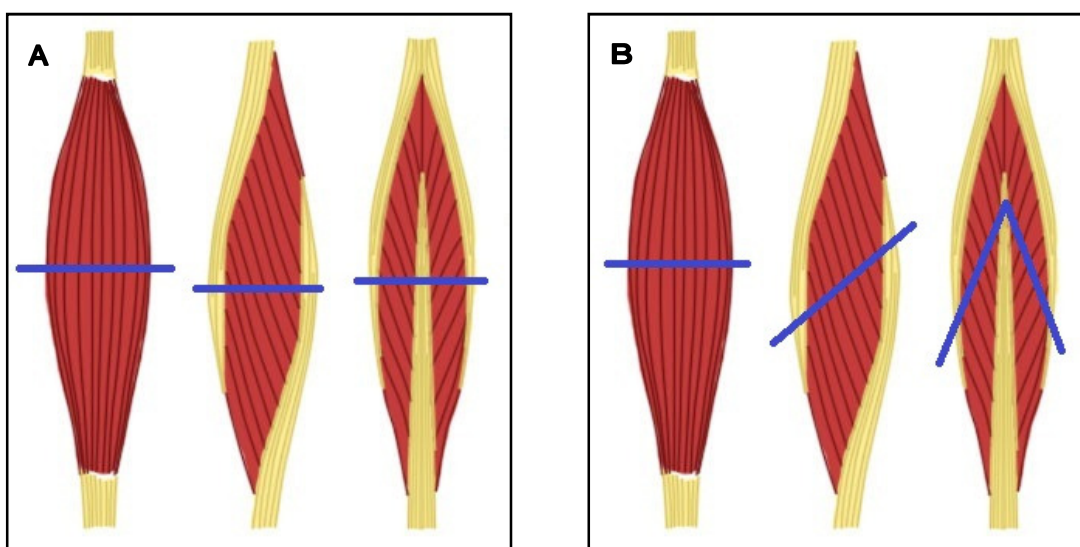


Figura 2.10: Representação esquemática da CSA em três tipos de músculos: fusiforme, unipenado e bipenado. Podemos verificar que a CSA é igual nos três músculos (A); e representação esquemática da PCSA nos mesmos músculos onde podemos verificar que o PCSA é maior no músculo bipenado, seguido do unipenado e por fim o fusiforme (B). Adaptado de [19].

2.3.1. Contracção muscular

Quando um músculo contrai, o seu comprimento decresce como resultado do encurtamento das suas fibras individuais. Este encurtamento das fibras é resultado por sua vez do encurtamento das suas miofibrilas que ocorre por redução da distância entre discos “Z” contíguos (Figura 2.11.A) [19]. Os sarcómeros no entanto não encurtam devido ao encurtamento das bandas “A” mas sim porque estas se aproximam entre elas no seu sentido

longitudinal à custa da redução em tamanho das bandas “I”. Mas é preciso notar que os filamentos finos (existentes na banda “I”) também não encurtam. O que acontece é que estes filamentos finos deslizam sobre e entre os filamentos grossos. Consequentemente dá-se uma redução da banda “I” já que só uma pequena percentagem de filamento livre não fica paralelo a filamento grosso; e uma redução da banda “H” pelo mesmo motivo mas agora em relação ao filamento grosso (Figura 2.11.B) [18]. A este mecanismo dá-se o nome de teoria do filamento deslizante.

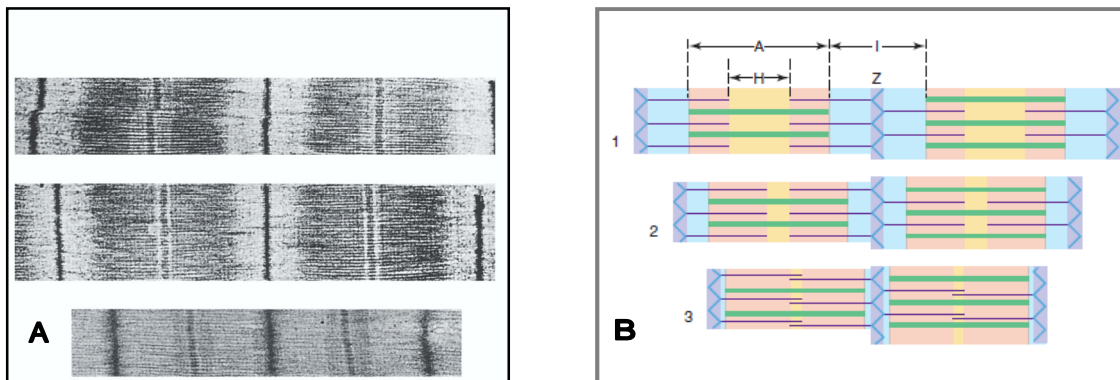


Figura 2.11: Contraction muscular. Contraction de uma fibra muscular visível através de microscopia electrónica (A) e representação esquemática dessa mesma contraction onde se pode ver que o filamento fino desliza sobre o filamento grosso, aproximando os discos “Z” entre si, reduzindo consequentemente o tamanho do sarcómero (B). Adaptado de [18].

O deslizamento dos filamentos é produzido pela acção de numerosas pontes cruzadas que se estendem da miosina à actina (Figura 2.12). Estas pontes cruzadas partem das proteínas de miosina que se estendem do eixo dos filamentos grosso formando um “braço” que termina numa “cabeça” globular. A miosina possui uma “cabeça” globular de cada lado do filamento grosso para que assim possa formar pontes cruzadas de ambos os lados, puxando a actina de cada lado para o seu centro, resultando num efeito de deslize do filamento fino sobre o filamento grosso [16, 18, 19].

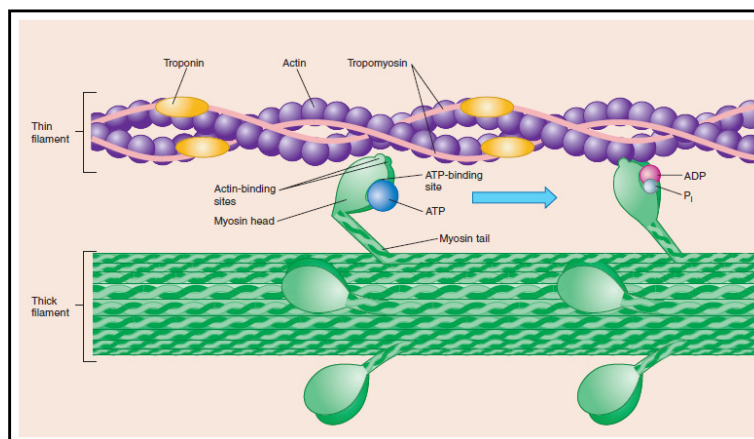


Figura 2.12: Representação esquemática das pontes cruzadas e do processo de ligação da miosina à actina. Adaptado de [18].

Estas pontes cruzadas são bastante curtas e resultariam num encurtamento de apenas 1% no tamanho do sarcómero [18]. Como os músculos podem contrair até 60% do seu comprimento, é óbvio que os ciclos de contração se devem repetir múltiplas vezes [16]. Assim sendo, ocorrem sucessivamente quatro etapas: formação da ponte cruzada ente filamento grosso e fino; movimentação da ponte cruzada, produzindo tensão no filamento fino e encurtamento do sarcómero; destacamento da ponte cruzada do filamento fino; energização da ponte cruzada de forma a que esta se possa de novo ligar ao filamento fino [16, 18].

2.3.2. A fadiga muscular

A fadiga muscular pode ser definida como qualquer redução na habilidade de um músculo de gerar força induzida pela realização de exercício [18]. Quando a fibra muscular é estimulada repetidamente, leva a que se crie a uma superposição de contrações individuais. Se a frequência das estimulações for demasiada alta e não permitir o relaxamento muscular entre esses mesmos estímulos, alcança-se o tétanos - contração máxima sustentada das unidades motoras [16]. A fadiga muscular é assim atingida. Quando esta condição é atingida existe para além da perda de tensão muscular, uma redução na velocidade de contração e uma diminuição na capacidade de relaxamento [19].

A velocidade de instalação da fadiga muscular depende largamente do tipo e quantidade de fibras musculares que são activadas e da intensidade e duração da actividade contráctil.

Durante um exercício intenso em que todas as unidades motoras são recrutadas, a fadiga aparece por acumulação extracelular de K^+ que se acumula aquando das fases de repolarização de potenciais de acção. Este facto reduz o potencial das membranas das fibras musculares e a sua habilidade de produzir potenciais de acção através dos túbulos T e consequente libertação de Ca^{2+} pelo reticulo sarcoplasmático [16]. Este tipo de fadiga tem uma duração curta e tensões máximas podem ser de novo atingidas ao fim de cerca de um minuto de descanso [16, 19].

Quando o exercício é moderado, o factor predominante para a instalação da fadiga muscular ocorre quando fibras de “tipo I” começam a esgotar as reservas de glicogénio e um maior número de fibras de “tipo II” começam a ser recrutadas. Estas obtêm energia de forma anaeróbica, convertendo glucose em ácido láctico, dando consequentemente origem a um aumento de H^+ intracelular e a uma queda de pH. A redução de pH leva por sua vez à fadiga muscular através de um processo fisiológico que ainda não é muito bem compreendido [18, 19]. As principais razões para esta fadiga remetem para factores que provoquem interferências na formação de pontes cruzadas e/ou com a habilidade do reticulo sarcoplasmático em libertar Ca^{2+} quando estimulado por impulsos nervosos.

Não nos podemos esquecer no entanto que o Homem na maior parte das vezes experiencia fadiga antes dos próprios músculos se encontrarem fatigados suficientemente para limitar o

exercício. Dito de outra maneira, a força muscular voluntária máxima é frequentemente inferior à força máxima que os músculos conseguem produzir. Este facto demonstra fadiga central – fadiga muscular causada por alterações no sistema nervoso central e não propriamente por fadiga originária nos músculos [18, 19].

Os atletas são menos sujeitos a uma rápida instalação de fadiga, possuindo uma maior capacidade de consumo de oxigénio e assim atrasar a necessidade de conversão de glucose em ácido láctico e inclusive ganhar uma maior resistência aos efeitos da acumulação deste último [16]. O aumento de fibras de “tipo II” e redução no número de fibras de “tipo I” nos músculos dos atletas é da mesma forma benéfico à execução preferencial do metabolismo aeróbico [16, 19].

2.4. Anatomia da perna

O conjunto da massa muscular localizado na perna propriamente dita (abaixo do joelho) é formado por um grupo de músculos crurais que exercem acções no pé.

Músculos do compartimento anterior da perna (Figura 2.13) são responsáveis pela dorsiflexão da tibiotársica, inversão e eversão do pé e ainda extensão dos dedos dos pés (Figura 2.14). Fazem parte destes o extensor longo dos dedos, o extensor longo do hálux, o fibular terceiro e o tibial anterior.

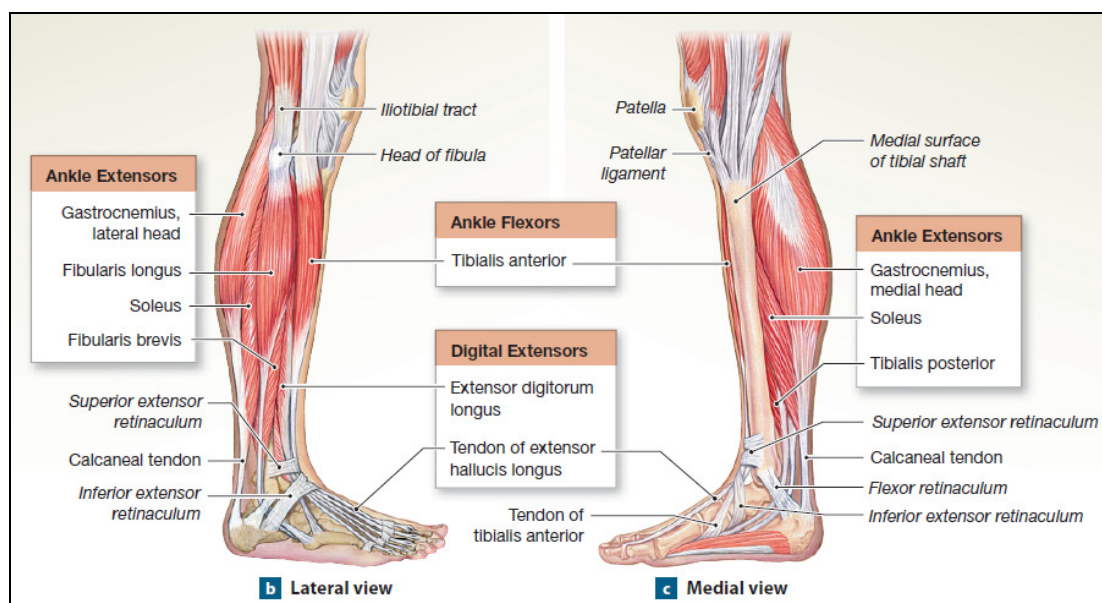


Figura 2.13: Vistas laterais dos músculos da perna. Adaptado de [21].

Os músculos do compartimento posterior da perna (Figura 2.13 e 2.15) podem ser subdivididos em 2 grupos – superficiais e profundos. No grupo superficial encontramos os músculos responsáveis pela flexão plantar do pé (Figura 2.14.A), apoio na flexão do joelho e

estabilização da perna. Este grupo é composto pelos músculos gastrocnêmios (gêmeos), solear e plantar (músculo acessório de pouca importância). Os três primeiros formam um conjunto designados de forma comum por tríceps sural, cuja inserção no calcâneo é realizada através do tendão de Aquiles. No grupo profundo encontram-se os músculos flexor longo dos dedos, flexor longo do hálux, tibial posterior e poplíteo. Os primeiros três provocam flexão do pé e/ou dedos do pé no sentido plantar e provocam a inversão do pé (Figura 2.14.B) enquanto que o último é responsável pela libertação da articulação do joelho de forma a que possa ser flectido e rodado medialmente.

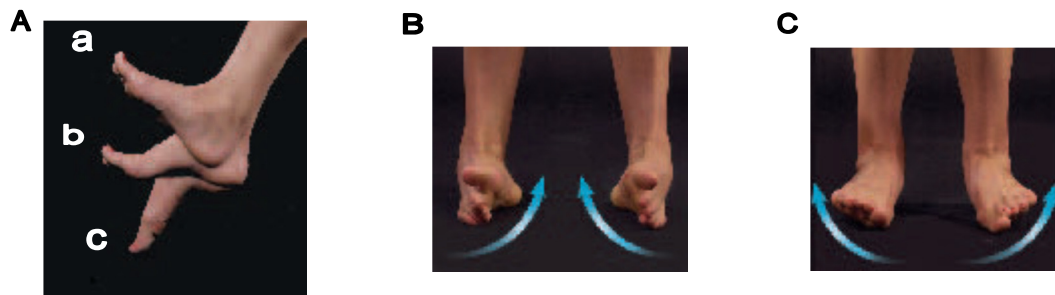


Figura 2.14: Acções musculares a nível da tibiotársica. A: Flexão dorsal do pé (a), posição neutra (b), flexão plantar do pé (c); B: inversão do pé; C: eversão do pé. Adaptado de [17].

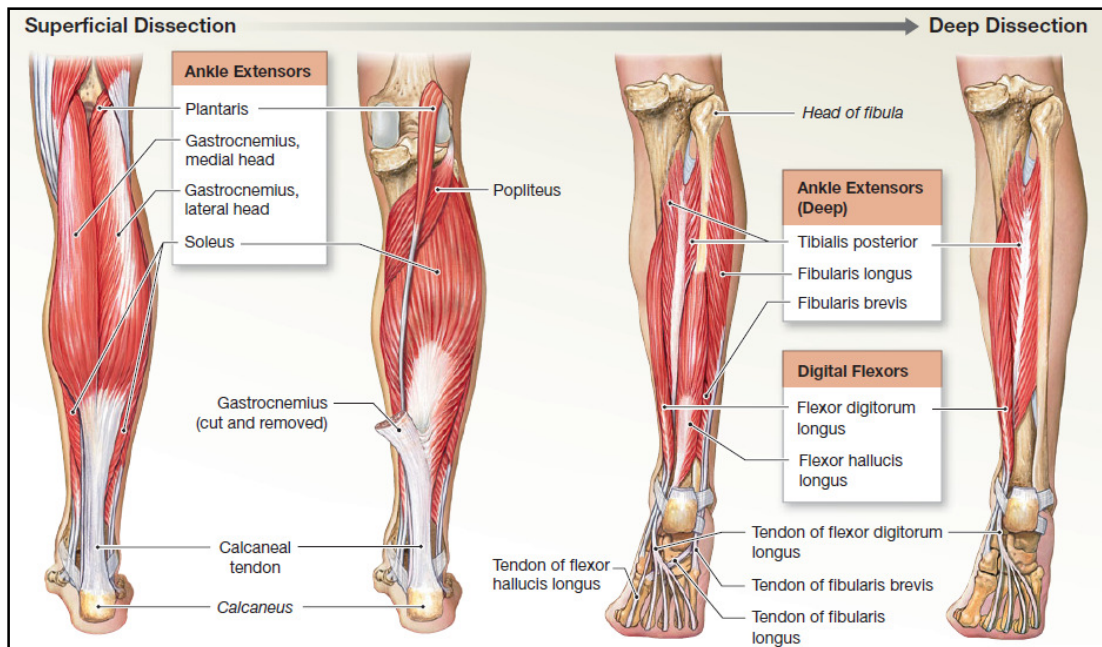


Figura 2.15: Vistas posteriores dos músculos da perna ao longo de dissecção progressiva em profundidade. Adaptado de [21].

Por último, o compartimento lateral da perna (Figura 2.15) inclui os músculos fibular longo e fibular curto. Estes têm como função a flexão plantar do pé e sua eversão (Figura 2.14.A e 2.14.C).

2.4.1. Solear

O músculo solear tem a sua origem na superfície posterior da tíbia e terço posterior da superfície do perónio. Este é habitualmente dividido em dois compartimentos: um compartimento anterior multipenado e um compartimento posterior unipenado. Insere-se na superfície posterior do calcâneo através do tendão de Aquiles. Este músculo é um dos responsáveis pela flexão de pé para além de que tem um papel de enorme importância na sustentação e estabilidade corporal. O solear é innervado pelo nervo tibial (S1, S2) [24].

2.4.2. Gastrocnémio

O gastrocnémio possui duas cabeças: uma interna (gémeo interno ou medial) que tem a sua origem no côndilo lateral e superfície posterior do fémur; uma externa (gémeo externo ou lateral) cuja origem é localizada na superfície poplíteia do fémur acima do côndilo medial deste osso. Este músculo vai-se juntar com o solear formando um tendão único – tendão de Aquiles – que se insere na superfície posterior do calcâneo. O gastrocnémio é innervado pelo nervo tibial (S1, S2) e tem como acções musculares a flexão plantar do pé e a flexão da perna a nível do joelho [24]. O Gastrocnémio é um músculo bipenado.

2.4.3. Tibial Anterior

O tibial anterior é um músculo fusiforme e bipenado cuja origem se dá no côndilo lateral da tíbia, parte superior da superfície lateral da tíbia e membrana interóssea. Insere-se na superfície plantar e lado medial do osso cuneiforme e na base do 1º metatarso. Este músculo quando activado exerce uma flexão dorsal do pé e a inversão deste. O nervo peroneal profundo (L4, L5, S1) é o nervo que inerva este músculo [24]

3. Imagem por ressonância magnética

3.1. Princípios básicos

3.1.1. Magnetização, precessão e relaxamento nuclear

A Ressonância Magnética utiliza átomos que possuem núcleos com um momento magnético diferentes de zero e que sejam capazes de se alinhar a um campo magnético externo. Estes átomos podem assim devido às leis da indução electromagnética adquirir um momento magnético quando em rotação, sendo capazes de se alinhar a um campo magnético externo.

Estes átomos têm que possuir um número de massa (A) ímpar. Podem ser utilizados em IRM diversos átomos como o hidrogénio ($A = 1$), carbono ($A = 13$), oxigénio ($A = 17$), fluor ($A = 19$), sódio ($A = 23$) ou o fósforo ($A = 31$). No entanto, como o hidrogénio é o elemento mais abundante nos tecidos biológicos, este torna-se o átomo mais utilizado. Para além disso, este átomo possui um momento magnético relativamente elevado devido à existência do seu protão único, resultando em última instância num sinal de RM mais intenso. [25, 26]

Quando uma partícula carregada – como é o caso do núcleo de hidrogénio – se move, induz um campo magnético em seu redor. Este núcleo possui um momento magnético (Figura 3.1). Tendo isso em conta, o momento magnético possui propriedades vectoriais, isto é, tem um tamanho e direcção, podendo ser representado por uma seta [27, 28].

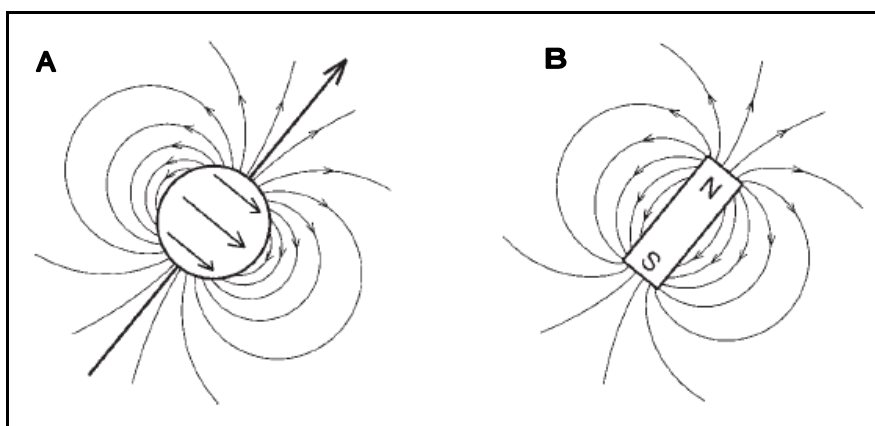


Figura 3.1: O momento magnético. Núcleos com spin diferentes de zero possuem um momento magnético e produzem um pequeno campo magnético (A) semelhante ao produzido por um magneto (B). As setas representadas no núcleo indicam o sentido do spin, enquanto que as setas presentes nas linhas curvas representam a direcção do campo magnético. Adaptado de [29].

Na ausência de um campo magnético externo, os momentos magnéticos dos núcleos de hidrogénio apresentam uma orientação aleatória (Figura 3.2.A). No entanto, quando estes são colocados sob um campo magnético estático externo (B_0), os momentos magnéticos assumem duas orientações possíveis: paralela a B_0 (no mesmo sentido) e antiparalela a B_0 (sentidos opostos) (Figura 3.2.B) [27, 28].

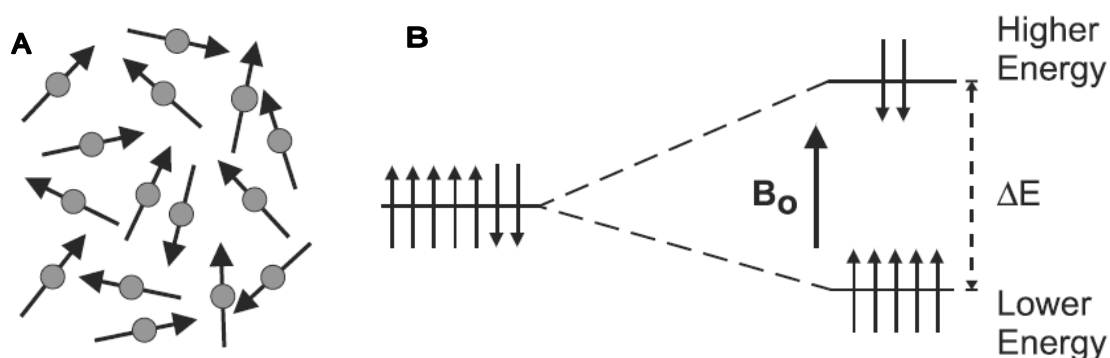


Figura 3.2: Orientação dos momentos magnéticos. Na ausência de um campo magnético externo, os diversos spins encontram-se dispostos de forma aleatória (A). Tal como representado no diagrama de Zeeman (B), quando em presença de B_0 os spins podem-se alinhar de forma paralela (baixa energia) ou antiparalela (alta energia). A diferença de energia (ΔE) entre os dois níveis é proporcional à intensidade de B_0 . Adaptado de [28].

Porém, o número de momentos magnéticos que se alinham de forma paralela a B_0 é ligeiramente superior aos que se alinham de forma antiparalela. Esta distribuição é condicionada por dois factores: a potência do campo magnético externo e o nível de energia térmica dos núcleos em causa [25, 30].

Os núcleos de baixa energia térmica não têm energia suficiente para se opor a B_0 na direcção antiparalela, o que não acontece aos núcleos de alta energia térmica. Todavia, à medida que a potência de B_0 aumenta, o número de núcleos que se conseguem opor a este campo

magnético diminui, aumentando-se desta forma o número de núcleos que se alinham de forma paralela [28, 30].

Esta predominância de momentos magnéticos alinhados de forma paralela é a razão para a existência de um vector de magnetização efectivo ou longitudinal (M_0 ou M_z) e a interacção deste com B_0 é a base da IRM [30].

A magnitude de M_0 é proporcional a B_0 e pode ser definida pela equação abaixo [28], sendo que χ é o coeficiente de proporcionalidade e representa a susceptibilidade magnética (χ do Hidrogénio = $-2,2 \times 10^{-9}$).

$$M_0 = \chi B_0 \quad \text{Equação 3.1}$$

Esta configuração, em que M_0 está alinhado paralelamente a B_0 remanesce constante ao longo do tempo já que é este o arranjo em que os *spins* possuem a menor energia. O sistema retornará para este estado sempre que algum *input* externo o perturbar e alterar a sua configuração [26, 28].

No entanto, os *spins* não se encontram estáticos, apresentando um movimento oscilatório em torno do seu eixo. Este movimento é designado por precessão a uma frequência chamada de frequência de precessão. [25, 27, 30]

A frequência de precessão pode ser calculada através da equação de Larmor (Equação 3.2) e é específica para dado núcleo sujeito a determinada intensidade de campo magnético. ω_0 é a frequência de precessão e γ é a constante giromagnética ($\gamma = 63,85$ MHz para átomos de hidrogénio em campos magnéticos de 1,5T).

$$\omega_0 = B_0 \times \gamma \quad \text{Equação 3.2}$$

Quando o sistema recebe energia proveniente do exterior sob a forma de pulsos de radiofrequência (RF) ocorrem dois fenómenos: os momentos magnéticos dos vários núcleos entram em coerência de fase uns com os outros e existe absorção de energia por parte dos núcleos de hidrogénio [26, 27, 31].

Este processo de transferência de energia ocorre à ressonância quando o pulso de RF tem a mesma frequência do que a frequência de Larmor e aplicado a 90° relativamente a B_0 [25, 32].

Durante o processo de ressonância a magnetização longitudinal começa a ser rodada para o plano transversal e poderá inclusive passar totalmente para este plano se o pulso de RF for aplicado durante o tempo necessário (Pulso RF de 90°). A magnetização resultante é designada por M_{xy} pois agora esta encontra-se no plano xy. É finalmente esta precessão de M_{xy}

em volta do eixo longitudinal que pode ser registada através da indução de voltagem à frequência de Larmor em bobines receptoras, dando assim origem ao sinal de RM [27, 31].

3.1.2. Mecanismo de contraste, T_1 , T_2 e DP

Quando o pulso de RF externo cessa, o sistema tende a retornar à sua posição inicial, através de dois processos independentes que reduzem M_{xy} : interações *spin*-meio e interações *spin-spin*. Estes dois processos causam respectivamente relaxamento T_1 e relaxamento T_2 (27, 28, 31).

Após a excitação, a magnetização transversal que se mantém no plano xy começa a decrescer progressivamente e o resultante sinal de RM começa a perder intensidade. À medida que isto vai acontecendo, a magnetização longitudinal inicia o seu processo de recuperação. Este fenómeno é conhecido como relaxamento longitudinal ou recuperação T_1 [26].

Os núcleos podem retornar ao seu estado de equilíbrio pela dissipação do seu excesso de energia para o seu meio envolvente (interacções *spin*-meio). O tempo que este processo de recuperação de M_z leva a recuperar 63% do seu valor original máximo é designado por tempo T_1 . Após dois, três e cinco períodos T_1 a recuperação correspondente é de 86%, 95% e 99% respectivamente (Figura 3.3). Esta recuperação ocorre de forma exponencial de acordo com a equação indicada abaixo (Equação 3.3). O tempo T_1 depende directamente do tecido analisado e cada um destes tecidos possui um valor T_1 determinado para cada intensidade de campo magnético estático [26, 27]. O T_1 é medido em milissegundos e como exemplo este é para um B_0 de 1,5T de 920 ms para a substância branca e de 780 ms para a substância cinzenta do cérebro, ou ainda de 870 ms para tecido muscular [31].

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

Equação 3.3

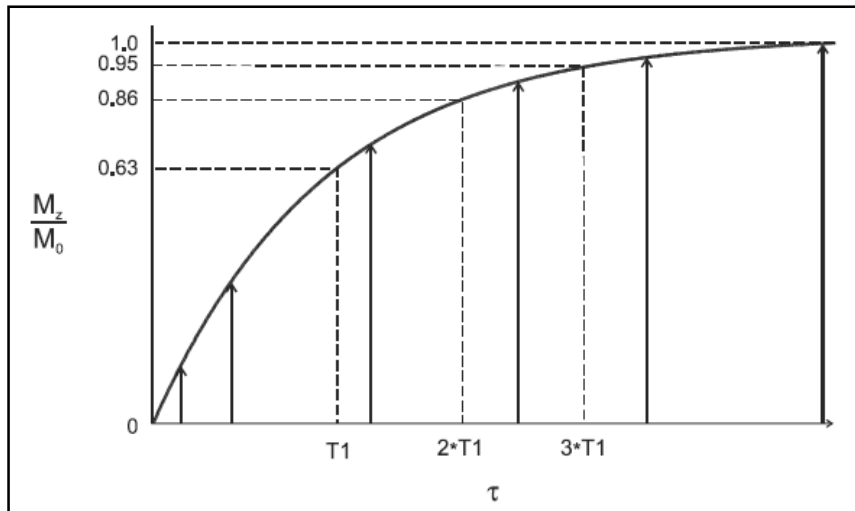


Figura 3.3: Relaxamento T_1 . Após o pulso de RF de 90° , deixa de haver magnetização longitudinal. Após a cessação do pulso de RF, esta magnetização longitudinal começa a ser recuperada de forma exponencial à medida que os prótons libertam energia para o meio. O tempo T_1 é atingido quando existe recuperação de 63% do valor de M_z original. Adaptado de [28].

O relaxamento transversal ou decaimento T_2 resulta na perda completa da magnetização transversal devido à dispersão de fase no plano xy . Isto acontece devido a interações entre os *spins* que se encontram em proximidade uns dos outros aquando da excitação e que quando esta termina começam a apresentar perfis magnéticos locais específicos, provocando uma perda gradual da coerência de fase previamente existente [26, 27].

A energia desta vez não é libertada para o meio mas é sim perdida nas interações entre os diversos *spins* que agora se encontram em precessão de forma individual no plano xy . A magnetização transversal vai-se assim perdendo de forma exponencial (Equação 3.4) pois momentos magnéticos individuais vão-se anulando entre eles (Figura 3.4).

$$M_{xy} = M_0 \times e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{Equação 3.4}$$

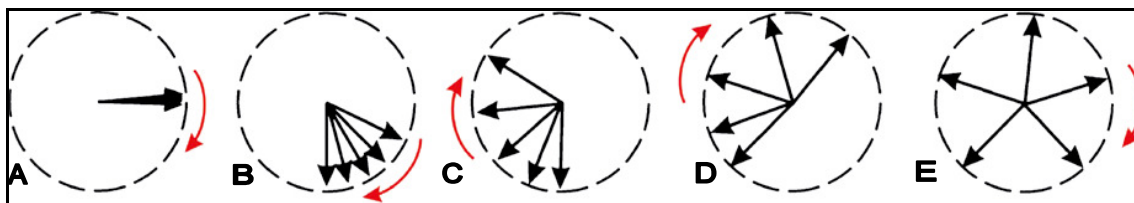


Figura 3.4: Esquema representando o relaxamento transversal. Durante a aplicação do pulso de RF de 90° todos os spins encontram-se em coerência de fase à medida que precessão em torno do eixo z (A). Quando este cessa, os spins começam progressivamente a desfasar e a perder coerência (B-E) Adaptado de [31].

O tempo necessário para decair para 37% do valor máximo de magnetização transversal é designado por tempo T_2 (Figura 3.5) e é específico para cada tecido analisado. Ao contrário do

tempo T_1 , o tempo T_2 não é influenciado pela intensidade do campo magnético estático. O tempo T_2 é também medido em milissegundos e temos como exemplo um tempo T_2 de 90 ms para a substância branca do cérebro e de 100 ms para a sua substância cinzenta, enquanto que para o músculo o tempo T_2 é tão curto como 50 ms [26, 31].

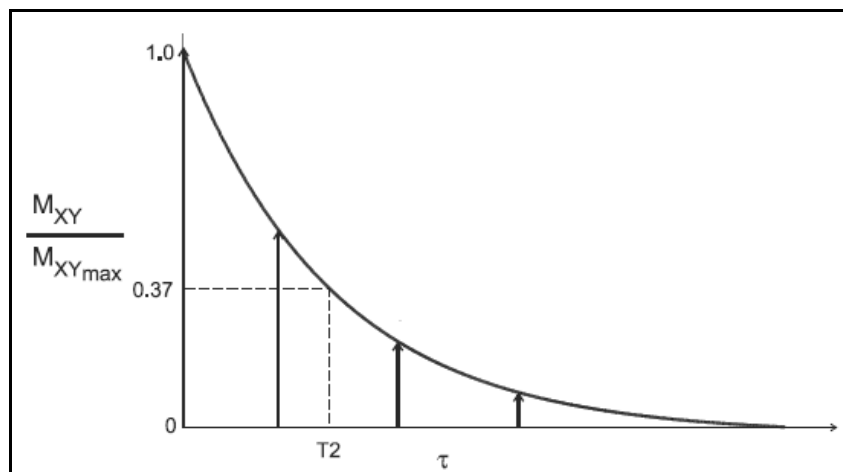


Figura 3.5: Relaxamento T_2 . Após o pulso de RF de 90° , os spins começam a perder a coerência de fase de forma exponencial. O tempo T_2 ocorre quando a magnetização transversal decai para 37% do seu valor inicial. Adaptado de [28].

Como verificado anteriormente, o sinal de RM medido é tanto maior quanto mais intensa for a magnetização transversal. Esta situação ocorre logo a seguir ao pulso de excitação (pulso de 90°) em que todo o M_z é convertido em M_{xy} . No entanto, esta magnetização transversal começa logo a diminuir a partir deste ponto. Assim, a amplitude de sinal induzido na bobina receptora depende da quantidade de M_z existente durante a excitação e da quantidade que recuperou desde a última excitação [30].

O campo magnético estático está sujeito a inhomogeneidades locais que também contribuem para a perda de magnetização transversal por interações *spin-spin*. Surge desta forma uma constante de tempo T_2^* cuja relação entre com T_2 é evidenciada na seguinte equação [26]:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2 \text{ (inhomogeneidade)}} \quad \text{Equação 3.5}$$

Aquando do relaxamento origina-se nas bobinas receptoras uma corrente induzida que gera um sinal designado por *Free Induction Decay* (FID) (Figura 3.6). Este sinal decai segundo T_2 se o campo magnético for homogêneo ou segundo T_2^* na presença de inhomogeneidades [30, 31, 32].

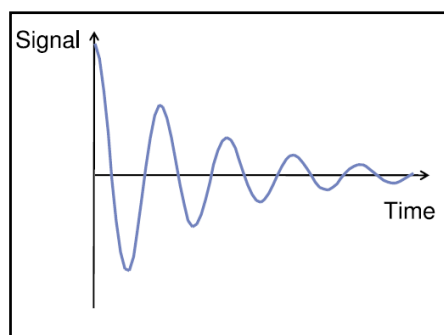


Figura 3.6: Free Induction Decay (FID). Sinal induzido na bobine após a cessação do pulso de RF de 90° . Adaptado de [33].

3.1.3. Sequências de pulso

Em IRM existem diferentes tipos de sequências que são adaptadas e utilizadas consoante o objectivo do estudo e tipo de tecidos que se pretendem estudar. Estas sequências de pulsos são conjuntos pré-definidos de aplicação de pulsos de RF e de gradientes, repetidos durante a aquisição das imagens um determinado número de vezes. De uma forma geral existem três tipos de sequências: Spin-Eco (SE^4), Eco de Gradiente (GE^5) e sequências híbridas. Estas possuem também versões “turbo” ou “fast” que permitem aquisições mais rápidas mas com algumas limitações. A sequência convencional mais utilizada é a sequência spin-eco.

3.1.3.1. Sequência Spin-Eco

As sequências SE são constituídas por um pulso de excitação de 90° , seguido de um pulso de refasamento de 180° que produzem um eco de onde o sinal é obtido (Figura 3.7). O pulso de 90° coloca os *spins* em coerência de fase e projecta M_0 para o plano xy . Após a cessão do pulso de excitação, os *spins* começam a perder coerência e inicia-se o decaimento da magnetização transversal. É posteriormente aplicado um pulso de 180° cujo objectivo é recolocar os *spins* em fase tal como esquematizado na Figura 3.8. O sinal na bobine receptora é assim regenerado e pode ser medido. A este sinal é dado o nome de eco de onde resulta o nome desta sequência – spin-eco [25]. Normalmente, utilizam-se sequências com um pulso de 180° para uma ponderação em T_1 e dois pulsos para a obtenção de imagens com ponderação DP e T_2 .

⁴ Do inglês, *spin echo*

⁵ Do inglês, *gradient echo*

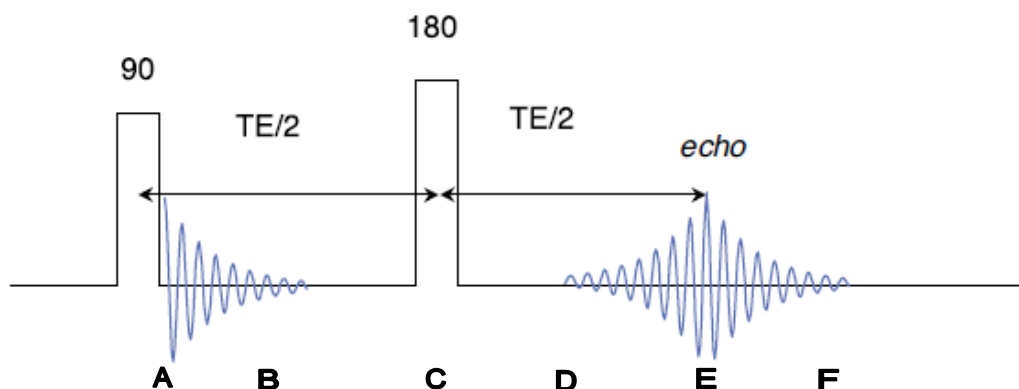


Figura 3.7: Sequência Spin-Eco (SE). Os spins encontram-se inicialmente em coerência de fase no momento exactamente antes da cessação do pulso de RF de 90° (A), começando depois a desfazer naturalmente (B) até que seja aplicado o pulso de refasamento de 180° (C). Após este pulso, os spins voltam a entrar em coerência de fase (D) até à formação de um eco (E) voltando a desfazer de seguida (F). Adaptado de [33].

O refasamento do M_{xy} elimina os efeitos de inhomogeneidades do campo magnético fazendo com que esta sequência produza imagens com ponderações em T_2 verdadeiras. Para além disso, estas sequências fornecem imagens de boa qualidade, são muito versáteis e encontram-se disponíveis em todos os sistemas. O único inconveniente “major” é que o tempo de aquisição é bastante longo, pois só se obtém um eco a cada TR.

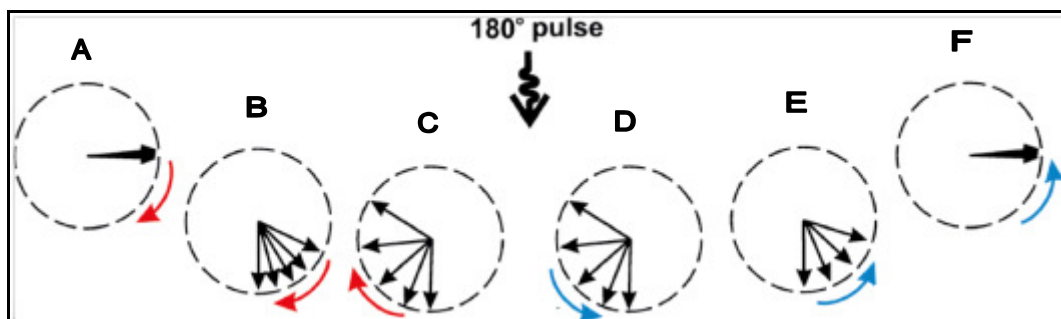


Figura 3.8: Esquema demonstrativo do efeito do pulso de refasamento de 180° . Após a cessação do pulso de RF de 90° inicia-se uma perda progressiva de coerência de fase (A-C). Após um tempo específico o pulso de refasamento de 180° volta a colocar os spins em fase (D-F). Dado que a relativa velocidade não se altera, os spins convergem para a coerência ao fim do tempo TE (F). Adaptado de [31].

O tempo entre excitações é designado por tempo de repetição (TR). Quanto maior for o TR, mais tempo haverá para que a magnetização transversal seja perdida devido ao relaxamento T_2 e assim menor sinal será captado à medida que o tempo for passando. Um tempo TR longo possibilita que todos os tecidos recuperem a sua magnetização longitudinal e assim nenhuma diferença no relaxamento T_1 serão observadas.

O tempo entre o centro do pulso de excitação e a captação do sinal é designado por tempo de eco (TE). Quanto menor for este tempo, menos tempo haverá para que haja perda de coerência de fase durante o relaxamento T_2 e assim maior será o sinal obtido.

Para que se possam distinguir tecidos com base nos seus tempos T_1 é importante que o TR seja mantido curto. Deste modo, tecidos com um tempo T_1 curto relaxam de forma rápida, recuperando de forma célere a sua M_z e assim podem contribuir com um maior sinal RM depois do próximo pulso de RF. Estes tecidos aparecem a branco nas imagens obtidas. Tecidos com tempo T_1 longo, por outro lado, não tem tempo para recuperar longitudinalmente e assim apresentam um M_z muito menor durante o próximo pulso de RF, contribuindo dessa forma para o sinal captado com um M_{xy} muito reduzido e aparecendo consequentemente a preto nas imagens de RM [27].

O TE determina a influência do T_2 dos tecidos no contraste da imagem de RM. Quando é utilizado um TE curto, as diferenças de sinal entre tecidos é reduzida já que não houve tempo para ocorrer perda de coerência de fase por partes dos núcleos em precessão n plano xy. A imagem apresenta assim uma baixa ponderação em T_2 . Se o TE for longo, os tecidos apresentarão contrastes diferentes nas imagens obtidas. Tecidos com tempos T_2 curtos perdem a maior parte do seu sinal devido ao decaimento T_2 e perda de M_{xy} , aparecendo de forma escura nas imagens de RM. Tecidos com um tempo T_2 longo conseguem manter o seu M_{xy} durante um maior período de tempo e assim contribuir com um sinal mais intenso, resultando em pixéis mais brilhantes nas imagens de RM [27].

As imagens de RM conhecidas por imagens ponderadas em DP tem em conta o número de prótons existentes e o contraste da imagem é directamente proporcional à concentração destes prótons nos diversos tecidos. As imagens DP possuem normalmente uma razão sinal-ruído (SNR⁶) mais elevada do que as imagens ponderadas em T_1 e T_2 devido ao longo TR que permite a recuperação da magnetização longitudinal e ao TE curto que minimiza a perda de sinal resultante do decaimento da magnetização transversal. Este tipo de imagem é particularmente útil na avaliação de estruturas com baixa intensidade de sinal ou na obtenção de imagens anatómicas de referência em estudos mais complexos.

Para colmatar o inconveniente relacionado com o tempo de aquisição longo, surge uma sequência mais elaborada – Sequência Fast Spin-Eco (FSE) ou Turbo Spin-Eco (TSE) – em que existe uma sucessão de pulsos de refasamento de 180° , cada um produzindo um spin-eco (Figura 3.9). Esta sucessão de pulsos de 180° é designada por *echo train length* e permite que várias linhas do espaço k (conceito elaborado no capítulo 3.1.4) possam ser preenchidas a cada TR, resultando efectivamente num tempo de exame mais curto.

⁶ Do inglês, *Signal-to-Noise Ratio*

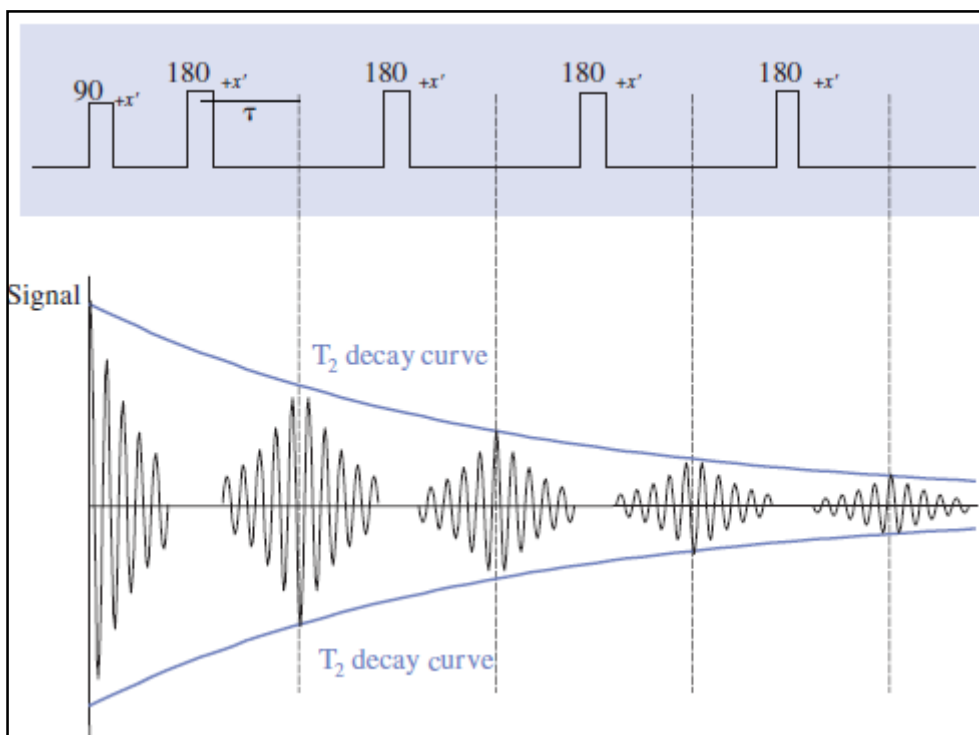


Figura 3.9: Sequência Turbo Spin-Eco (TSE). Após o pulso de RF de 90° é aplicado um conjunto de pulsos de refasamento de 180° , cada um originando o seu respectivo eco. Neste exemplo a sequência possui um *echo train length* de 4 pulsos de 180° . Adaptado de [33].

3.1.3.2. Sequência Eco de Gradiente

As sequências GE surgiram em resposta aos elevados tempos de exame das sequências convencionais SE. Nestas sequências não existem pulsos de refasamento de 180° , sendo que estes são substituídos pela aplicação de um gradiente de inversão que origina um desfaseamento dos *spins* no plano transversal, permitindo a produção de um eco – eco de gradiente – após o refasamento desses mesmos *spins* [34].

Dado que o desfaseamento dos *spins* não se deve apenas às interações spin-spin, já que as inhomogeneidades do campo magnético não são compensadas pela presença de pulsos de 180° , neste tipo de sequências verifica-se um decaimento T_2^* e não T_2 [26, 34, 35].

Em sequências GE, o eco pode ser produzido rapidamente e conseqüentemente pode-se ter um TE significativamente mais curto do que nas sequências SE. Outro factor que permite tempos de exame menores é a utilização de ângulos de inclinação⁷ inferiores a 90° , reduzindo-se desta forma o tempo que o sistema demora a recuperar a sua magnetização longitudinal, admitindo-se por sua vez a utilização de TR's mais pequenos [26, 34, 36].

⁷ Tradução de *flip angle* (inglês)

Tem que ser tido em conta no entanto que o contraste da imagem pode sofrer alterações em sequências GE, tendo que se adaptar o ângulo de inclinação, o TE e o TR para que seja possível a obtenção de contrastes semelhantes às sequências SE [36].

Uma vantagem intrínseca aos GE muitas vezes descurada está relacionada com o *Specific Absorption Rate* (SAR). Esta medida está relacionada com a absorção de RF pelos tecidos do corpo humano e esta deposição é muito menor neste tipo de sequências quando comparadas com a SE devido à ausência de pulsos de refasamento de 180° [34].

3.1.3.3. Sequências associadas a gradientes de difusão

Comparada com uma sequência spin-eco clássica, a sequência spin-eco sensibilizada à difusão inclui dois gradientes de pulso adicionais (Figura 3.10) [37]. O primeiro pulso de gradiente na sequência introduz um desfasamento que é dependente da intensidade do gradiente na posição do *spin* quando $t = 0$. Antes da aplicação do segundo pulso de gradiente que induz um desfasamento na posição do spin quando $t = \Delta$, é aplicado um pulso de RF de 180° para reverter o desfasamento de fase induzido pelo primeiro pulso de gradiente. Dado que o gradiente de codificação de difusão causa variações na intensidade do campo magnético, todos os *spins* que se mantêm na mesma posição espacial ao longo do eixo do gradiente durante os dois pulsos vão retornar ao seu estado inicial.

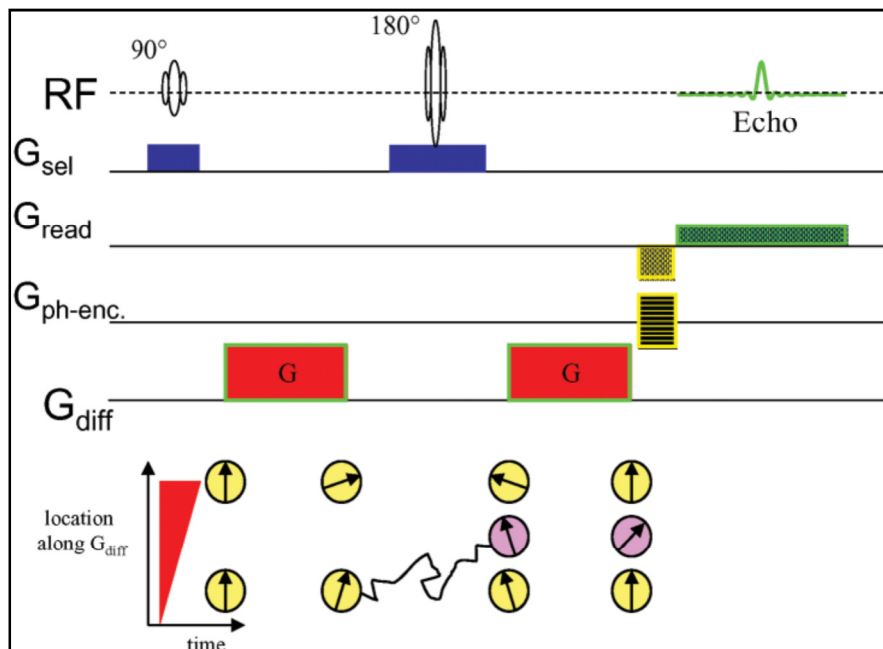


Figura 3.10: Sequência Spin-Eco sensibilizada à difusão com o auxílio de gradientes (G_{diff}). O deslocamento de fase dos spins varia dependendo da sua localização ao longo do G_{diff} . Spins estáticos voltam a ficar em fase através do pulso de RF de 180° e o segundo gradiente, enquanto que os spins difundidos permanecem fora de fase. G_{sel} = Seleção de corte, G_{read} = *Readout* do sinal, $G_{ph-enc.}$ = Codificação da fase. Adaptado de [38].

No entanto, *spins* que se moveram vão ser submetidos a uma intensidade de campo diferente durante o segundo pulso e assim não voltarão ao seu estado inicial mas sim experienciarão um desfaseamento total cujo resultado é uma redução na intensidade do sinal obtido. Quanto maior for o deslocamento, mais intenso será o desfaseamento de fase e conseqüente diminuição de sinal [30]. Esta diminuição de sinal (S) é caracterizado pela fórmula abaixo (Equação 3.6). O “b” corresponde ao valor “b” retratado mais à frente e “D” equivale ao coeficiente de difusão do tecido estudado.

$$S = e^{-b \cdot D}$$

Equação 3.6

Estas sequências resultam em imagens ponderadas em difusão (DWI) que são o resultado da aplicação de uma sequência spin-eco ou eco de gradiente com um único pulso de gradiente numa dada direcção.

Imagens DWI assumem que a difusão segue um modelo físico de difusão livre e que é descrito por uma distribuição Gaussiana isotrópica. Mas este modelo é frequentemente demasiado simples, especialmente quando se estudam estruturas com clara forma tubular e que assim apresentam uma orientação preferencial para a difusão. Portanto, isto acontece em sistemas anisotrópicos como é o caso dos estudos de tractos de substância branca no cérebro, fibras musculares, nervos, etc. Nestes casos, a RM por tensor de difusão (DTI) é mais apropriada [34, 35, 39].

Para que o tensor de difusão seja determinado na sua totalidade, é necessário em primeiro lugar recolher imagens DWI ao longo de várias direcções de gradiente, utilizando-se sequências de pulso sensíveis à difusão [40] tal como a sequência ecoplanares (EPI). Esta sequência foi desenvolvida por Peter Mansfield em 1984 como um método para reduzir os tempos de recolha de imagens para valores de dezenas de milissegundos, já que não necessita de ciclos de excitação-sinal repetidos [41] (Figura 3.11). Em EPI a informação requerida para preencher todas as linhas do espaço k é adquirida através de um só *echo train*. Para que isto seja alcançado, múltiplos ecos são gerados e cada um é codificado em fase por um declive do gradiente diferente de modo a preencher a totalidade das linhas no espaço k [25, 33]. Os ecos tanto podem ser criados através de pulsos de refasamento de 180° (EPI por spin-eco) ou por gradientes (EPI por eco de gradiente). Este último método é mais rápido e não envolve a aplicação e deposição de RF nos sujeitos, mas requer gradientes de alta velocidade [25]. Aquisições EPI podem ser adquiridas em 50 – 80 ms, tornando-as ideais para estudos funcionais.

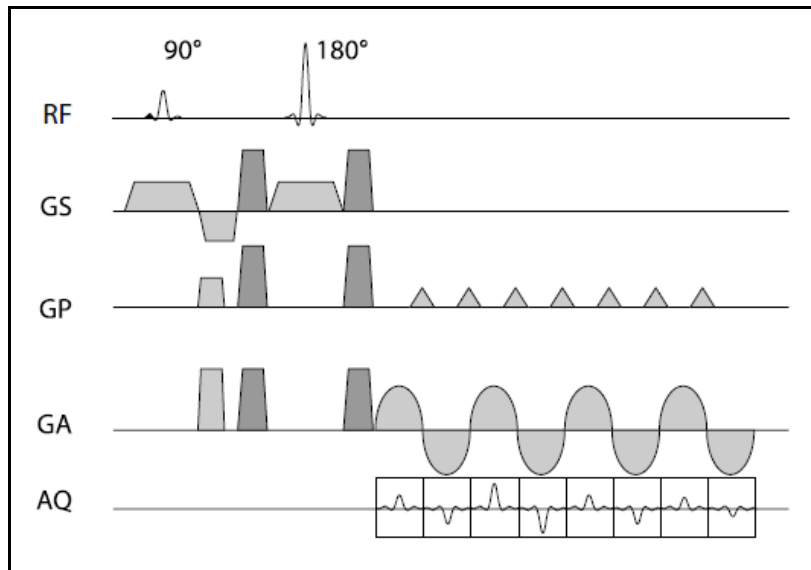


Figura 3.11: Sequência EPI ponderada com difusão, através do método introduzido por Stejskal e Tanner. A ponderação de difusão é realizada através e pulsos de gradiente de grande amplitude simetricamente em volta do pulso RF de refasamento. Adaptado de [26].

Ao mesmo tempo esta técnica tem uma menor sensibilidade a artefactos resultantes da movimentação do paciente que são um dos grandes problemas de estudos que recorram à difusão. Isto ocorre devido ao facto de que uma imagem EPI é adquirida de uma só vez com uma duração que ronda os 100 ms, obtendo uma imagem “instantânea” livre de movimentos [33].

Todos estes factores levam a que este tipo de sequências seja actualmente considerado o “*gold standard*” em estudos clínicos realizados por IRM com difusão.

3.1.3.4. DTI

Dadas as características do tensor de difusão (ver capítulo 3.2.1.2), só são mandatárias medições ao longo de seis direcções (em vez de nove) juntamente com uma imagem adquirida sem qualquer ponderação com difusão ($b = 0$).

O resultado é um tensor de difusão (em vez de um coeficiente de difusão) que é proporcional à matriz de covariância Gaussiana (em vez da variância Gaussiana) [40]. Este tensor de difusão é uma matriz 3x3 que caracteriza a difusão de forma completa num espaço 3D, assumindo que a distribuição dos deslocamentos é Gaussiana. Assim, o coeficiente de difusão é o parâmetro que reflecte as propriedades físicas dos tecidos, em termos da movimentação translacional das moléculas em estudo [34, 35].

O DTI tem vantagens e desvantagens quando comparadas ao mais simples DWI. Esta fornece informação sobre a orientação da difusão e grau de anisotropia em tempos de aquisição relativamente curtos e desta forma toleráveis em estudos humanos. O pós-processamento é

normalmente feito de forma automática com grande qualidade e é passível de ser realizado na maior parte dos equipamentos/sistemas. Por outro lado, arquiteturas celulares complexas são de representação difícil e as tractografias resultantes nesta técnica são vulneráveis a diversos tipos de artefactos e ao baixo nível de SNR existentes em estudos de difusão [37]

Uma consideração importante em RM por difusão é a preservação da ponderação em difusão sem no entanto prejudicar a obtenção de um SNR adequado para pós-processamento [42]. O valor “b” é um factor preponderante neste contexto. O termo “valor ‘b’” foi cunhado por Stejskal e Tanner [43] e é um valor alterável pelo utilizador que depende da amplitude, duração e *timing* do pulso de gradiente de difusão, sendo o determinante principal da sensibilidade que a sequência tem à difusão molecular da água [26]. Este poder ser calculado através da fórmula abaixo descrita (Equação 3.7). À medida que este valor aumenta, amplifica-se simultaneamente o grau de ponderação de difusão da aquisição, mas com um consequente declínio no SNR obtido [44].

$$b = \gamma^2 \cdot G^2 \cdot \delta^2 \cdot \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad \text{Equação 3.7}$$

Nesta equação, “ γ ” corresponde à razão giromagnética (42,58 Mhz para o hidrogénio), “ G ” à amplitude do gradiente, “ δ ” à duração da aplicação do gradiente e “ Δ ” ao intervalo entre os dois gradientes de difusão.

A gama de valores “b” considerados sensatos para DWI é baseada no tecido particular que está a ser analisado e na intensidade dos gradientes do equipamento de RM utilizado. Este valor está normalmente compreendido entre 1000 - 3300 s/mm² em estudos do cérebro, 800 s/mm² na avaliação de tumores rectais, 125-400 s/mm² em estudos de fibras musculares ou tão baixo como 1.6 – 50 s/mm² como é o caso da detecção de lesões do fígado.

3.1.4. Formação da imagem e espaço-k⁸

A obtenção de uma imagem a partir de um sinal de RM só é possível se se conseguir localizar um particular sinal no espaço 3D existente dentro do magneto. Para que isto seja possível, recorre-se a três processos: selecção do corte, codificação de frequência e codificação de fase. Cada um destes processos recorre à utilização de bobines de gradientes (G_x , G_y e G_z) que aplicam gradientes ao longo dos três eixos (X, Y, Z), com intensidades na ordem dos miliTesla por metro (mT/m).

⁸ Tradução de *k-space* (inglês)

A B_0 é adicionado um gradiente de campo magnético que modifica a intensidade do campo magnético original de forma linear e crescente, normalmente ao longo da *gantry* (eixo z). Assim, os prótons de hidrogénio “ao longo do corpo” encontram-se sujeitos a intensidades de campo magnético diferentes e consequentemente possuem diferentes frequências de precessão entre si (Figura 3.12). Este gradiente denominado de gradiente de selecção de corte implica que prótons do mesmo “corte” possuem precessões idênticas, encontrando-se susceptíveis a pulsos de RF com frequências específicas. Utilizando pulsos de RF com estas frequências consegue-se estimular regiões particulares do objecto de estudo. Para além disso e utilizando um pulso de RF com uma gama de frequências (largura de banda⁹) mais ou menos ampla, consegue-se seleccionar uma espessura de “corte” definida de menor ou maior valor (Figura 3.13). Este processo de ajuste da amplitude do gradiente e da largura de banda do pulso de RF aplicado é normalmente ajustado automaticamente pelo equipamento em função da espessura de corte seleccionada [26, 33, 36].

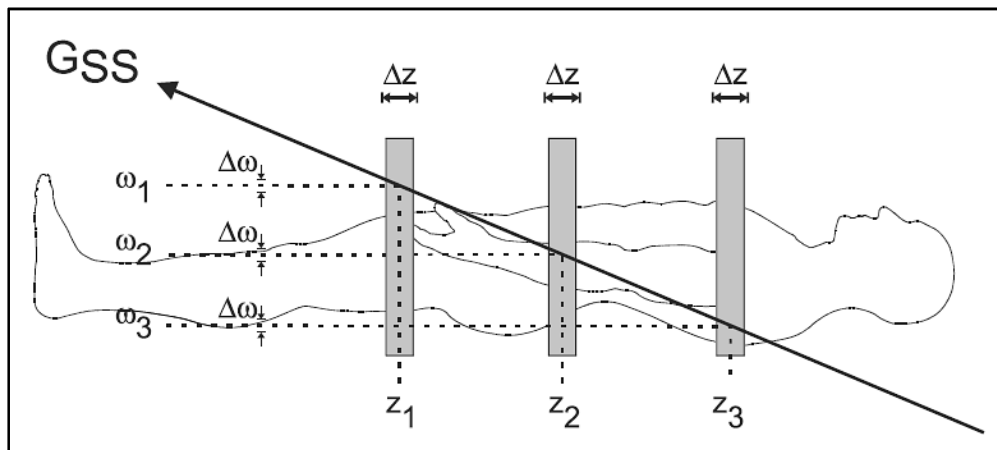


Figura 3.12: Selecção de corte. Na presença de um gradiente (G_{SS}), o campo magnético total experienciado por determinado próton e a sua resultante frequência de precessão dependem da sua posição espacial. O tecido localizado na posição z_i vai absorver energia de RF emitida à frequência central de ω_i . Assim, cada posição vai ter a sua própria frequência de ressonância. Adaptado de [28].

⁹ Tradução de *bandwidth* (inglês)

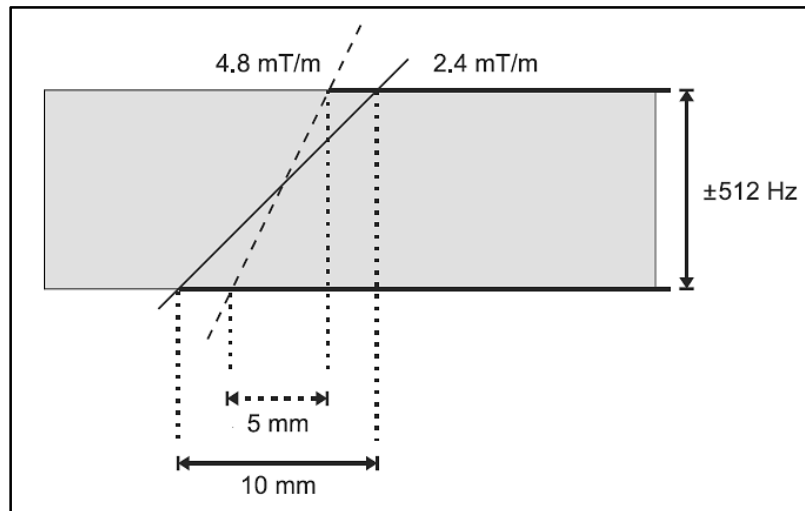


Figura 3.13: Espessura de corte. Para uma determinada gama de frequências (*bandwidth*) incluídas no pulso de RF, a espessura de corte é determinada pela selecção da amplitude do gradiente de selecção de corte. Tal como demonstrado nesta figura, um gradiente com declive (*slew rate*) maior permite obter uma espessura de corte menor. Adaptado de [28].

Após a aplicação do pulso de RF, os prótons de hidrogénio de determinado “corte” precessam à mesma frequência. Na altura em que é suposto obtermos o sinal/eco é aplicado outro gradiente de campo magnético linear e progressivo – gradiente de codificação de frequências – ao longo de um eixo perpendicular ao eixo “z” (eixo “x” ou “y”), influenciando as frequências de precessão dos *spins* existentes (Figura 3.14). Desta forma, as frequências obtidas pelas bobines diferem consoante a origem espacial destas. Devido ao facto de o gradiente ser activado durante a obtenção do sinal, este gradiente é também referido como gradiente de “*read-out*” [26, 36].

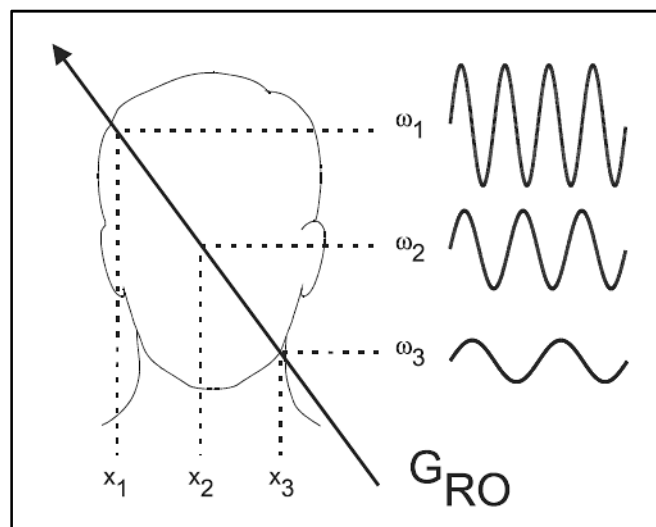


Figura 3.14: Codificação de frequência. Após o pulso de RF, cada próton dentro do volume excitado precessa à mesma frequência. Depois, durante a obtenção do eco, um gradiente (G_{RO}) é aplicado, originando uma variação nas frequências dos prótons geradores do sinal de eco. A frequência de precessão ω_i depende da posição x_i de cada próton. Adaptado de [28].

Para a obtenção da localização de um sinal no 3º eixo cardinal (eixo “x” ou “y”) utiliza-se um gradiente de codificação de fase. Este gradiente que é ligado durante um intervalo de tempo muito pequeno vai alterar a velocidade de precessão dos diversos *spins* ao longo desse eixo cardinal, isto é, prótons sujeitos a um campo magnético superior vão processar mais rapidamente do que outros submetidos a um campo magnético inferior. Quando o gradiente é desligado, todos os spins voltam a precessar à frequência inicial imposta pelo campo magnético principal, mas no entanto não se vão encontrar todos na mesma fase, estando fora de fase entre si (Figura 3.15). Esta diferença entre fases é tanto maior quanto mais declive¹⁰ tiver o gradiente e mais tempo este tiver ligado [34, 36].

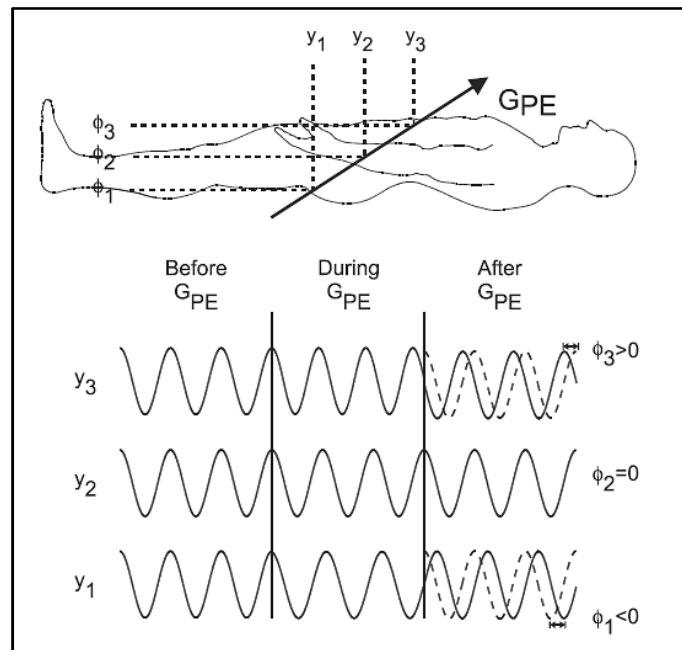


Figura 3.15: Codificação de fase. Antes da aplicação de G_{PE} , todos os prótons precessam à mesma frequência. Depois de este ser aplicado, um próton aumenta ou diminui a sua frequência de precessão consoante a sua posição y_i . Um próton localizado em y_2 não sofre alterações devido à presença de G_{PE} . Um próton localizado em y_3 começa a precessar mais rapidamente quando o G_{PE} é accionado, voltando à sua velocidade normal quando este é desligado. No entanto, este encontra-se “adiantado” em relação à frequência de referência (curva pontuada), isto é, apresenta um desvio de fase Φ_3 induzido por G_{PE} . Por outro lado, um próton localizado em y_1 , sofre um atraso na sua frequência de precessão e consequentemente um desvio de fase Φ_1 negativo. Adaptado de [28].

No fim, obtém-se um sinal de RM constituído por um conjunto de ondas de RF com diversas amplitudes, frequências e fases. Esta informação é convertida numa matriz de dados – espaço k – e só depois de sofrer um tratamento matemático através da “Transformada de Fourier 2D Inversa” é que é possível a obtenção de imagem anatómica final.

É de notar que um ponto no espaço- k não corresponde directamente a um píxel na imagem. Cada região no espaço- k contém informação relativa a toda a imagem. Mais aprofundadamente, a informação disposta no centro do espaço- k , ou seja, as baixas

¹⁰ Tradução de *slope* (Inglês)

frequências determinam o contraste da imagem, enquanto que a informação à periferia do espaço-k (altas frequências) contribuem para a nitidez da imagem.

O modo como é realizado o preenchimento do espaço-k pode ser efectuado de diversos modos tais como: cartesiana, cêntrica, espiral ou eco planar. Desta forma, têm sido desenvolvidas várias técnicas que permitam a obtenção de imagens de forma mais rápida, condição de grande importância em estudos funcionais [45].

Numa sequência SE ou FSE por exemplo, por cada eco obtido é preenchida uma linha no espaço-k (Figura 3.16). Na técnica de FSE consegue-se diminuir o tempo global da aquisição do volume de estudo pois cada excitação é acompanhada de múltiplos pulsos de RF de 180° , gerando-se um eco por cada pulso, não sendo assim necessário esperar por um relaxamento total do tecido analisado antes da aplicação de novo pulso de excitação de 90° (ao fim de TR).

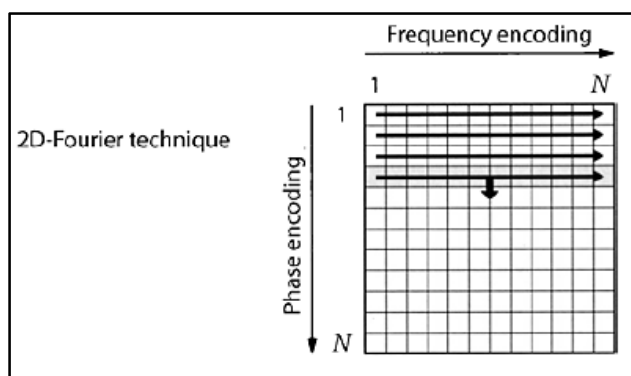


Figura 3.16: Preenchimento do espaço-k de forma linear. Utilizando-se a técnica convencional – 2D Fourier – somente uma linha do espaço-k é adquirida por ciclo de sequência, sendo necessários N ciclos para que toda a matriz de *raw data* seja preenchida. Adaptado de [26].

Nas técnicas EPI é utilizado apenas um único pulso de RF para a amostragem do espaço-k, permitindo uma cobertura rápida de todos este espaço, normalmente segundo uma trajetória de preenchimento tal como demonstrado na figura 3.17. É por isso bastante útil em RM funcional, apesar de ser acompanhada pela desvantagem de possuir uma resolução espacial limitada [45].

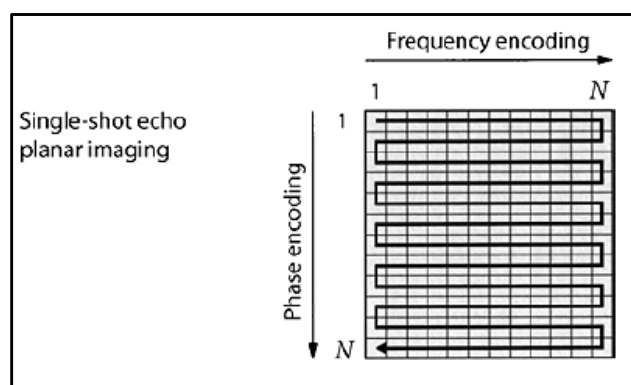


Figura 3.17: Preenchimento do espaço-k em sequências EPI. Nas sequências EPI, todas as linhas do espaço-k são adquiridas num único ciclo de sequência. Adaptado de [26].

Uma revisão mais aprofundada a nível do processamento do sinal em RM não cabe no contexto desta dissertação, sendo que por isso aqui só constam os conceitos mais fundamentais referidos.

3.1.5. SNR, resolução espacial e tempo de aquisição

A imagem perfeita em IRM seria a imagem que tivesse uma maior razão sinal-ruído (SNR) com a maior resolução espacial possível adquirida no menor tempo possível. No entanto, em IRM é impossível conseguir estes objectivos simultaneamente. Desta forma e consoante o objectivo do estudo deve-se definir qual ou quais os parâmetros mais importantes a ter em conta e qual ou quais aquele(s) que pode(m) ser menosprezado(s). Um exame de elevada qualidade de imagem necessita sempre de um tempo de aquisição longo e um exame adquirida de forma rápida resultará em imagens de baixo SNR e/ou com baixa resolução espacial.

Matematicamente, o SNR é o quociente entre a intensidade de sinal medido numa região de interesse (ROI¹¹) e o desvio padrão da intensidade de sinal numa região fora do objecto de estudo (região representando ar) [27].

O SNR depende de vários parâmetros [27, 30, 46]:

- Espessura de corte;
 - Quanto menor for a espessura de corte, menor é o SNR da imagem. Isto acontece pois cortes mais finos estão associados a maior ruído e a outros problemas como efeitos de volume parcial.
- Largura de banda;
 - A largura de banda (*bandwidth*) caracteriza a gama de frequências colectadas pelo sistema durante a codificação de frequência. Uma maior largura de banda permite uma aquisição mais rápida e minimiza artefactos de desvio químico mas também reduz o SNR já que uma maior quantidade de ruído é da mesma forma incluída.
- *Field of View* (FoV);
 - O FoV condiciona directamente o tamanho do vóxel e resolução espacial das imagens. Para além disso este impacta o SNR, já que por exemplo um maior FoV resulta na melhoria do SNR.
- Tamanho da matriz de imagem;
 - Uma matriz de imagem de maior tamanho implica uma redução no SNR.
- Número de aquisições (NEX);

¹¹ Do inglês, *Region of Interest*

- À medida que se aumentam o número de aquisições, aumenta-se o SNR obtido à custa de uma maior duração de exame.
- Parâmetros de aquisição (TR, TE, etc.);
- Intensidade do campo magnético (B_0);
- Bobine de RF (Emissora e receptora).

Estes factores estão presentes numa fórmula (Equação 3.9) que nos permite identificar quais os parâmetros que influenciam o SNR e em que grau é o que fazem [47]:

$$SNR \propto (\text{volume voxel}) \sqrt{\frac{(N_y) \times (NEX)}{BW}} \quad \text{Equação 3.9}$$

O N_y corresponde ao número de codificações de fase, o NEX ao número de excitações realizadas e o BW à largura de banda.

Uma imagem de RM é digital e consiste numa matriz de pixéis, isto é, uma grelha de linhas e colunas em que a cada elemento é atribuído um valor que corresponde a uma intensidade de sinal. Cada pixel é uma representação bidimensional de um elemento volumétrico tridimensional denominado de vóxel (Figura 3.18).

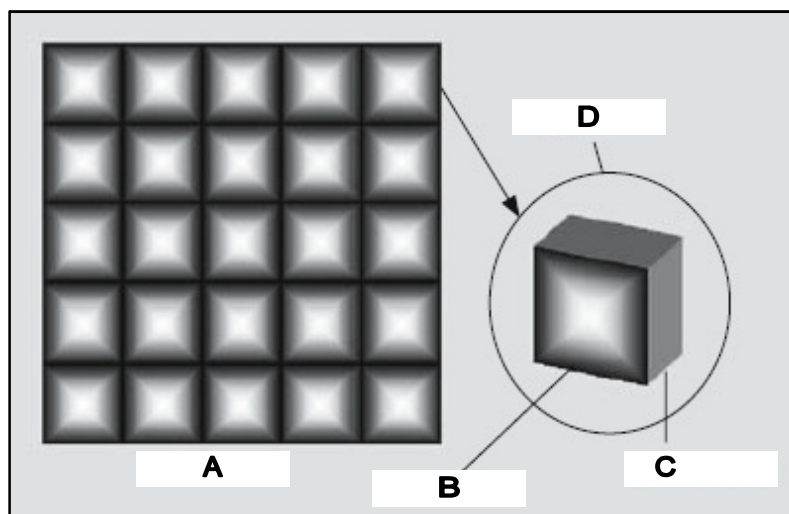


Figura 3.18: A matriz, o pixel e o vóxel. A matriz (A) encontra-se dividida em linhas e colunas de pixéis (B) com uma espessura de corte (C) determinada, originando uma entidade tridimensional – o vóxel (D). Adaptado de [27].

O tamanho do vóxel determina a resolução espacial de uma imagem de RM. De forma geral, quanto menor for o tamanho do vóxel, maior será a resolução espacial da imagem. Desta

forma melhora-se a capacidade de poder discriminar dois pontos próximos na imagem como independentes.

O tempo de aquisição é importante na eficiência económica de todos os sistemas de IRM, mas também possui impacto noutros factores como a qualidade de imagem obtida, redução de alguns artefactos (artefactos de movimento é o exemplo óbvio) ou possibilidade de realização de estudos biológicos em que a velocidade é crucial tal como acontece no estudo descrito nesta dissertação.

Este tempo de exame para uma sequência spin-eco convencional pode ser calculado através da seguinte equação [26, 27]:

$$\text{Tempo de exame} = TR \times NEX \times N_y \quad \text{Equação 3.10}$$

3.1.6. Artefactos de imagem

Em estudo de IRM podem surgir diversos artefactos de imagem que originados por erro do operador, condições do equipamento de RM ou técnica/sequência aplicada, limitações ou particularidades do sujeito estudado, podem prejudicar ou comprometer a visualização e caracterização da região de estudo. Alguns deles podem ser corrigidos facilmente, enquanto que outros se encontram intrinsecamente associados à técnica utilizada e por isso de difícil colmatação ou atenuação. De seguida se apresenta uma breve descrição de alguns dos artefactos mais comuns em IRM. Outros tipos de artefactos de imagem que são mais pronunciados em estudos com gradientes e em sequências EPI serão descritos mais à frente no capítulo 3.2.1.6.

3.1.6.1. Artefacto de susceptibilidade magnética

Os artefactos de susceptibilidade magnética baseiam-se na capacidade de uma substância em tornar-se magnetizada. Alguns tecidos magnetizam-se em grau diferente dos outros, originando diferenças na frequência de precessão e fase e causando uma saída de fase na zona de transição entre esses tecidos, resultando numa perda de sinal e distorção local da imagem (Figura 3.19). Este acontecimento ocorre mais frequentemente quando na presença de componentes metálicos ou conteúdo de ferro em hemorragias (sendo que este último caso é útil em contexto clínico), já que estes meios são fortemente magnetizáveis. Estes artefactos são mais proeminentes em sequências GE, já que a reversão do gradiente não consegue compensar a diferença de fase na interface entre os tecidos [36].

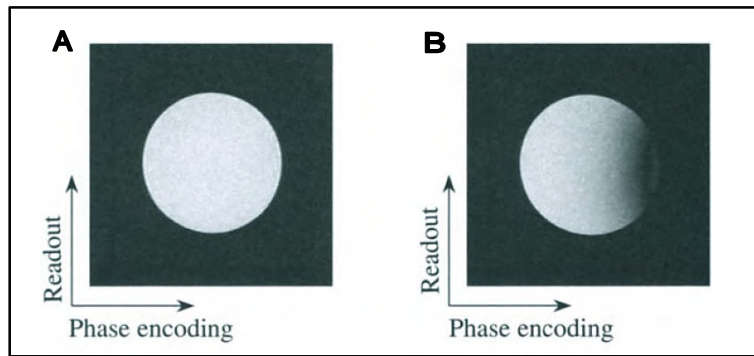


Figura 3.19: Exemplo de artefacto de susceptibilidade magnética. Foram obtidas imagens de gradiente de eco de um fantôma uniforme em duas condições: livre de qualquer material externo (A); na presença de metal (B). Consegue-se identificar a perda de intensidade de sinal devido à proximidade de material metálico. Adaptado de [32].

3.1.6.2. Artefacto de fluxo

Os artefactos de movimento de fluxo são provocados pelo movimento de um líquido tal como o líquido cefalorraquidiano ou o sangue, no seu respectivo vaso ou compartimento. Estes podem manifestar-se sobre duas formas: produzindo um aumento de sinal devido à “entrada” no corte de aquisição de prótons não-excitados (“in-flow effect”); sob forma de uma redução de sinal nos vasos, criando “imagens fantasma” de artérias ou veias na direcção da codificação de fase (“velocity-induced phase effect”) (Figura 3.20) [33].

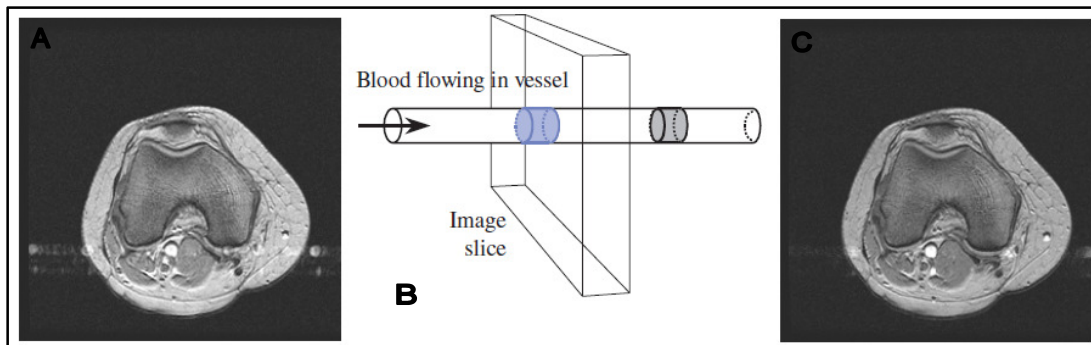


Figura 3.20: Artefacto de fluxo. Corte axial do joelho onde é visível o artefacto de fluxo a nível da artéria poplíteia e outras mais pequenas próximas desta (A). Esquema representando o processo pelo qual é originado o artefacto de fluxo (B). O mesmo corte adquirido com compensação de fluxo. Adaptado de [33].

O primeiro efeito tanto pode ocorrer em sequências SE como GE. Durante a aquisição em SE de um dado volume que contenha fluxos sanguíneos, parte dos prótons existentes no sangue só é excitada pelo pulso de RF de 90° e não pelo pulso subsequente de 180° , enquanto que outra parte só é influenciado por este último pulso de RF. Desta forma não ocorrem todos os passos necessários para a formação de um eco, dando origem a uma perda local de sinal que no entanto não afecta os tecidos adjacentes, limitando-se ao espaço interior ao vaso.

Aquando do uso de uma sequência GE, o 1º pulso excita o *bolus* de sangue presente no volume de aquisição, *bolus* este que se desloca para fora deste volume de forma imediata. No entanto, ao contrário do que acontece no SE, os gradientes que originam o eco não são selectivos de corte, condicionando uma contribuição para o sinal por parte da amostra excitada, mesmo estando esta fora do plano de corte. Em todos os cortes subseqüentes existe sempre um novo *bolus* de sangue não excitado e portanto com a sua magnetização completamente relaxada, originando-se assim um sinal ponderado em DP para o sangue que se manifesta na imagem com hipersinal.

O segundo efeito surge quando prótons em movimento num campo de gradiente magnético (tal como ocorre em GE) induzem alterações nas frequências de precessão locais, iniciando-se um processo de desfasamento e afastando-se das frequências apresentadas pelos prótons estatísticos dos tecidos vizinhos. Os prótons móveis são desta forma codificados erradamente em posições que não são as reais, manifestando-se como “imagens fantasmas” ao longo do eixo da codificação de fase.

Estes artefactos de fluxo podem ser minorados ou evitados com a utilização de bandas de saturação fora do FoV ou na direcção do corte, que saturam todos os prótons que se movimentam para “dentro” do volume de aquisição através da emissão de pulsos de RF. Estes prótons não têm tempo de recuperar a sua magnetização longitudinal e conseqüentemente não apresentam sinal. Contudo é preciso ter em atenção que esta solução implica um aumento do SAR e do tempo total de exame. Outro método possível consiste na aplicação de gradientes compensatórios de fluxo que diminuem os citados efeitos de desfasamento locais [33].

3.2. Técnicas avançadas de imagem – DTI, BOLD e T₂

3.2.1. DTI – *Diffusion Tensor Imaging*

3.2.1.1. Breve perspectiva histórica

Em 1828, o naturalista escocês Robert Brown observou sob microscopia que pólen de *Clarkia pulchella* suspenso em água exibiam um peculiar “movimento oscilatório rápido” [48]. Estudos posteriores demonstraram que este fenómeno ocorria de forma geral com partículas de pequeno tamanho suspensas numa solução. Este movimento errático de partículas seria mais tarde conhecido por “Movimento Browniano”.

Albert Einstein demonstrou no início do século XX que era possível testar experimentalmente este movimento de partículas observadas sob microscopia e assim desenvolver uma teoria cinética teórica [49, 50]. A sua teoria apontava como factores influentes para esse movimento aleatório a temperatura e viscosidade da solução e o tamanho da partícula em causa. Este estudo foi reforçado por outros desenvolvidos por Marian Smoluchowski [51] ou Jean Baptiste Perrin [52], laureado com o Prémio Nobel da física em 1926 pelo trabalho realizado nesta área.

O movimento Browniano é um fenómeno microscópico, no entanto dá origem ao fenómeno macroscópico conhecido por difusão. A difusão é assim o processo pelo qual uma substância suspensa numa solução se desloca aleatoriamente nesta última. No entanto esta teoria pode também ser aplicada à difusão de uma substância no seu próprio meio, como por exemplo, a difusão da água na água.

Após a descoberta inicial do fenómeno de RMN por Bloch [53, 54] e Purcell [55], Hahn [56] verificou alterações na amplitude do sinal de spin-eco obtido em spins com movimento térmico aleatório, seguindo-se o trabalho realizado por Carr e Purcell [57] que desenvolveram um conjunto de equações para descrever a relação entre a atenuação da amplitude de ecos com saltos discretos dos spins. Torrey [58] formulou mais tarde a equação de “*Bloch-Torrey*” em que modificou a equação original de Bloch acrescentando-lhe termos relativos à difusão e à aplicação de gradientes espaciais variáveis.

Num artigo experimental sobre difusão de spins, Stejskal e Tanner [43] desenvolveram a metodologia e teoria relativa a utilização de sequências de spin-eco com gradientes de pulso que permitiram a medição directa do factor de difusão e a análise quantitativa de coeficientes de difusão molecular. Assumindo que o gradiente aplicado é largamente superior ao campo magnético intrínseco presente na amostra ou tecido analisado, estes investigadores elaboraram uma equação (Equação de Stejskal-Tanner) que permite calcular a atenuação efectiva do sinal spin-eco (Equação 3.11). Nesta equação, $S(0)$ corresponde à amplitude do sinal logo após o pulso de excitação; G equivale à amplitude dos gradientes de difusão aplicados; δ e Δ correspondem respectivamente à duração temporal dos gradientes e ao intervalo de tempo entre estes.

Estas técnicas viriam a servir de base para a aplicação de estudos de difusão em diversos tecidos biológicos [59, 60, 61, 62, 63, 64] nos finais dos anos setenta e inícios dos oitenta.

$$S(TE) = S(0) \left[-\frac{TE}{T_2} - D \cdot \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \right] \quad \text{Equação 3.11}$$

Pouco tempo depois da primeira descrição de IRM por difusão pelos investigadores Taylor e Buschell [65], Denis LeBihan obteve a primeira imagem por difusão num sistema de RMN de corpo inteiro [66, 67]. A importância clínica de IRM por difusão tornou-se evidente quando Michael Moseley's [68] reportou que esta técnica podia detectar a presença de tecido isquémico nos primeiros minutos seguintes após o enfarte isquémico cerebral em animais. Nos anos seguintes, a IRM por difusão tornou-se *standard* para o diagnóstico precoce do enfarte cerebral agudo.

Apesar da crescente importância clínica desta técnica, esta começou a ser aplicada em outro tipo de estudos – estudos do foro arquitectónico e estrutural. Cleveland [60] foi o primeiro a medir a existência de difusão anisotrópica em tecidos biológicos (neste caso músculo

esquelético) com a utilização de IRM por difusão. Esta difusão anisotrópica surge devido a existência nalguns tecidos biológicos com uma microestrutura fortemente alinhada como é o caso de tecidos biológicos fibrosos. Nestes tecidos a difusão é mais restrita no plano perpendicular à fibra do que ao longo do eixo da fibra [69]. A presença desta anisotropia permitiu a detecção do alinhamento e orientação da microestrutura tecidular e consequentemente da arquitectura e organização de diversos órgãos e tecidos. E para facilitar este tipo de estudos foi importante a introdução do modelo do tensor de difusão à IRM por difusão por Peter Basser [70] em 1994. Este modelo forneceu um quadro analítico e sistemático para a descrição da difusão anisotrópica em tecidos biológicos, usando uma distribuição Gaussiana como modelo dominante para estudos de difusão anisotrópica.

3.2.1.2. Princípios básicos da difusão

As moléculas em fluidos ou gases possuem um movimento aleatório devido à sua energia cinética, E_{kin} , que é proporcional à temperatura do meio, T : $E_{kin} = 3/2 kT$ ($k = 1.38 \times 10^{-23}$ J/K, constante de Boltzmann). Esta energia corresponde à velocidade média v obtida através de $v = \sqrt{2 \frac{E_{kin}}{m}}$ para uma molécula de massa m . No entanto, devido a colisões frequentes com outras partículas, as moléculas não se movem linearmente numa direcção mas sim um percurso aleatório tal como pode ser visualizado numa simulação “*randomwalk*” (Figura 3.21). Nesta simulação também fica demonstrado que do ponto de vista macroscópico, o deslocamento médio ou distância de difusão, s , após um tempo t é muito mais interessante do que a velocidade linear da molécula. A distância de difusão média de uma partícula é proporcional à raiz quadrada do tempo de difusão e é descrita pelo coeficiente de difusão D : $s = \sqrt{6Dt}$.

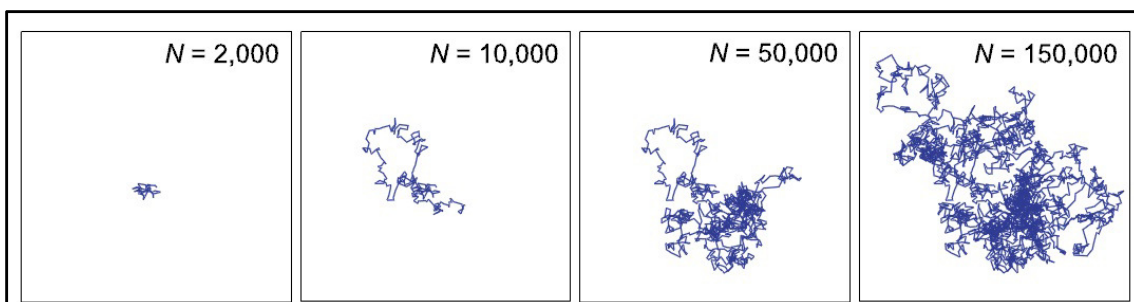


Figura 3.21 – Difusão simulada de uma molécula única. Simulação “*random-walk*” após $N = 2,000$, $10,000$, $50,000$, e $150,000$ passos simulados.

Como a difusão é um processo estocástico, a distância de difusão após um tempo t não é o mesmo para todas as moléculas mas é sim descrito por uma distribuição probabilística Gaussiana (Figura 3.22). Após um tempo de difusão t a maior parte das moléculas ainda se

encontram perto da sua posição original; a distância de difusão s corresponde ao desvio padrão da distribuição apresentada. Distâncias de difusão típicas para moléculas livres de água a temperatura ambiente rondam os 17 μm após um tempo de difusão de 50 ms. Cerca de 32% das moléculas atingem ao menos essa distância e somente 5% conseguem atingir distâncias acima de 34 μm no mesmo intervalo de tempo. [38]

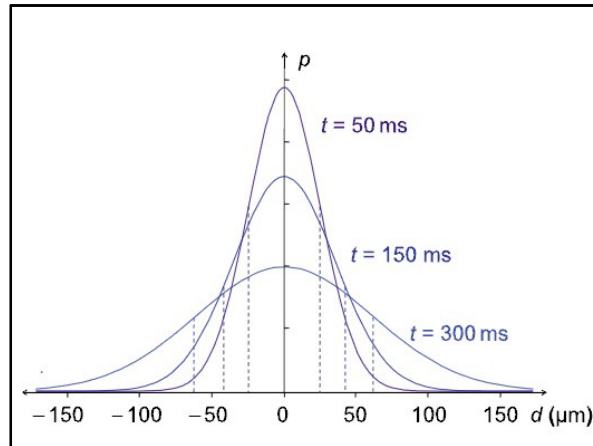


Figura 3.22 – Distribuição probabilística Gaussiana de distâncias de difusão moleculares individuais, d , após tempos de difusão de $t = 50$ ms, 150 ms e 300 ms. A distribuição é baseada no coeficiente de difusão da água a temperatura ambiente. Os desvios padrão das distribuições Gaussianas estão marcados por linhas tracejadas e indicam a distância de difusão média, s .

Em contraste com a difusão livre em água pura (Figura 3.24), as moléculas de água nos tecidos biológicos não se podem mover livremente, mas são sim condicionadas pela estrutura celular do tecido em causa, particularmente por membranas celulares, organitos celulares e macromoléculas de maior tamanho (Figura 3.23). Devido a estas colisões com outros obstáculos, a distância de difusão média das moléculas de água nos tecidos é reduzida quando comparada à água livre e conseqüentemente encontramos um coeficiente de difusão efectivo reduzido que é designado por coeficiente de difusão aparente (ADC) [28, 31, 38].

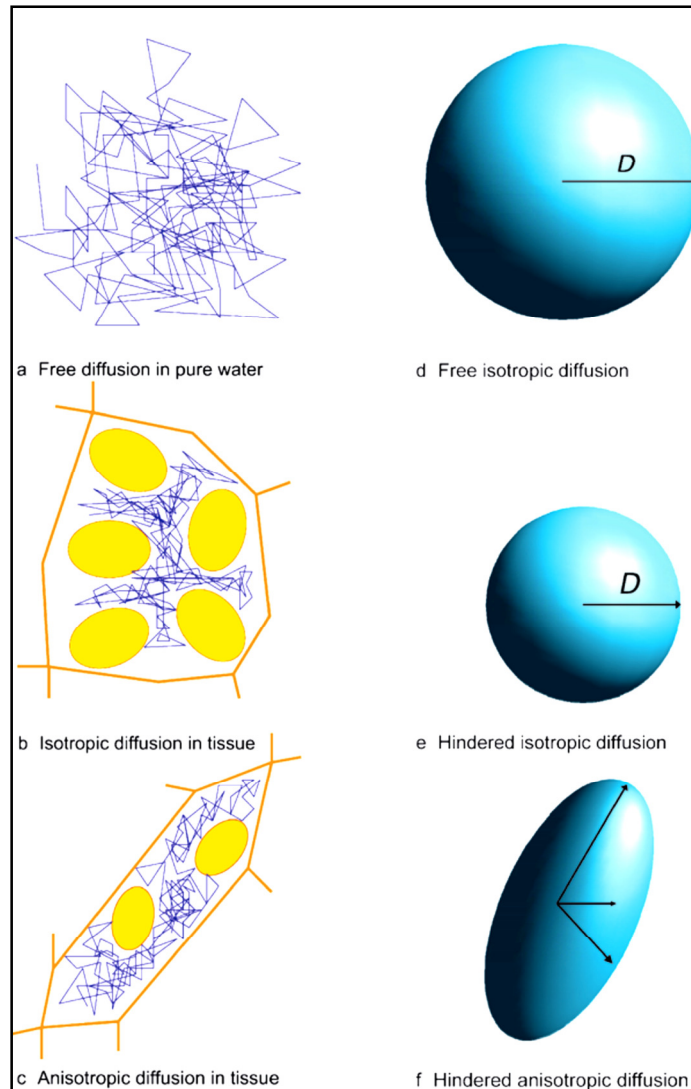


Figura 3.23 – ADC e representação esquemática de tipos de difusão: Difusão livre de moléculas de água pura (A); Difusão isotrópica restrita intratecidualar (B); Difusão anisotrópica restrita intratecidualar (C); Representação esquemática de uma difusão isotrópica livre como uma esfera de raio D (D); Representação esquemática de uma difusão isotrópica restrita como uma esfera de raio D (E); Representação esquemática de uma difusão anisotrópica como uma elipsóide com eixos de diferentes tamanhos (F).

Logicamente, o ADC calculado depende do número e tamanho dos obstáculos e portanto no tipo de células que compõe o tecido analisado. Assim, as propriedades e parâmetros obtidos por DTI podem ser utilizados para distinguir diferentes tipos de tecidos.

Para além disso, o ADC medido na direcção paralela à orientação celular vai ser maior do que aquela medida numa direcção ortogonal. Esta propriedade já mencionada anteriormente, em que existe uma dependência do valor obtido consoante a orientação espacial, é designada por anisotropia.

Quando a difusão (D) deixa de ser independente da direcção considerada como é observado nos tecidos anisotrópicos, uma nova e mais complexa matemática é necessária. Sob o pressuposto que a probabilidade do deslocamento molecular continua a seguir uma distribuição

Gaussiana multivariada, o processo de difusão poder ser descrito por um tensor de matriz 3x3 proporcional à variância da distribuição Gaussiana. O tensor de difusão, D , é assim caracterizado por nove elementos:

$$D = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \quad \text{Equação 3.12}$$

D_{xx} , D_{yy} e D_{zz} definem as constantes de difusão ao longo do eixo maior do quadro de referência e os restantes termos, D_{ij} , representam o efeito da concentração do gradiente i na difusão ao longo de j , com $i, j = x, y, z$.

Em particular, para moléculas sem carga como a água, o tensor de difusão é simétrico. Assim, $D_{ij} = D_{ji}$ e conseqüentemente o tensor pode ser definido apenas com seis elementos: D_{xx} , D_{yy} , D_{zz} , D_{xy} , D_{xz} e D_{yz} .

3.2.1.3. Parâmetros do DTI: ADC, FA, *eigenvalues* e *eigenvectors*

O tensor de difusão possui algumas propriedades que são importantes para a medição e interpretação dos dados de imagens de RM baseadas em difusão. A difusão média – média dos coeficientes de difusão em todas as orientações espaciais – pode ser derivada do traço do tensor de difusão, ou seja, da soma dos seus elementos diagonais:

$$\begin{aligned} \text{Traço de } D = \text{tr}D &= \text{tr} \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \\ &= D_{xx} + D_{yy} + D_{zz} \end{aligned} \quad \text{Equação 3.13}$$

A difusão média, $\langle D \rangle$, ou ADC é igual a um terço do traço de D : $\text{ADC} = \langle D \rangle = 1/3 \text{tr}D$.

Para analisar as propriedades não-isotrópicas do tensor de difusão é utilizado um processo designado por diagonalização do tensor. Este resume-se à procura dos três eixos (orientação e comprimento) utilizados para a definição de uma elipsóide de difusão (Figura 3.24), sendo esta uma representação tridimensional da difusão coberta no espaço pelas moléculas com dado tempo de difusão.

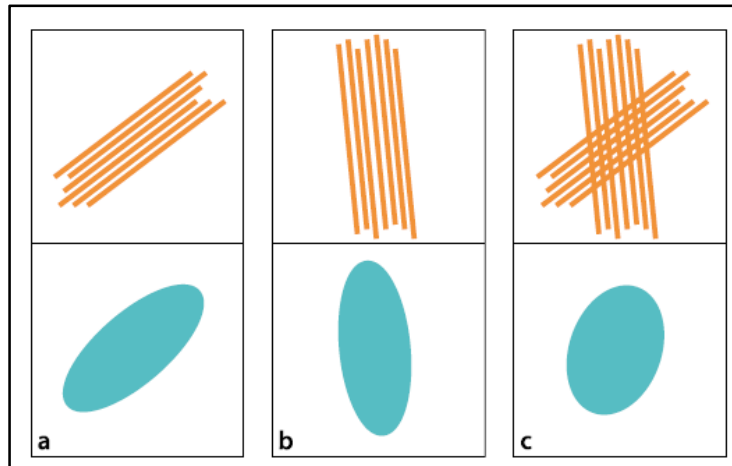


Figura 3.24: Elipsóides de difusão. Difusões anisotrópicas presentes em estruturas tubulares podem ser representadas por elipsóides (a e b) em espaço tridimensional (aqui apresentadas em 2D). A existência de elipsóides “aparentemente” representativas de difusão tendencialmente isotrópica (c) aquando de cruzamento de fibras é uma limitação do DTI mas que nesta investigação é desvalorizável pois em músculos as fibras são paralelas umas às outras. Adaptado de [26].

Matematicamente, a matriz do tensor é transformada numa forma em que todos os elementos que não são diagonais ficam zerados:

$$D' = \begin{pmatrix} D1 & 0 & 0 \\ 0 & D2 & 0 \\ 0 & 0 & D3 \end{pmatrix}, v1, v2, v3 \quad \text{Equação 3.14}$$

Os três elementos diagonais $D1$, $D2$, $D3$, ou λ_1 , λ_2 , λ_3 correspondem aos *eigenvalues* do tensor, descrevendo o comprimento dos três eixos da elipsóide (Figura 3.25.A).

Como são necessários seis parâmetros para descrever totalmente o tensor, são ainda determinados três vectores, $v1$, $v2$, $v3$, designados por *eigenvectors*. Estes são sempre ortogonais e possuem uma unidade de comprimentos, e, definem a orientação da elipsóide (Figura 3.25.B).

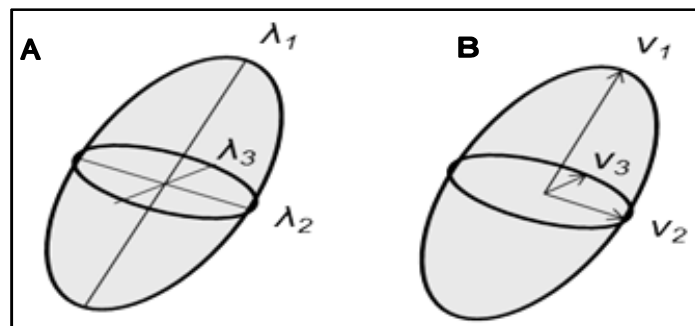


Figura 3.25: *Eigenvalues* e *eigenvectors* nas elipsóides de difusão. Os *eigenvalues* quantificam a intensidade da difusão (A) em três direcções ortogonais representados por três *eigenvectors* (B), sendo que $v1$ indica a direcção preferencial da difusão.

Esta elipsóide de difusão (Equação 3.15) permite uma visualização mais quantitativa da anisotropia dado que fornece três tipos de informação: a sua excentricidade (forma) reflecte o grau de anisotropia; o seu tamanho é proporcional ao produto dos seus três *eigenvalues* representado assim as propriedades de difusão globais das moléculas em cada vóxel da imagem; e a sua direcção demonstra a direcção de maior difusidade.

$$\frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} + \frac{z^2}{c^2} = 1$$

Equação 3.15

A elipsóide de difusão é nesta equação representada em coordenadas Cartesianas, onde a , b e c correspondem aos semieixos da elipsóide e definem o seu volume através da equação $V = \frac{4}{3} \pi . a . b . c$.

As elipsóides são difíceis de serem representadas sobre as imagens de RM em monitores e por isso foi desenvolvido um esquema de cores para codificar os dados de difusão consoante a sua principal orientação (Figura 3.26). Em resultado disso, a codificação por cores ficou definida como: azul para orientações de difusão ao longo do eixo inferior-superior; vermelho para difusões ao longo do eixo transversal (esquerda-direita); e verde para difusões ao longo do eixo ântero-posterior.

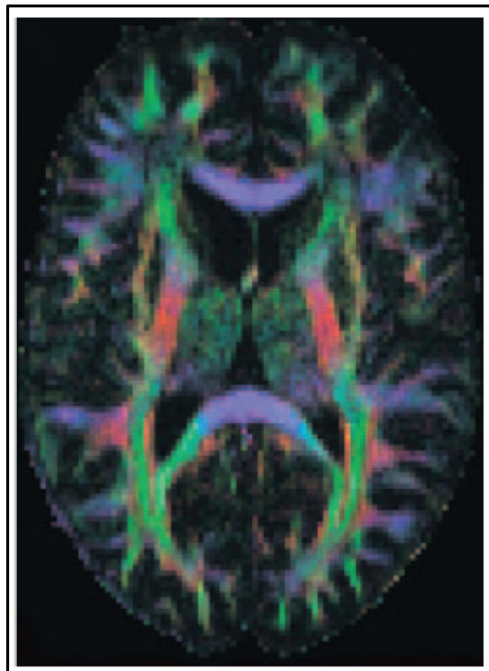


Figura 3.26: Difusão representada num mapa de cores – corte axial do crânio. Em estudos crânio-encefálicos esta representação por cores é mais importante já que – ao contrário do que acontece nos músculos – nestes encontramos uma vasta gama de orientações de difusão preferenciais. Adaptado de [37].

Eigenvalues e *eigenvectors* contribuem com informação detalhada relativa à orientação tridimensional da difusão da água. É suposto que o *eigenvector* associado com o maior *eigenvalue* esteja orientado ao longo da direcção da fibra (por defeito λ_1), enquanto que λ_2 e λ_3 se encontram orientados em direcções perpendiculares ao maior eixo da fibra.

Outro parâmetro usado frequentemente para caracterizar os *eigenvalues* proposto por Basser e Pierpaoli [71] é a anisotropia fraccional (FA). Este parâmetro encontra-se compreendido entre 0 e 1, sendo que 0 representa uma difusão perfeitamente isotrópica e 1 representa um hipotético cilindro infinitamente longo. O FA pode ser obtido através da equação seguinte onde $\langle \lambda \rangle$ corresponde à media dos *eigenvalues*:

$$FA = \sqrt{\frac{3}{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \lambda \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \lambda \rangle)^2}{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \quad \text{Equação 3.16}$$

Em termos gerais, FA = 1 num meio anisotrópico cilíndrico com $\lambda_1 \gg \lambda_2 = \lambda_3$ e FA = 0 num meio completamente isotrópico com $\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda_3$. O FA também pode ser representado sob forma de mapa de cores para melhor identificação de diferentes áreas em tecidos, sendo que a cor representa diferentes tipos de grau de anisotropia.

3.2.1.4. Tractografia

O objectivo da tractografia é a de determinar a conectividade intravoxel com base na difusão anisotrópica da água [73]. Em cada vóxel, a direcção predominante de uma estrutura tubular pode ser assumida como sendo paralela ao *eigenvector* principal (λ_1) do tensor de difusão. A tractografia utiliza o tensor de difusão de cada vóxel para seguir uma estrutura tubular tridimensionalmente de vóxel para vóxel através do tecido examinado (Figura 3.27). Para uma melhor delimitação de percursos específicos, a tractografia é frequentemente combinada com imagens anatómicas de alta resolução devido à reduzida resolução espacial desta técnica.

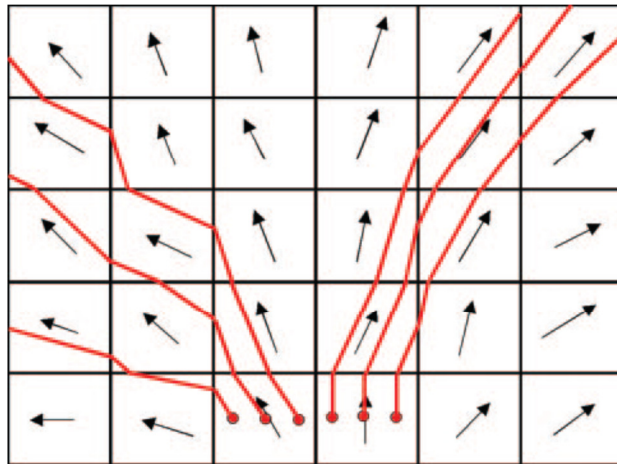


Figura 3.27 – Esquema demonstrando a reconstrução tractográfica. As setas representam o *eigenvector* principal em cada vóxel. As linhas vermelhas representam trajectos calculados. Adaptado de [73].

A tractografia permite-nos visualizar as fibras e reconstruir a arquitectura muscular, passo importante para determinação da força e potenciais cinéticos de determinado músculo [1]. A arquitectura muscular pode ser caracterizada pelo comprimento das fibras, PCSA e angulo de penetração. Todos estes parâmetros podem ser obtidos em resultado desta técnica [74].

Os algoritmos de tractografia podem ser divididos em duas classes: determinísticos e probabilísticos [73]. O “*Fiber assignment by continuous tracking*” (FACT) é um método determinístico que inicia as trajectórias de fibras a partir de vóxeis escolhidos pelos utilizadores. Estas trajectórias seguem o *eigenvector* principal de vóxel em vóxel tridimensionalmente. Quando a trajectória da fibra atinge o limite de um vóxel, a direcção da trajectória é alterada para coincidir com o *eigenvector* do vóxel seguinte. Restrições no ângulo de viragem máximo da trajectória entre vóxeis vizinhos e de um valor mínimo de FA para haver propagação da trajectória num dado vóxel podem ser aplicados para conter a tractografia à região de estudo onde o tensor de difusão representa realisticamente uma fibra e/ou estrutura tubular. Este método é fácil de ser utilizado e produz resultados satisfatórios quando as imagens obtidas por RM são de boa qualidade.

No entanto, o ruído, movimento do paciente e distorções provocadas por artefactos de imagem produzem incertezas na orientação da elipsóide de difusão e são prejudiciais para a tractografia com base em métodos determinísticos. Em resultado desse facto, métodos probabilísticos conseguem incorporar as incertezas esperadas no seu algoritmo e assim fornecer uma métrica de conectividade entre cada um dos vóxeis. A função de densidade probabilística da orientação da fibra pode ser estimada com uma função empírica baseada no FA – modelo Bayesiano. A tractografia probabilística tende a dispersar trajectórias mais facilmente do que as determinísticas, tendo assim um potencial para delimitar um maior número de tractos. Apesar dessas vantagens, este tipo de método possui uma precisão que ainda se encontra limitada pela informação contida no tensor de difusão e pelo método de construção da função de densidade probabilística.

3.2.1.5. Difusão em tecidos biológicos

Utilizando o formalismo de propagação da difusão [75], Cory [76] demonstrou que o tamanho e forma do compartimento de difusão podem ser inferidos directamente através da função de difusão observada, descoberta que permitiu o estudo morfométrico de estruturas biológicas.

Nos tecidos biológicos, as moléculas de água apresentam um comportamento na sua deslocação que difere significativamente de um verdadeiro “movimento *Browniano*” definido para moléculas livres. Neste caso, as moléculas de água colidem, atravessam e interagem com diversos componentes celulares tais como membranas celulares, fibras e macromoléculas. Na presença desses obstáculos, a actual distância de difusão é reduzida quando comparada à água livre, sendo que a distribuição dos diversos deslocamentos deixa de reflectir uma distribuição Gaussiana. Assim, tempos de difusão curtos reflectem a viscosidade intrínseca do meio, enquanto que a tempos de difusão maiores os efeitos devidos a obstáculos tornam-se predominantes [38].

O coeficiente de difusão, “D”, é substituído pelo coeficiente de difusão aparente, “ADC”, em estudos que recorram ao processo de difusão das moléculas de água em tecidos biológicos este valor de ADC será sempre inferior ao “D” das moléculas de água livre, para os mesmos tempos de difusão. Nos tecidos biológicos, o ADC encontra-se fortemente dependente da quantidade e formato das barreiras celulares existentes no tecido estudado e da disposição espacial destas barreiras na própria célula. Quanto mais restrita for a difusão das moléculas de água menor será o valor do ADC registado. Por outro lado, o ADC será tanto maior quanto mais a difusão das moléculas de água se aproximar de uma difusão “livre”, isto é, livre de qualquer obstáculo.

Os restantes parâmetros obtidos e relacionados com o DTI também sofrem alterações e demonstram características próprias tendo em conta o tecido estudado neste projecto de investigação – o músculo.

A organização ordenada da estrutura celular é determinada pelo arranjo macroscópico das fibras musculares, que formam fascículos que se agrupam para formar músculos. As membranas celulares – sarcolema – enclausuram dentro das células organitos celulares, tais como as mitocôndrias e o citoesqueleto. Partes deste citoesqueleto consistem de filamentos proteicos contrácteis alinhados – filamento grosso e filamento fino. Cortes transversais a estas regiões de sobreposição de ambos os filamentos demonstram uma estrutura em formato de “favo de mel”. As moléculas de água difundem assim mais facilmente ao longo dos fascículos de fibras do que numa direcção perpendicular onde esta difusão é restrita por barreiras celulares [77, 78, 79]. Alterações estruturais dos fascículos as próprias fibras musculares aquando de lesão [80, 81] ou consoante o alongamento ou encurtamento muscular [82, 83, 84, 85, 86, 87] vão provocar alterações nas propriedades difusivas das moléculas de água intracelular, observáveis com recurso ao DTI.

Assim, dado que o músculo é primariamente constituído por estruturas tubulares correspondente às fibras musculares, o FA calculado nestes casos irá apresentar um valor que tenderá para se aproximar de “1”. As moléculas de água possuem neste tipo de tecidos uma direcção preferencial para a sua difusão. Estas conseguem-se difundir mais facilmente numa direcção paralela à orientação da fibra muscular, enquanto que nas direcções perpendiculares encontrarão mais obstáculos tais como as membranas celulares. A difusão encontrada nos músculos é desta forma fortemente anisotrópica.

Em consequência da estrutura tubular das fibras musculares e em sequência do FA esperado, consegue-se inferir que os *eigenvectors* e *eigenvalues* também apresentarão características próprias. Assim, o v_1 representará a direcção preferencial de difusão e será acompanhado por um λ_1 de intensidade largamente superior a λ_2 e λ_3 , que associados a v_2 e v_3 representarão direcções de difusão perpendiculares à direcção preferencial [37, 77, 79, 88, 89, 90].

3.2.1.6. Limitações e artefactos

As primeiras limitações neste tipo de estudos resultam do equipamento de RM utilizado. Dado que o deslocamento mínimo molecular provocado por difusão mensurável por pulsos de gradientes é primariamente determinado pela intensidade e duração dos pulsos de gradiente (factor “b”), implica que o equipamento de RM permita fornecer gradientes estáveis e de alta intensidade [38]. Actualmente, conseguem-se gradientes de 40-100 mT/m, com tempos de subida inferiores a 300 ms e *slew rate* elevado que já conseguem bons resultados.

Quando o equipamento não possui gradientes potentes são utilizadas soluções alternativas como a utilização de pulsos de gradiente longos, mas desta forma as medidas de difusão tornam-se mais difíceis de interpretar, já que o tempo de difusão se torna mais longo e difícil de caracterizar [91].

Os artefactos mais comuns em estudos de difusão resultam da utilização de pulsos de gradientes necessários à codificação de deslocamentos moleculares microscópicos relacionados com processos de difusão.

3.2.1.6.1. Artefactos de correntes *eddy*

O principal problema originado com a utilização do sistema de gradientes é a indução de correntes *eddy* durante o processo rápido de activação e desactivação dos pulsos de gradientes que originam campos magnéticos locais. Quando isto acontece, surge em oposição a esses campos magnéticos uma corrente eléctrica induzida (correntes *eddy*) nas diversas superfícies condutoras localizadas dentro da *gantry* da RM, sendo que a corrente criada é tanto

maior quando mais intenso for o pulso de gradiente que a criou. Estas correntes originam por sua vez gradientes de campos magnéticos que persistem após a desactivação do gradiente primário. Os *spins* experienciam conseqüentemente gradientes que não são aqueles que foram programados originalmente, o que vai ter repercussões na reconstrução da imagem que assim se apresenta com diversas distorções (Figura 3.28) [26, 38, 73].

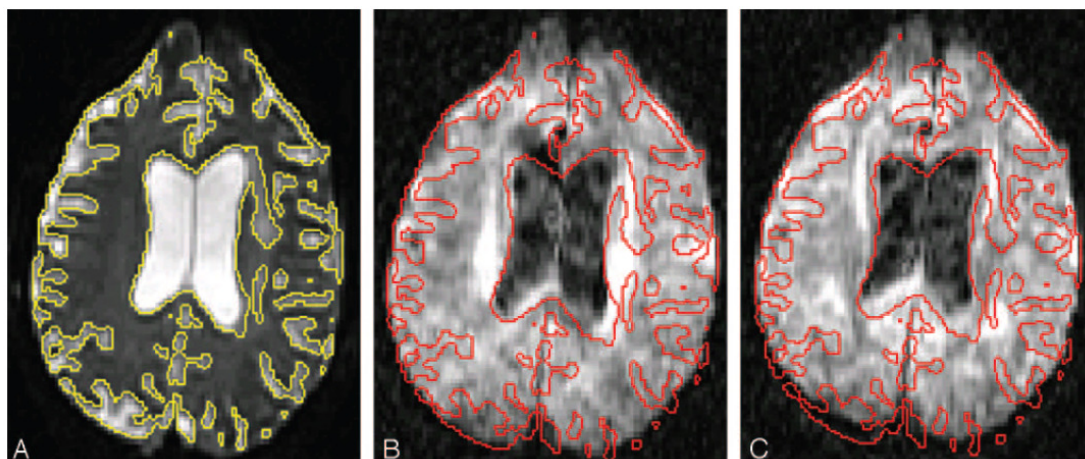


Figura 3.28: Artefactos relacionados com a presença de correntes *eddy*. Imagem $b=0$ s/mm² do encéfalo com delimitação do líquido cefalorraquidiano (LCR) a amarelo (A). Imagem DWI correspondente adquirida na mesma posição com a mesma delimitação do LCR a vermelho em que podemos verificar um deslocamento (*shift*) das estruturas no sentido anterior (B). Outra imagem DWI obtida numa direcção diferente mas em que o deslocamento ainda é mais intenso (C). Adaptado de [73].

Para além disso, o factor “b” experienciado pelas moléculas de água pode diferir ligeiramente do valor esperado, levando a uma sub- ou sobrestimação do ADC. Dado que o factor “b” escala com o quadrado da intensidade do gradiente, este efeito não deve ser negligenciado [26].

Existem alguns processos que podem atenuar os efeitos nefastos resultantes da indução de correntes *eddy*, sendo que a melhor solução actual passa pela “auto-blindagem” das bobinas de gradientes de forma a limitar o mais possível os efeitos dos gradientes fora destas bobinas (especialmente no criostato). No entanto, correntes *eddy* residuais podem surgir na mesma e possivelmente nunca serão totalmente eliminadas. Assim, outra forma de combater os seus efeitos nas imagens é recorrendo a *software* de pós-processamento que com maior ou menor eficácia conseguem corrigir distorções na imagem e erros de cálculo relativos ao ADC. [92]

3.2.1.6.2. Artefactos de movimento

A segunda maior origem de artefactos de imagem são os artefactos de movimento. A base dos estudos de difusão em RM assenta como explicado anteriormente (capítulo 3.2.1.2.) no facto de que na presença de gradientes, o deslocamento molecular da água através de difusão induz

alterações de fase. Dado que o movimento das moléculas é aleatório e pode tomar diversas direcções, a distribuição de alterações de fase resultam numa perda de coerência e numa atenuação de amplitude de sinal. Ao mesmo tempo, na presença de movimento macroscópico (movimento do sujeito, pulsação, tremor, etc.), os *spins* sofrem deslocamentos elevados que resultam em alterações de fase *major* (10 a 100 vezes mais acentuados do que aqueles provenientes da difusão). Se todos os *spins* num dado vóxel experienciarem o mesmo deslocamento derivado de movimento macroscópico, não existe uma perda de coerência mas sim uma alteração geral da fase do sinal, sem efeito na atenuação do sinal e no ADC obtido. O problema surge quando a sequência é repetida diversas vezes com diferentes padrões de movimento [36].

O resultado de uma distribuição errada de alterações de fase ao longo do tempo associada ao espaço-k é óbvio. As imagens resultantes exibem “sombrias” ou “imagens fantasmas” ao longo da direcção de codificação de fase que se apresentam tanto pior quanto mais intenso for o gradiente ou maior for o movimento involuntário presente (Figura 3.29).

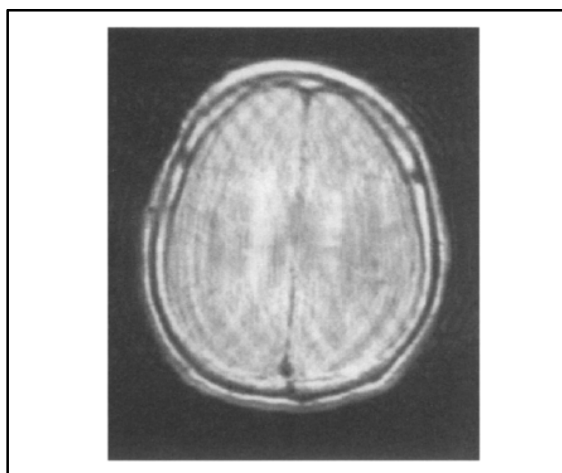


Figura 3.29: Exemplo de artefacto de movimento. Imagem SE crânio-encefálica onde é visível o *blurring* e distorção provocada pela movimentação do sujeito. Adaptado de [32].

Para atenuar estes artefactos pode-se recorrer a métodos que sincronizem a aquisição com a fonte do movimento como por exemplo o uso de *cardiac gating* ou a utilização de “*navigator echoes*”. Porém, este benefício é realizado à custa de uma maior duração de exame. Estes métodos analisam o comportamento do batimento cardíaco ou da posição do diafragma durante a respiração normal para poder assim condicionar as aquisições a intervalos de tempo definidos em que determinadas estruturas se encontram na mesma localização espacial. No entanto, no estudo presente nesta dissertação estes métodos não trazem grandes benefícios, já que o objecto de estudo são os músculos da perna e não estruturas do tronco onde estes métodos são mais utilizados. Neste caso, a melhor maneira de evitar artefactos de movimento é através da eliminação directa e máxima do próprio movimento (alcançado através de dispositivo descrito no capítulo 4.2.1.2.) e/ou pela utilização de sequências menos sensíveis a artefactos de movimento como é o caso da imagem eco-planar (EPI) [35, 38].

3.2.1.6.3. Artefactos associados a sequências EPI

A principal vantagem das sequências EPI é como já referido anteriormente o reduzido tempo de aquisição de imagens. No entanto, esta técnica tem factores associados que lhe são prejudiciais. A resolução espacial em estudos EPI é muito limitada (por volta dos 2 mm) devido a limitações de *hardware*. Para além disso, as limitações do equipamento também obrigam a um *echo train length* na ordem dos 50 – 100 ms, o que leva a um efeito de *blur* nas imagens obtidas, dado que o decaimento do sinal T_2^* decorre ao mesmo tempo que a captação do sinal (*readout* do sinal) [38]. Este efeito pode ser atenuado com a utilização de técnicas de aquisição paralela em que o sinal é adquirido simultaneamente através de várias bobines.

Outro facto a ter em conta é que apesar de estar resolvido o problema dos artefactos resultantes do movimento com esta técnica, este pode estar na mesma presente, mas camuflado de outra forma nos dados obtidos. Os mapas de ADC são calculados através de uma série de diferentes imagens sensibilizadas a valores “b” diferentes e/ou a direcções de difusão variadas. Se houver movimentação do sujeito, um determinado vóxel da imagem poderá não se encontrar na mesma posição espacial ao longo das várias séries de dados.

No entanto, os principais efeitos nefastos originados em sequências EPI provêm dos artefactos de correntes *eddy* já mencionados e da utilização de larguras de banda baixas.

3.2.1.6.3.1. Correntes *eddy* e “N/2 ghosting”

As correntes *eddy* modificam a forma dos pulsos de gradientes, provocando um atraso na criação do eco (Figura 3.30.A). Devido à trajectória “vai e volta” no espaço-k usada em EPI, os centros dos respectivos ecos ficam desalinhados de linha para linha (Figura 3.30.B). Os dados apresentam-se modulados ao longo da direcção de codificação de fase com uma frequência igual a metade da largura de banda da codificação de fase. Quando se procede à transformada de Fourier, esta modulação resulta numa imagem duplicada a meio-FoV [38]. Este tipo de “imagem fantasma” é frequentemente designada por “N/2 ghost” (Figura 3.31).

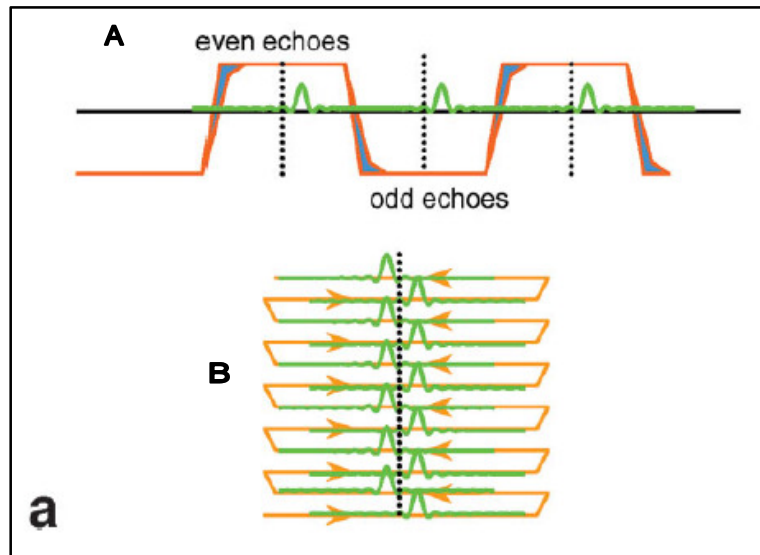


Figura 3.30: A influência das correntes *eddy* nos pulsos de gradientes. As correntes *eddy* provocam um atraso na criação do eco (A), condicionando um reposicionamento destes para fora do centro de forma alternada (numa linha para à esquerda do centro, na seguinte para a direita e assim consecutivamente) aquando do varrimento “vai e volta” no espaço-k (B). Adaptado de [38].

A utilização de “blindagem” nas bobinas de gradiente é de novo muito importante na redução de grande parte das correntes *eddy*, sendo que a sua total eliminação é difícil de atingir. No entanto, pode ser efectuada uma compensação do atraso através de *software*, adicionando-se um desvio da fase apropriado aos dados. Mais recente e com bons resultados têm sido a aquisição de referência sem codificação de fase e utilizá-la para determinação do desvio de fase em causa [38]. Esta aquisição de referência é frequentemente incluída na etapa preparatória pré-exame do equipamento de RM.

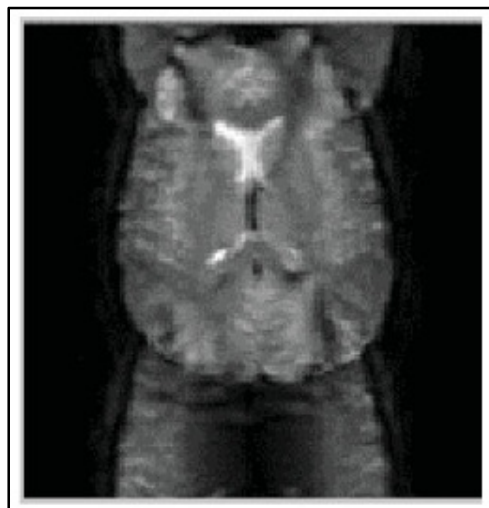


Figura 3.31: *N/2 Ghosting*. Imagem axial encefálica onde é visível o artefacto originado pela presença de correntes *eddy* e subsequente modulação errónea do sinal. Adaptado de [38].

3.2.1.6.3.2. Os artefactos de desvio químico

Em IRM convencional, a diferença entre frequências em pixéis adjacentes é da ordem dos 100Hz a 1.5T. Uma fonte de desvio de frequência em mais do que 100Hz vai implicar desta forma um deslocamento de pixéis. Por exemplo, a diferença no desvio químico entre a água e a gordura é de 220Hz a 1.5T. Assim, um desvio no sentido da codificação de frequência de 1/2 pixéis é bastante aceitável.

No entanto e apesar da largura de banda em sequências EPI ser bastante elevada (ordem dos kHz), a elevada velocidade de amostragem ao longo da codificação de frequências e o contínuo esquema de codificação de fase usado em EPI, resulta numa relativa baixa largura de banda ao longo deste eixo de codificação de fase (por volta dos 30Hz por pixel). Este problema origina consequentemente severos artefactos (Figura 3.32) na presença de desvios de frequências locais, que nestes casos se irão manifestar na direcção da codificação de frequência [38, 90]. Segundo o exemplo anterior, a gordura e a água do mesmo compartimento ficam agora deslocadas uma da outra por cerca de 8 pixéis. Este problema é agravado devido ao tamanho do vóxel em sequências EPI e é potenciado com o aumento da intensidade do campo de B_0 [26, 36].

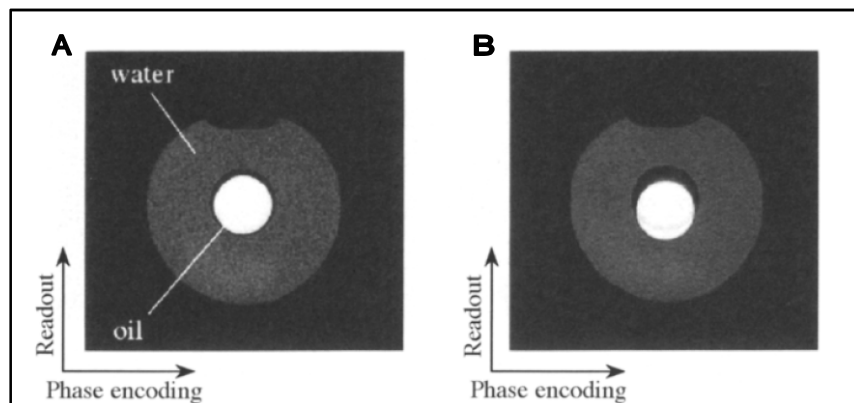


Figura 3.32: Exemplo de artefacto de desvio químico. São obtidas duas imagens (A e B) num equipamento de 1,5T em spin-eco de um fantôma composto por um recipiente com óleo vegetal localizado dentro de um tubo de maior dimensões repleto de água. Obtido com gradiente de codificação de fase de 0,6 gauss/cm (A); A 0,15 gauss/cm (B). O deslocamento espacial da gordura em (B) origina um *void* na região correspondente a uma “perda artificial” da gordura. Adaptado de [32].

Porém, na maior parte dos casos, é a componente da água que é de interesse. Assim, podem ser aplicadas técnicas de supressão do sinal da gordura que colmatam o problema anterior. Este procedimento é realizado através de um pulso de supressão de gordura (pulso de 90° à frequência da gordura) previamente ao estudo propriamente dito que coloca o sinal da gordura no plano transversal, sinal este, que desfase facilmente com a aplicação de um pulso de gradiente [26, 36].

3.2.1.6.4. Artefactos relacionados com tractografia

A tractografia é realizada com base na informação proveniente da sequência DTI e é por isso antes de tudo o resto fortemente dependente da qualidade dos dados obtidos nesta e no tratamento subsequente destes mesmos dados.

O registo incorrecto das imagens DWI provocado por artefactos de correntes *eddy*, os artefactos de movimento e suas imagens “fantasma”, a perda de sinal resultante de variações de susceptibilidade magnética, todos estes factores podem afectar o cálculo computacional das trajectórias dos tractos (Figura 3.33) [93].

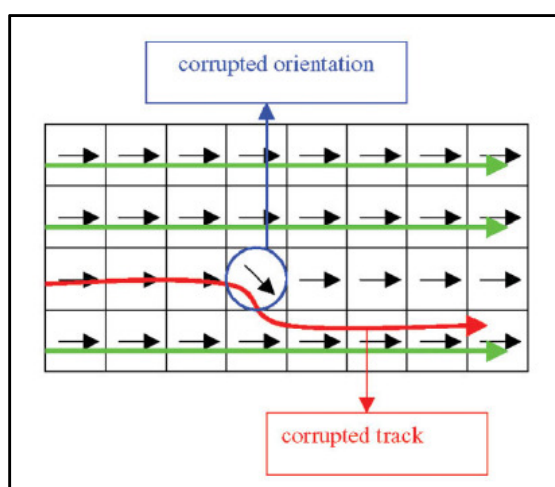


Figura 3.33: Esquema demonstrando erro na orientação do tracto. Este esquema demonstra como um erro na determinação da difusão preferencial num vóxel (devido a baixo SNR ou distorção geométrica por exemplo) pode condicionar a identificação errada de um tracto. Adaptado de [38].

É por isso importante garantir aquisições optimizadas e tentar eliminar ou pelo menos diminuir o impacto de qualquer artefacto existente, seja isto feito aquando da aquisição ou durante o pós-processamento das imagens obtidas. O problema presente na figura anterior (Figura 3.33) pode por exemplo colmatado com recurso a “factores de paragem”¹² que obrigam à paragem do processo de tractografia para determinado tracto. A tractografia pode acabar quando o FA registado em determinado vóxel for inferior a um dado valor (implicando que o meio se tornou isotrópico e portanto deixou de existir uma direcção preferencial de difusão), quando o ângulo entre dois vectores de vóxeis vizinhos for superior a dado valor (importante no caso dos músculos já que possuem fibras “lineares” e paralelas) ou quando é atingido um dado limite (limite muscular ou semelhante, normalmente definido pelo utilizador).

É também necessário ter atenção na delimitação de ROI's. Dado que estes são normalmente delimitados nas imagens anatómicas de referência e depois transpostos para as imagens

¹² Do inglês, Stop Factors

funcionais, se ambos os volumes de imagens não estiverem correctamente registados um com o outro (por falha do utilizador, do pós-processamento ou simplesmente devido a distorções residuais devidas ao EPI) então a origem dos tractos e consequente propagação computacional destes pode ficar comprometida. Pode desta forma não ficar garantido que se estejam a avaliar os tractos correctos de dado tecido ou sequer que estes sejam criados pois o ROI pode encontrar-se sobreposto a uma estrutura vascular, nervosa ou até gordura.

Apesar de todos estes potenciais problemas e artefactos, o facto de que no presente estudo o tecido analisado ser o músculo esquelético reduz e/ou evita situações existentes em investigações focadas noutras estruturas como o cérebro ou o músculo cardíaco.

As fibras nestes últimos tecidos biológicos podem possuir diferentes orientações no mesmo local e inclusive fundir-se ou cruzar entre si [94, 95]. Este facto faz com que um vóxel possa englobar diferentes “populações” de fibras, não apresentando assim uma clara difusão preferencial num determinado sentido [38, 93, 94]. O DTI como base da tractografia tornar-se-ia incapaz de caracterizar de forma correcta a amostra em causa, já que assume a presença de uma “população” homogénea dentro de cada vóxel (distribuição Gaussiana). A utilização de vóxeis mais pequenos e o desenvolvimento de novos modelos de difusão (fora do âmbito desta dissertação) permitiram colmatar estas limitações.

3.2.2. BOLD

A técnica de BOLD em RM foi descrita pela primeira vez por Ogawa *et al.* [96] em 1990 em estudos cerebrais com ratos e tornou-se rapidamente importante nos estudos funcionais do cérebro, revolucionando até as neurociências. A técnica de BOLD permitiu a identificação das regiões activadas durante a realização de uma dada tarefa directamente nas imagens obtidas de parênquima cerebral. Este mapeamento da função cerebral começa a ser hoje em dia muito importante na avaliação clínica de pacientes com distúrbios ou lesões cerebrais.

Mais tarde, começou também a ser utilizada em estudos musculares por autores como Lebon *et al.* [97], Ledermann *et al.* [98, 99] ou ainda Schulte *et al.* [100]. Surge assim o estudo funcional dos músculos através da imagem por ressonância magnética (mfMRI¹³) que pode ser sucintamente definido como a avaliação do diferente grau de activação muscular na execução de uma actividade com a associação da aquisição de imagens anatómicas de referência do(s) músculo(s) em causa [101].

Estes investigadores provaram a existência do efeito BOLD nos músculos e analisaram a influência da isquemia ou de patologias como a doença vascular profunda no sinal obtido neste tipo de estudos quando comparados com sujeitos saudáveis.

¹³ Do inglês, *muscle functional Magnetic Resonance Imaging*.

Os primeiros estudos a associar BOLD com músculo e exercício surgiram posteriormente. Noseworthy *et al.* [102] verificaram o comportamento do sinal BOLD e o intensificar da circulação sanguínea após o exercício em duas condições respiratórias diferentes: respirando ar normal e respirando 100% de oxigénio. Este estudo foi complementado por Bulte *et al.* [103] em que foram adicionados vaso-moduladores ao paradigma de exercício e se verificou a diminuição do sinal BOLD na presença de anti-histamínicos ou o aumento deste mesmo sinal após a toma de cafeína. Towse *et al.* [104] concluíram de igual forma que um mesmo protocolo de exercício (contrações ligeiras da perna) aplicado em dois grupos diferentes – sedentários e indivíduos activos – implicava diferenças no sinal BOLD obtido, sendo este muito mais intenso e de maior duração no grupo dos indivíduos activos.

3.2.2.1. Princípios teóricos

O sinal BOLD surge na presença da desoxyhemoglobina, que possuindo propriedades paramagnéticas, acaba por perturbar o campo magnético local, actuando desta forma como um agente de contraste endógeno. Esta perturbação não ocorre na presença da oxihemoglobina que possui propriedades diamagnéticas [105]. A intensidade do sinal vai assim depender directamente da razão oxihemoglobina – desoxyhemoglobina (HbO_2 / Hb) presente localmente.

Se a maior parte do sangue na área de estudo se encontrar desoxigenado, isto é, apresentar uma concentração de Hb mais elevada do que a de HbO_2 , então vão ocorrer um maior número de distorções nos gradientes do campo magnético. Estes distúrbios não acontecem só nos vasos sanguíneos mas também nos tecidos adjacentes, levando a uma perda de magnetização *spin-spin* por efeitos de susceptibilidade magnética (i.e., maior decaimento T_2^*) e consequentemente a uma declínio acelerado do sinal. [26, 96]. É devido a importância destes efeitos de susceptibilidade magnética que a sequência de eleição para estudos baseados em BOLD é o GE EPI, já que esta possui uma pesada ponderação em T_2^* e é assim muito sensível a este processo. Para além disso, estas sequências são rápidas e dessa forma é teoricamente possível adquirir múltiplas imagens num intervalo de tempo curto, permitindo obter uma resolução temporal elevada e adequada a este tipo de estudos funcionais [36].

Paradoxalmente, os primeiros estudos cerebrais demonstraram um comportamento completamente diferente do esperado aquando de estimulação sensorial e verificação das áreas do córtex activadas. O sinal de RM apresentava-se mais intenso em regiões de actividade neuronal onde o consumo de oxigénio era mais elevado. O consenso científico actual é de que um consumo aumentado de oxigénio pelos neurónios quando activados é acompanhado de um desproporcional aporte acrescido de sangue completamente oxigenado, de forma a que à jusante do local de activação a concentração de desoxyhemoglobina decresce, condicionando um T_2^* elevado e um sinal de RM mais intenso (Figura 3.34) [33, 36].

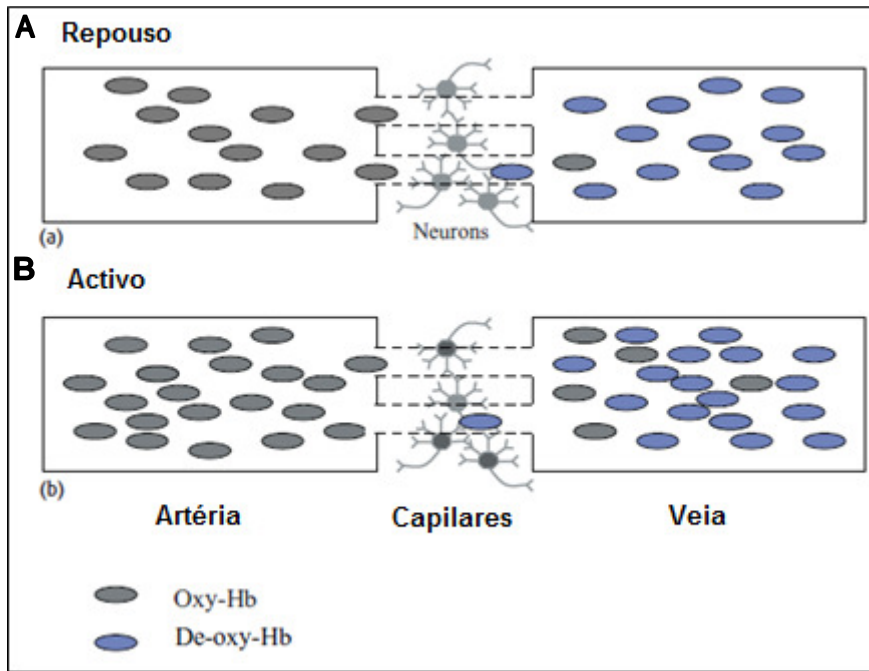


Figura 3.34: A origem do sinal BOLD. Após activação (B), o aporte aumentado de sangue oxigenado leva a uma redução da concentração de desoxyhemoglobina e a um conseqüente aumento do T_2^* local. O sinal obtido é assim de maior intensidade comparando com a situação de repouso (e/ou zonas sem activação). Adaptado de [33].

3.2.2.2. BOLD em tecidos biológicos

Os estudos BOLD consistem numa avaliação temporal das alterações de intensidade do sinal BOLD. Desta forma consegue-se observar de forma indirecta o comportamento do sangue e determinar o grau de activação dos músculos analisados após a execução de um dado protocolo de exercício.

O sinal BOLD em estudos cerebrais apresenta normalmente um comportamento geral após activação próximo do demonstrado na figura abaixo (Figura 3.35). Nos estudos musculares, este comportamento vai possuir características diferentes consoante o músculo em causa. A intensidade máxima atingida, a velocidade de retorno a uma situação de “repouso” e os respectivos tempos, entre outros, vão depender do grau de activação dos músculos e das suas características intrínsecas [106].

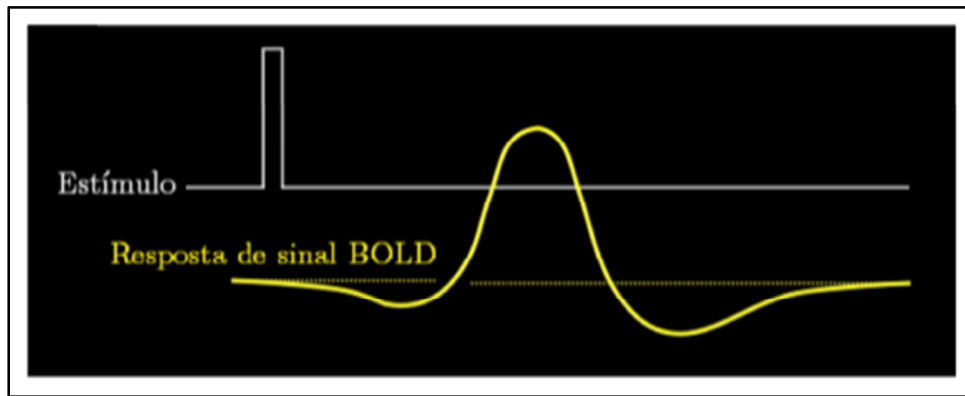


Figura 3.35: Modelo representativo do comportamento do sinal BOLD após activação em estudos funcionais cerebrais.

Na imagem acima consegue-se verificar que antes do aumento do sinal BOLD existe um intervalo de tempo curto em que o sinal decresce do seu valor de referência. A este fenómeno dá-se o nome de “dip” e é devido ao consumo local de oxigénio na ausência de resposta hemodinâmica. Depois deste “dip”, o sinal BOLD aumenta de forma rápida até atingir um valor máximo, voltando a decrescer de seguida de forma progressiva. No entanto, o sinal BOLD chega a ultrapassar a linha base de referência por sobrecompensação, só estabilizando e suavemente voltando a esta *à posteriori*.

Apesar de todos os potenciais determinadores do sinal de BOLD tais como patologias do foro vascular (como é o caso da doença vascular periférica mencionada anteriormente), alterações provocadas pela idade [100] ou factores relacionados com aspectos farmacêuticos como a toma de anti-histamínicos ou a simples ingestão de cafeína, o presente estudo tomou precauções de modo a que os resultados obtidos fossem exclusivamente (tanto quanto fosse possível do nosso conhecimento) resultantes dos factores fisiológicos normais (Figura 3.35).

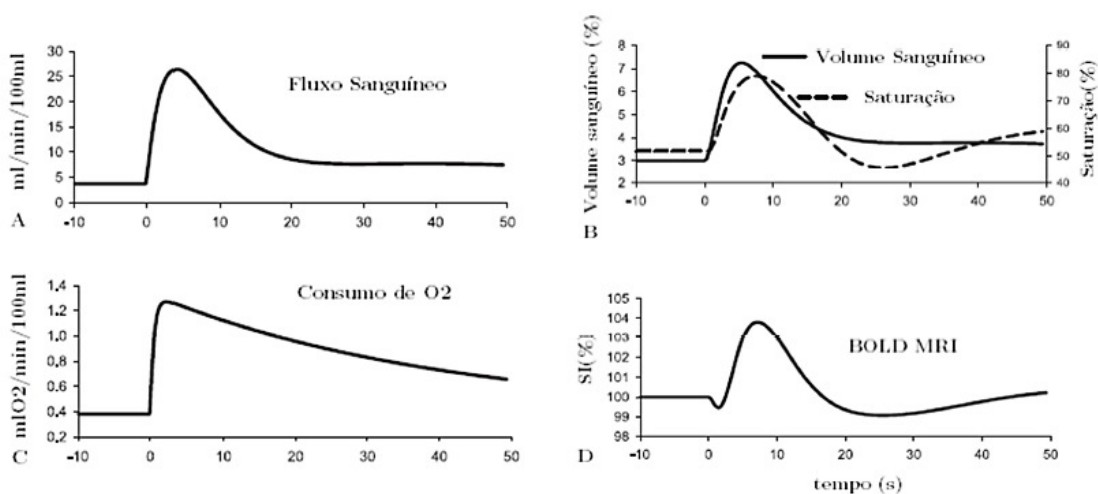


Figura 3.35: Modelo representativo da resposta à activação em estudos do cérebro. Resposta ao nível do fluxo sanguíneo (A), volume sanguíneo e saturação (B), consumo de O₂ (C) e sinal de intensidade BOLD (D). Adaptado de [104].

A causa principal de efeito BOLD registado neste estudo resulta desta forma da diminuição da fracção de extracção de oxigénio, subsequente à activação muscular através de exercício intenso, sem descurar a relativa contribuição por parte do volume sanguíneo local [104]. É este sinal, que registado ao longo de um intervalo definido de tempo, nos vai permitir inferir o comportamento da água e o grau de activação muscular.

É no entanto necessário ter também atenção às especificações da sequência BOLD. Um factor importante é a escolha do TE a ser aplicado. Damon *et al.* [107] utilizou uma sequência GE de duplo eco (6 e 46ms) para elucidar a origem do sinal BOLD após contracções ligeiras do músculo e comparou os resultados com dados de volume sanguíneo e saturação de oxiemoglobina provenientes de espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS¹⁴). Verificou desta forma que o contributo para o sinal do volume sanguíneo era mais predominante quando utilizado um TE curto, enquanto que com um TE longo o principal factor era o grau de oxigenação do sangue.

3.2.3. Relaxometria T₂

A Relaxometria é o estudo e a medição do tempo de relaxamento T₂ dos tecidos. Alterações no T₂ dos músculos esqueléticos induzidas pelo exercício são um tema já estudado há algum tempo. Este fenómeno foi descrito inicialmente por Bratton *et al.* [108] em 1965 que reportaram um aumento no valor de T₂ de músculos *ex-vivo* isolados de rãs após contracções isométricas através de estimulação eléctrica. Estes autores sugeriram que este aumento seria devido ao distúrbio do equilíbrio entre moléculas livres de água e moléculas de água ligadas a proteínas, aquando da contracção muscular [60, 108, 109].

Mais tarde e com o desenvolvimento de protocolos de relaxometria mais fiáveis foi verificado que o relaxamento T₂ é multiexponencial e caracterizado por três componentes distintos – <5, 20-40 e >80 ms. O componente intermédio representava a maioria do sinal [110, 111]. Os três componentes foram atribuídos respectivamente a moléculas de água ligadas a proteínas, água intracelular e água extracelular [111, 112]. Segundo este estudo, as alterações no T₂ reflectiam trocas de moléculas de água entre os diversos compartimentos. No entanto, o consenso não era total e Fung e Puon [113] por exemplo descreveram o T₂ muscular como não sendo multiexponencial mas sim uma reflexão do funcionamento complexo das trocas de iões de hidrogénio entre a água e os filamentos proteicos com características funcionais. Esta explicação seria reforçada pela noção da redução do valor de pH que ocorre nos tecidos musculares aquando do exercício [113].

No entanto, esta técnica só começou realmente a ganhar forma com os primeiros estudos *in-vivo* dos músculos [114, 115] onde se observaram alguns componentes T₂ não encontrados

¹⁴ Do inglês, near-infrared spectroscopy.

anteriormente em estudos ex-vivo. Saab *et al.* [115] investigaram o comportamento do relaxamento transversal do músculo flexor profundo dos dedos em doze sujeitos antes e depois de intensa contração palmar das mãos (aperto de mão). Verificaram desta forma que o T_2 médio aumentava do seu valor pre-êforço de 32 ms em cerca de 19% ($p < 0,05$) após a aplicação do exercício. Através da relaxometria identificaram pelo menos três componentes para todos os sujeitos com valores médios de 21, 40 e 137 ms, representativos respectivamente de 34, 49 e 14% do sinal total obtido. Com o exercício, estes valores sofrem alterações na ordem dos -44% ($p < 0,05$), 52% ($p < 0,05$) e 23% ($p < 0,05$) respectivamente.

Existem assim grandes alterações nos tempos de relaxamento T_2 dos diversos compartimentos subsequente ao exercício intenso, sendo que os componentes com mais impacto e sujeitos a maior alteração são os associados a um menor T_2 .

Nygren *et al.* [116] estudaram mais tarde o comportamento complexo da água nos tecidos musculares (activos e inactivos) da perna após o exercício, através de várias técnicas ligadas à RM. Verificaram que após o exercício intenso, o T_2 da perna activa aumentava em média 15,5% ($p < 0,05$). A perna contralateral (inactiva) por outro lado, sofria uma ligeira diminuição do seu T_2 de 3,1% ($p < 0,05$). É de salientar que também foram estudadas as alterações no T_2 com recurso a um protocolo de exercício mais leve, mas deste modo não se verificaram alterações significativas neste valor de T_2 .

Estes autores inferiram, juntamente com outros dados obtidos (ADC e CSA), que o aumento no T_2 era indicativo de uma acumulação de água extravascular ligada à perfusão, condicionada pela elevada actividade metabólica local e em menor medida por pressão hidrostática.

Estas alterações são também reportadas em outros estudos funcionais baseados em músculos da perna tais como identificado nas investigações realizadas por Yanagisawa *et al.* [117] que utilizaram o GM e um protocolo de exercício baseado em flexões plantares do pé ou o estudo de Yanagisawa *et al.* [118] com base no TA e um exercício consistindo em flexões dorsais da tibiotársica.

4. Metodologia

4.1. Caracterização da amostra de voluntários

Neste estudo participaram seis voluntários do sexo feminino (Tabela 4.1) com idades compreendidas entre os 21 e os 34 anos (idade média de 25,7 anos e uma variação de 5,2 anos). A altura média dos sujeitos era de 1,65 metros e a massa média era de 61,0 kg com uma variação de 8,1 kg. As voluntárias encontravam-se saudáveis e sem história recente de qualquer patologia ou queixas a nível físico. Estas eram também praticantes regulares de desporto e portanto fisicamente activas. Todas elas foram informadas dos diversos passos do estudo e sobre as condições e contra-indicações da participação neste, sendo depois inscritas e registados os seus consentimentos na Clínica de Ressonância Magnética de Caselas. Este estudo foi aprovado pela comissão de ética da Faculdade de Motricidade Humana (FMH/UTL).

Tabela 4.1 – Caracterização da amostra quanto à idade, altura e massa corporal.

Idade	Idade (anos)	Altura (metros)	Massa (quilogramas)
Sujeito A	34	1,70	70
Sujeito B	30	1,65	59
Sujeito C	24	1,68	72
Sujeito D	22	1,60	53
Sujeito E	23	1,66	54
Sujeito F	21	1,59	58
Média + Desvio Padrão	25,7 ± 5,2	1,65 ± 0,04	61,0 ± 8,1

4.2. Protocolo de estudo

Todas as aquisições de IRM foram realizadas na Clínica de Ressonância Magnética de Caselas com o apoio de uma Técnica de Radiologia com larga experiência em IRM e familiarizada com o equipamento de RM utilizado, em colaboração e sob orientação da equipa de investigação. As imagens obtidas foram depois analisadas por um Médico Radiologista que verificou a ausência de qualquer tipo de patologia ou alterações musculares que pudessem prejudicar os resultados e mesmo invalidar a continuação do sujeito em causa no presente estudo.

O equipamento de RM utilizado nas recolhas foi um *Signa HDxt* da *GE Healthcare* (USA) com uma intensidade de campo magnético de 1,5T. Este equipamento possui uma tecnologia de aquisições paralelas de 8 canais de modo a possibilitar recolhas mais rápidas. Os gradientes presentes permitem a obtenção de amplitudes de 33mT/m a uma velocidade (*slew rate*) de 120 T/m/s.

Relativamente ao sistema de bobines de RF, utilizou-se uma bobine emissora-receptora torácica de 8 canais otimizada para técnicas de aquisição de imagens paralela, com uma cobertura máxima de 48 cm de comprimento.

4.2.1. Protocolo geral de estudo

As recolhas de imagens foram realizadas em diversas sessões ao longo de três meses, atingindo-se um total de doze sessões. Em cada sessão, decorridas à mesma hora do dia (entre as 21 e 24 horas) eram examinadas as pernas dominantes (em 100% dos casos a perna direita) de duas voluntárias. No entanto, cada uma delas deslocou-se ao local de exame em duas sessões distintas, sendo que numa das sessões foram adquiridas as sequências BOLD e T_2 e na outra o estudo de DTI. Estas não foram realizadas conjuntamente em sessão única pois se tal ocorresse, aquela que fosse realizada em último lugar perderia uma grande parte da informação resultante das alterações arquitetónicas e fisiológicas decorridas do protocolo de exercício. Esta divisão em duas sessões foi decidida após estudo preliminar descrito no capítulo 4.2.2.3 que demonstrou um regresso rápido dos valores dos parâmetros DTI obtidos após o exercício aos valores registados em repouso. Foi dado prioridade ao estudo DTI e colocado em sessão exclusiva já que esta é relativamente mais longa do que as outras e é esta que fornece uma maior quantidade de informações necessárias sobre a arquitetura muscular e a influência da instalação da fadiga nesta.

As várias sessões consistiram em três fases: uma aquisição de imagens pré-exercício, a realização do protocolo de exercício e a aquisição de imagens pós-exercício.

4.2.1.1. Protocolo de exercício

Cada sujeito efectuou uma sequência de saltos unipedais (Figura 4.1) com a perna dominante (em 100% dos casos a perna direita) com as mãos colocadas nas ancas e olhar fixo sobre a linha do horizonte, até à exaustão completa. Neste protocolo os músculos da perna maioritariamente activadas são os flexores do pé. Dependendo da forma física e da capacidade de resistência de cada voluntária, o tempo de realização de exercício foi variável (média de 1min30s). Este paradigma simples de exercício permitiu a obtenção de uma fadiga rápida e intensa, junto ao equipamento, de forma a que o reposicionamento do sujeito na mesa de exame fosse o mais breve possível. Alguns investigadores como Nygren *et al.* [116] utilizaram um ergómetro dentro do equipamento de RM para exercitar o músculo, no entanto, o protocolo escolhido para o presente estudo aproxima-se mais de uma situação real e provoca uma fadiga mais intensa e rápida.

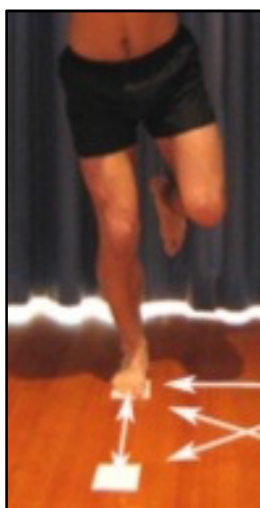


Figura 4.1 – Protocolo de exercício utilizado – saltos unipedais. São realizados uma sucessão de saltos com a perna dominante até à exaustão completa. A perna contra-lateral encontra-se suspensa durante todo o exercício.

4.2.1.2. Protocolo de RM

As recolhas de imagens foram realizadas com as voluntárias em decúbito dorsal e em posição de “feet-first”. A componente posterior da bobine de RF encontra-se colocada na mesa de exame enquanto que a componente anterior é posicionada sobre as pernas, envolvendo-as dos lados, sendo depois fixa à mesa. O sujeito encontra-se em decúbito dorsal com a perna a ser observada posicionada num suporte idealizado e desenvolvido pela equipa de investigação, tal como descrito no capítulo 4.2.2.2. Este dispositivo permitiu entre outras vantagens uma melhor imobilização da perna e a suspensão dos músculos presentes nesta região anatómica,

evitando-se desta forma qualquer moldagem ou compressão dos músculos da perna contra a mesa de exame (Figura 4.2).

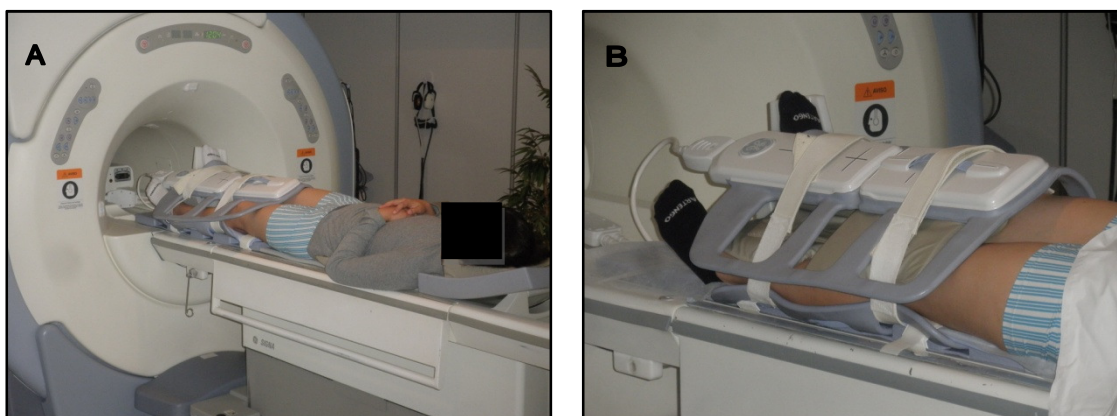


Figura 4.2 – Posicionamento do sujeito na mesa de exame com perna apoiada em suporte “*home-made*” (não visível nestas imagens – ver capítulo 4.2.1.2 para mais detalhes) e bobine colocada e fixa à mesa de exame (A). Uma vista mais aproximada do posicionamento (B).

Numa primeira fase e após preparação do equipamento e posicionamento da voluntária na mesa de exame com perna colocado no suporte, foi realizada uma aquisição ponderada em DP para referência anatômica, seguida das imagens DTI.

Após a realização do exercício, iniciou-se uma segunda ronda de aquisições de imagens, mas com as sequências em ordem inversa (DTI seguida da DP), de modo a que fosse possível à sequência DTI registar os parâmetros arquitetónicos e alterações sofridas pelos tecido muscular, antes que estes voltassem aos seus valores de repouso pré-exercício. O suporte da perna estava fixo à mesa de exame e as bobines não se encontravam removidas, de forma a que aquando do regresso do sujeito, a perna pudesse ficar colocada na mesma posição.

Na sessão dedicada ao BOLD e T_2 , iniciou-se o exame com a sequência DP, seguida do T_2 e do BOLD. Na fase pós-exercício a ordem destas também foi invertido passando a ser BOLD, T_2 e DP.

Todas as sessões foram de forma geral realizadas à mesma hora do dia, entre as 21h e as 24h, em dias de semana úteis.

Dada a dimensão do comprimento das pernas e de forma a minimizar a presença de distorção de imagem (Figura 4.3) existente nas regiões mais afastadas do isocentro do campo magnético principal (B_0), todas as sequências foram realizadas para as metades superior e inferior da perna, salvaguardando o facto de que o primeiro corte da metade inferior da perna estivesse contíguo (i.e., à distância da espessura de corte) do último corte da metade superior. A metade superior foi obtida sempre em primeiro lugar após o exercício, já que era nesta metade que se encontrava maior volume muscular.

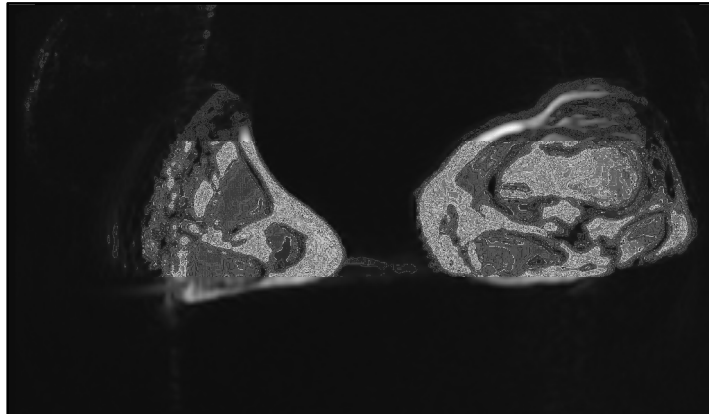


Figura 4.3 – Imagem de RM obtida durante os primeiros testes aquando da aquisição das duas pernas em simultâneo. Vêem-se claramente artefactos de imagem sobre a forma de uma distorção anatómica das estruturas da perna (predominantemente na perna direita).

Optou-se por uma espessura de corte de 3,9 mm de modo a que os vóxeis obtidos nas sequências funcionais de DTI e BOLD fossem o mais próximo de um cubo (vóxeis isotrópicos) quanto exequível para um FoV de 250 mm e matriz de imagem de 64 x 64 pixéis. O facto de os vóxeis serem isotrópicos melhora qualitativamente a tractografia que se pode obter *à posteriori*, já que o cálculo da progressão e reconstrução as fibras é realizada de “cubo” para “cubo” [95]. Para além disso, é necessário assegurar-se que o tamanho do vóxel seja o mais pequeno possível pois este afecta directamente a probabilidade de surgirem erros durante a tractografia e o grau de efeito de volume parcial existente [95]. Vóxeis maiores têm uma maior probabilidade de conter uma maior quantidade de tractos de fibras e se estas forem de populações de fibras com diferentes orientações então podem surgir erros na estimação da direcção das fibras através do DTI. Apesar disso, nos músculos, este problema é atenuado pelo facto de que as fibras em dado músculo terem geralmente a mesma orientação geral.

Salienta-se também que não deve haver “*gaps*” entre os cortes contíguos, o que impediria em absoluto uma correcta e fiável tractografia, dada a falta de dados e informação provenientes das áreas não abrangidas durante a aquisição de imagens.

4.2.1.2.1. DP

Para efeitos de referência anatómica foi efectuada uma sequência FSE ponderada em DP. Esta ponderação permite uma melhor visualização dos limites dos diversos músculos quando comparada a ponderações em T_1 e T_2 (Figura 4.4).

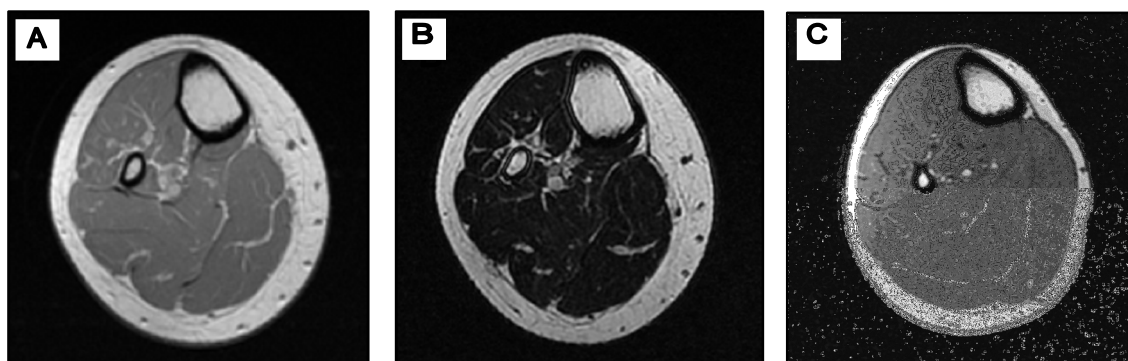


Figura 4.4 – Imagens de RM da perna com diversas ponderações: A – DP; B – T₂; C – T₁. Todas estas imagens foram adquiridas durante o presente estudo. Imagem A e B representam o mesmo corte axial realizado ao mesmo sujeito donde é proveniente a imagem C, mas sendo esta última representativa de um corte numa posição mais inferior/distal.

Adquiriram-se dois volumes (metades superior e inferior da perna) de 54 cortes cada com uma espessura de 3,9 mm. Utilizou-se um TE de 7,6 ms e um TR de 4140 ms. As imagens foram obtidas numa matriz de 256x256 pixéis. Esta sequência teve uma duração de 6min0s.

4.2.1.2.2. DTI

Para a obtenção dos dados relativos às propriedades difusivas das moléculas de água nos tecidos musculares foi utilizada uma sequência EPI-SE com um TE de 35,0 ms e um TR de 3622 ms. Foram adquiridos 54 cortes de 3,9 mm para cada metade da perna exercitada. O valor de “b” escolhido foi de 400 s/mm², um NEX de 4 excitações e 12 direcções de gradiente diferentes (Tabela 4.2). Cada sequência DTI teve uma duração de 8min50s.

Tabela 4.2 – Tabela de direcções de gradiente de difusão utilizada neste estudo. Não se encontra incluído a aquisição realizada sem factor de difusão (com factor “b” = 0).

Direcção nº		Direcção nº	
01	1, 0, 0.	07	0.544087, 0.480077, 0.68811
02	0.725848, 0.687856, 0	08	0.0789891, 0.996863, -0.00499931
03	0.166946, -0.198936, 0.965688	09	0.772737, -0.182938, 0.607793
04	0.732131, -0.619111, -0.284051	10	0.4849, -0.781839, 0.391919
05	-0.239064, -0.71019, 0.662177	11	0.0809666, -0.787675, -0.610748
06	-0.758866, -0.222961, 0.611892	12	0.363001, -0.245001, -0.899002

4.2.1.2.2.1. Selecção do valor “b”

Geralmente, a utilização de um valor de “b” elevado é benéfico, já que assim se aumenta o grau de ponderação de difusão da aquisição, à custa de alguma perda de SNR. É por esta razão que estudos encefálicos utilizam frequentemente valores de “b” na ordem dos 1000 s/mm² ou mais. Contudo, os músculos – e ao contrário das estruturas encefálicas – possuem um tempo T₂ muito reduzido (Tabela 4.3) e um comportamento difusivo muito elevado (em que o ADC varia e decresce de forma muito rápida). Portanto, o valor “b” a utilizar em estudos musculares deve ser baixo para poder “captar” o comportamento rápido das moléculas de água e de forma a permitir a redução do tempo TE de e maximizar o SNR obtido [80, 119]. Assim, em estudo do músculo através de DTI, os valores “b” mais utilizados encontram-se na ordem dos 400-600 s/mm².

Tabela 4.3 – Tempos T₁ e T₂ de vários tecidos (a 1,5T). Adaptado de [30].

Tecidos	T ₁ (ms)	T ₂ (ms)
Substância branca	921	101
Substância cinzenta	787	92
Líquido cefalorraquidiano (LCR)	3000	1500
Fígado	493	43
Baço	782	62
Rim	652	58
Músculo	868	47

O valor usado para o factor “b” específico varia de autor para autor e não encontramos um consenso absoluto sobre o valor a usar em estudos dos músculos da perna. Até com uma breve revisão da literatura, verifica-se por exemplo que alguns autores utilizaram valores de “b” que vão dos 400 s/mm² [79, 120, 121], 450 s/mm² [86], 500 s/mm² [74, 80, 83, 89, 122, 123], 600 s/mm² [90, 116], ou até aos poucos recomendados 700 s/mm² [82, 124]. A utilização de um valor de “b” diferente também têm tradução directa na imagem tal como é visível na figura abaixo (Figura 4.5).

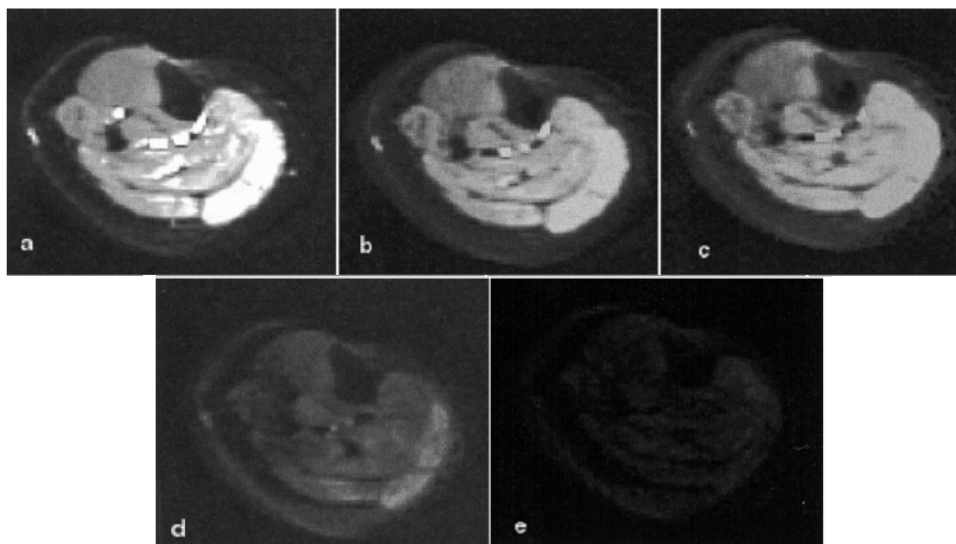


Figura 4.5 – A influência do valor de “b” na imagem. Imagens axiais da perna obtidas no mesmo voluntário e no mesmo nível de “corte”, mas com valores de “b” diferentes: 0 (a), 64 (b), 256 (c), 577 (d) e 1074 s/mm² (e). Adaptado de [90].

Saupe *et al.* [44] realizaram um estudo importante quanto a este tema, procurando otimizar o valor “b” para estudos dos músculos da perna a 1.5T. Focando-se nos músculos TA e GL e utilizando valores “b” específicos entre 125 e 1000 s/mm², verificaram o SNR obtido, calcularam a densidade de fibras que atravessava determinado ROI e analisaram qualitativamente os tractos obtidos. Concluíram que a maior densidade de fibras era obtida com recurso a um valor “b” de 625 s/mm² (TA e GL). O mesmo valor foi também responsável pelas imagens e tractos de melhor qualidade aparente. No entanto, o SNR começava já a ser muito afectado quando comparado com valores “b” menores. A decisão final é então assente num compromisso entre qualidade vs. SNR, tal como se pode verificar no gráfico que estes últimos autores apresentaram (Figura 4.6).

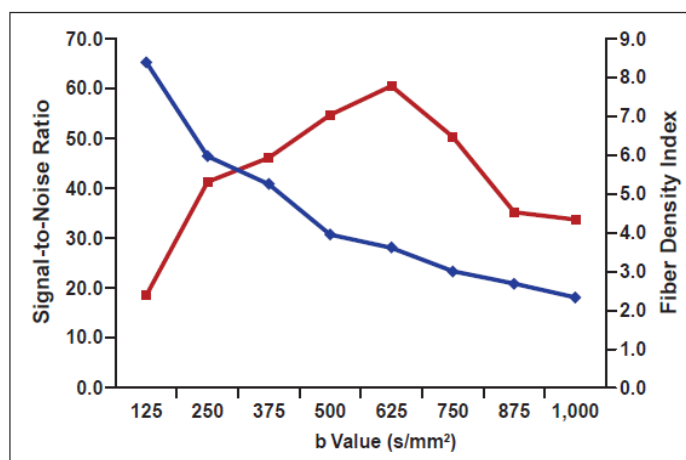


Figura 4.6 – Relação entre SNR e o índice de densidade de fibras. O SNR (a azul) decresce à medida que o valor “b” aumenta, enquanto que o índice de densidade de fibras (a vermelho) vai aumentando até atingir o seu valor máximo com um valor “b” de 625 s/mm², passando depois a decrescer de forma relativamente rápida. Adaptado de [44].

Dado este contexto, para este estudo, foi seleccionado um valor “b” de 400 s/mm^2 . Este valor permite a obtenção de um SNR e um índice de densidade de fibras satisfatórios, com o auxílio do emprego de um TE curto (35 ms). Além disso, o valor de ADC do músculo médio é maior do que o do cérebro (músculo: $1,55 \times 10^{-3} \text{ s/mm}^2$ vs cérebro: $0,89 \times 10^{-3} \text{ s/mm}^2$) e por isso o impacto de um factor “b” reduzido é menor neste tipo de tecido [90]. Ao mesmo tempo, os valores e dados obtidos referentes às propriedades difusivas em estudo, não são prejudicadas ao ponto de se tornarem enviesadas, o que também é reforçado e compensado através da utilização de um maior número de direcções de gradientes de difusão (ver capítulo 4.2.2.4.)

4.2.1.2.3. BOLD

Com recurso a uma sequência EPI-GE, obtiveram-se as imagens BOLD em 60 volumes temporais. O TE desta sequência foi de 35,0 ms e o TR de 3622 ms. Os 54 cortes realizados em cada metade da perna foram realizados com uma espessura de 3,9 mm e as imagens dispostas numa matriz de 64x64 pixéis. Esta sequência apresentou uma duração de 5min23s por volume de aquisição.

4.2.1.2.4. Relaxamento T_2

As imagens ponderadas em T_2 foram obtidas através de uma sequência FSE com um TE de 105,8 ms e um TR de 2000 ms. Em concordância com as sequências anteriores, também aqui se obtiveram 54 cortes com uma espessura de 3,9 mm. Cada volume ponderado em T_2 demorou 5min05s a ser obtido.

Tabela 4.4 – Parâmetros principais das sequências utilizadas neste estudo.

	Sequência	TE (ms)	TR (ms)	Nº de cortes	Espessura de corte (mm)	Matriz de Imagem (pixéis)	FoV (mm)
DP	FSE	7,6	4140	54 (x 2)	3,9	256 x 256	250
DTI	EPI-SE	76,1	10000	54 (x 2)	3,9	64 x 64	250
BOLD	EPI-GE	35,0	3622	54 (x 2)	3,9	64 x 64	250
T2	FSE	105,8	2000	54 (x 2)	3,9	256 x 256	250

4.2.2. Estudos Preliminares

Este tipo de investigação dos parâmetros arquitectónicos e fisiológicos em músculos encontra-se ainda na sua infância, especialmente quando associada a realização de exercício intenso e instalação de fadiga. Assim, foram necessários diversos estudos prévios à definição e aplicação do protocolo de estudo definitivo que passam a estar contextualizados e descritos neste subcapítulo.

4.2.2.1. Aquisição de imagens em “ambas as pernas” vs “perna dominante”

Uma das primeiras decisões a ser tomada durante a elaboração deste projecto foi a escolha entre adquirir imagens de ambas as pernas vs. a perna dominante de forma isolada. A vantagem imediata de uma aquisição bilateral seria a utilização da perna não-exercitada como referência para a avaliação do comportamento do sinal e alterações sofridas pela perna dominante, submetida a exercício intenso.

Por outro lado, estudos anteriores [116, 125, 126, 127] demonstraram que a perna que supostamente estaria em repouso relativo também sofria alterações derivadas do exercício da perna contra lateral. Músculos da perna não-exercitada também são estimulados por nervos simpáticos e foi também observado uma redução no CSA. Estes efeitos ainda não foram completamente estudados, mas pensa-se que a razão principal para a existência destas alterações provém e resulta do recrutamento energético (e consequentemente do sangue) por parte da perna em exercício, que necessita – especialmente quando o exercício é rápido e intenso – de um grande aporte de energia para colmatar as suas necessidades imediatas.

Estas alterações na perna não-exercitada também foram verificadas nesta investigação aquando da realização do estudo preliminar descrito no capítulo 4.2.2.3. em que se verificou um decréscimo do valor de ADC logo após a realização do protocolo de exercício.

Mas a aquisição e apreciação das duas pernas (Figura 4.7) traz alguns inconvenientes. Para que este tipo de aquisição fosse possível, o FoV teria que ser aumentado para valores na ordem dos 40x40 cm. Dado que nas sequências funcionais (DTI e BOLD), a matriz de imagem utilizada é de 64x64 pixéis, então teríamos pixéis de elevado tamanho. Isto é, a imagem obtida teria uma resolução espacial muito reduzida. Este facto traria muitas dificuldades na delimitação de ROI's nos diversos músculos e na interpretação dos dados obtidos, já que um único píxel poderia conter ao mesmo tempo informação de diversas estruturas diferentes. Ao mesmo tempo, a execução de tractografia (no DTI) é fortemente condicionada nestas condições, originando múltiplos erros no cálculo dos trajectos fibrosos.

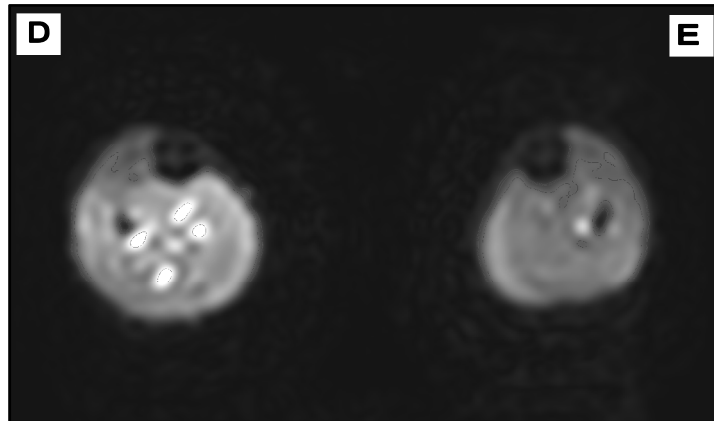


Figura 4.7 – Imagem de DTI obtida através da aquisição simultânea de ambas as pernas. Esta imagem foi obtida após o exercício pois é claramente visível o hipersinal da maior parte dos tecidos da perna direita (exercitada) (D) quando comparados com os da perna esquerda (E).

Em alternativa poderiam adquirir-se ambas as pernas de forma isolada. Porém, esta opção duplicaria o tempo de exame, o que neste tipo de estudos funcionais é fundamental evitar-se. Além disso, quando se comparasse os dados obtidos das duas pernas, estes implicariam a presença de erro, já que se estaria a comparar tecido muscular em “fases temporais” de recuperação diferentes.

Tendo em conta todos estes factores foi decidido que só seriam realizadas aquisições das pernas exercitadas, considerando os parâmetros e valores pré-exercício dessas mesmas pernas como referência e controlo para o estudo.

4.2.2.2. Criação de um suporte para a perna

Durante o desenvolvimento desta investigação surgiu uma necessidade natural para a criação de um suporte para a perna em estudo. Esta necessidade baseou-se em três aspectos fundamentais: estabilização da perna, garantindo que a perna estivesse na mesma localização e da mesma forma entre as aquisições pré e pós-exercício; prevenção de qualquer deformação e moldagem dos músculos da perna contra a mesa de exame ou qualquer outro componente, ficando assim numa situação livre e natural; manutenção da articulação da tibiotársica numa posição estável e a angulação constante de 15º de flexão plantar.

O desenho de um suporte foi assim idealizado para colmatar as diversas exigências. Após algumas propostas e correcções, foi avançada a construção de um protótipo baseado no esquema e planificação final (Figura 4.8, 4.9 e 4.10). Este protótipo foi produzido por uma empresa externa sobre orientação e supervisão dos membros do presente projecto. Este dispositivo foi criado com materiais compatíveis com RM, sendo constituído por PVC na sua maior parte, uma pequena peça de cortiça (apoio da perna na região poplíteia) e algumas tiras

de velcro. As tiras de velcro eram utilizadas para fixar o suporte à mesa de exame e o pé ao seu respectivo apoio.

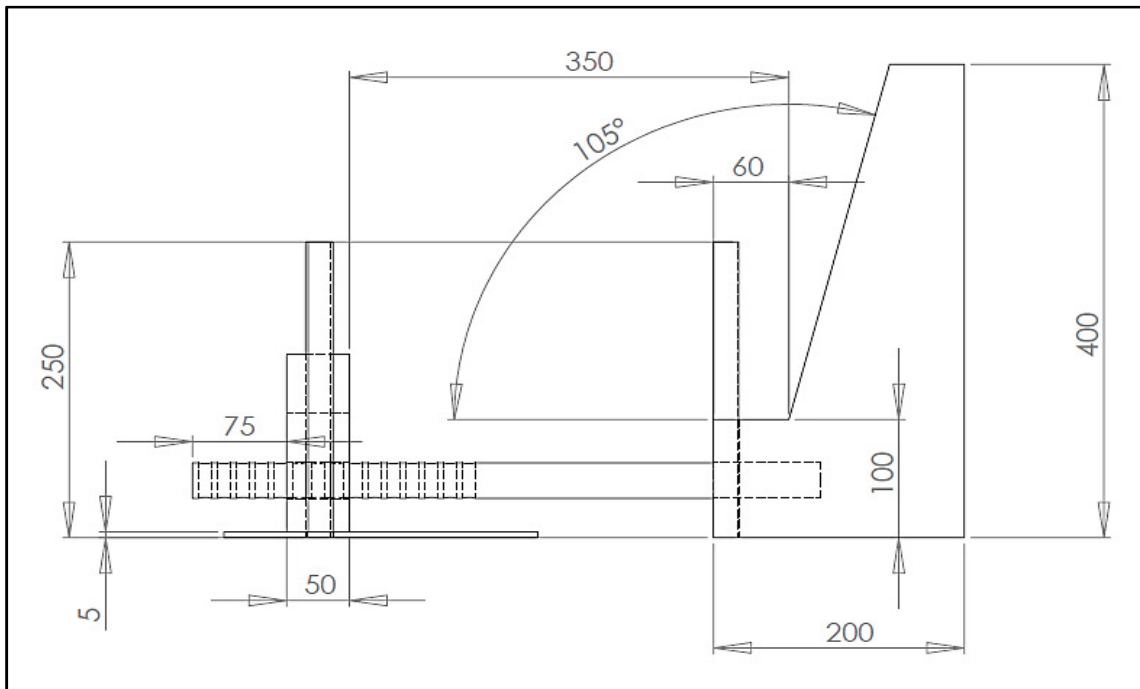


Figura 4.8 – Vista lateral do suporte da perna.

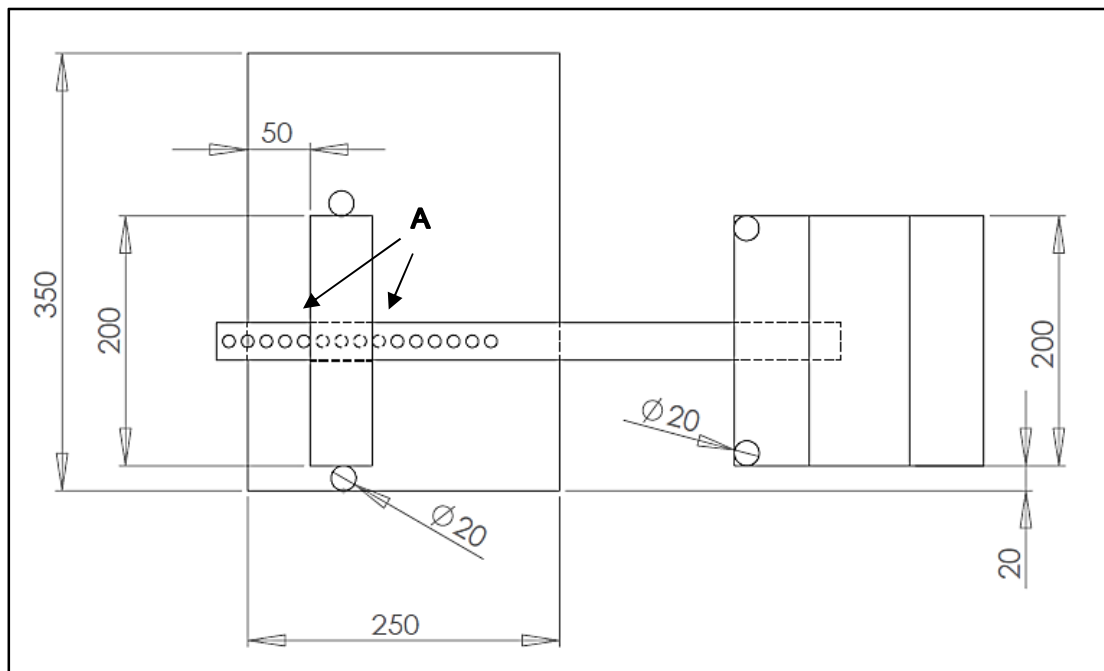


Figura 4.9 – Vista superior do suporte da perna. “A” representa localizações onde cavilhas são colocadas de forma a fixar e definir o comprimento do suporte.

Este suporte tem ao mesmo tempo a capacidade de ser adaptado aos diversos tamanhos de perna, sendo que o apoio do pé possui um tubo que pode ser ajustado no bloco responsável

pelo apoio da parte superior da perna, consoante o tamanho pretendido. A fixação é conseguida através da colocação de cavilhas (ver setas “A” na Figura 4.9), bloqueando deste meio qualquer deslize subsequente do tubo pelo suporte.

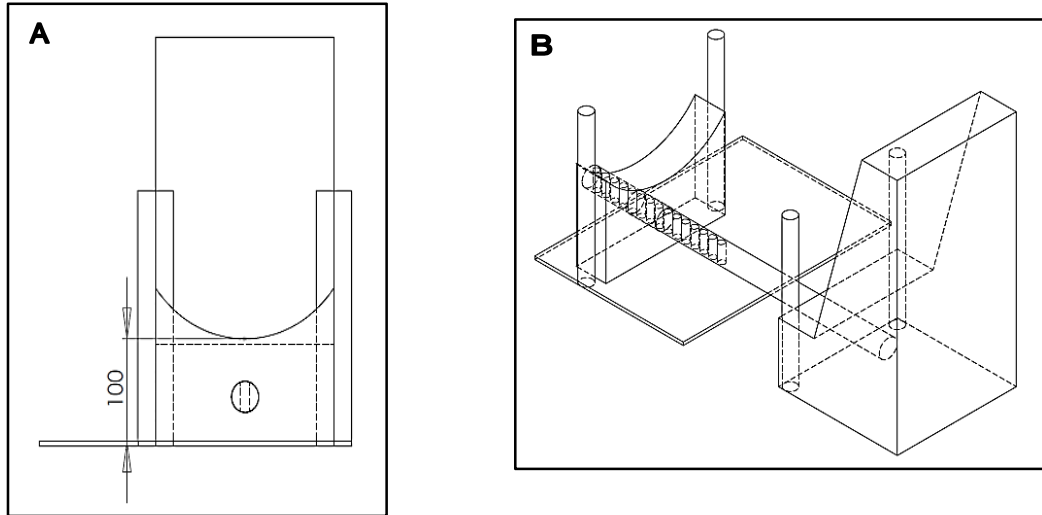


Figura 4.10 – Vista anterior do suporte da perna (A); Vista 3D do suporte da perna (B).

A reprodutibilidade de estudos de IRM associados a tractografia já foi fortemente validada e comprovada em investigações do foro neurológico [128, 129, 130]. No entanto, apesar de se ter começado a aplicar o DTI e a tractografia em diversos estudos musculares com bons resultados, a questão da reprodutibilidade neste tipo de estruturas só foi realmente avaliada por um grupo de investigadores liderado por Heemskerk já no ano de 2010 [74]. Este grupo efectuou quatro aquisições de imagens em 9 sujeitos: a) aquisição inicial de referência, b) aquisição imediatamente a seguir e sem reposicionamento do sujeito, c) aquisição após reposicionamento total do sujeito e d) aquisição em dia diferente. Em todas as recolhas, foram calculados os *eigenvalues*, o ADC, o FA, o CSA_{max} , ângulo de penação e comprimento das fibras médio, para o Tibial Anterior. Depois disto, calcularam os coeficientes de reprodutibilidade entre as variadas recolhas e verificaram que no pior caso (aquisições em dias diferentes) os índices DTI diferiam em 12%. O mesmo acontece para o ângulo de penação que apresentou um coeficiente de reprodutibilidade máximo de 10,2° e comprimento das fibras médio cujo coeficiente de reprodutibilidade foi de 50mm (em ambos os casos estes valores correspondiam às aquisições realizadas em dias diferentes). Na opção mais relevante para o presente estudo – aquisições após reposicionamento – os coeficientes de reprodutibilidade calculados representava em média uma diferença de 8,5% para os índices DTI, de uma amplitude de 8,3° no que respeita o ângulo de penação e uma diferença de 29 mm no comprimento médio das fibras. Existe assim um nível de reprodutibilidade bastante aceitável para estudos que pretendam determinar diferenças entre duas condições experimentais típicas.

A existência de um suporte para a perna, fixo à mesa de exame, reforça a reprodutibilidade deste tipo de estudo ainda mais, já que garante o mesmo posicionamento relativo na *gantry* da perna em estudo (Figura 4.11). A rotação da perna (externa/interna) permanece sempre igual já que o pé se encontra apoiado pelo calcanhar e encostado ao rebordo lateral do suporte pelo seu lado externo (Figura 4.12). As bobines ficam situadas em volta do conjunto suporte e perna, ficando uma delas sobre a mesa e sob o suporte (Figura 4.11) e a outra numa posição anterior em relação à perna e apoiada sobre o pé e joelho da perna avaliada, tendo-se o cuidado de esta não contactar a perna propriamente dita de forma a não a deformar (Figura 4.13).



Figura 4.11 – Suporte da perna colocado na sua posição no equipamento de RM. Podemos visualizar uma bobine sob o suporte e a fixação deste último à mesa de exame através de fitas de velcro. O suporte encontra-se ligeiramente descentrado para o lado direito (lado da perna a estudar) para que o posicionamento seja mais cómodo para o sujeito e de modo a permitir espaço para a perna esquerda.



Figura 4.12 – Perna a estudar colocada sobre o suporte. Podemos em parte verificar que os músculos da perna se encontram livres e suspensos, não sendo moldados pelo seu apoio na mesa. O pé encontra-se apoiado pelo calcanhar e pelo seu lado externo. Também aqui se pode verificar a posição da articulação da tibiotársica a 15º de flexão plantar. É de realçar que o pé ainda não foi fixo com as respectivas fitas de velcro.



Figura 4.13 – Posicionamento final da perna sobre o suporte e das bobines de RF.

A fixação da articulação da tibiotársica e manutenção de flexão do pé a angulo constante é também muito importante, especialmente quando se executam recolhas baseadas em DTI, altamente sensíveis a alterações arquitectónicas e estruturais. A influência da posição da tibiotársica e da conseqüente flexão dorsal ou plantar do pé tem sido estudada com mais profundidade nos últimos anos. Hatakenaka *et al.* [84] verificou em 2008 que o ADC do

músculo TA aumentava com a flexão dorsal do pé (fixo a 90°) quando comparado com uma flexão plantar de 30°.

Resultados similares foram reportados por Deux *et al.* [86] que para além do ADC também registou o comportamento dos três *eigenvalues* e do FA no TA e GM. Esta análise foi realizada em três posições distintas: repouso, flexão dorsal e flexão plantar. Deux, tal como Hatakana verificou que o ADC do TA apresentava maior valor aquando da flexão dorsal, seguido de repouso e da flexão plantar respectivamente ($1,95 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,76 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,72 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). O GM por outro lado, apresentava um ADC superior aquando da flexão plantar, seguido da flexão dorsal e do repouso ($1,81 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,76 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,62 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). Os três *eigenvalues* seguem o mesmo comportamento do que o ADC para os dois músculos, para as três posições respectivas. Quanto ao FA, este era maior para o repouso, seguido da flexão plantar e da flexão dorsal, no caso do TA (0,43; 0,41; 0,38). Este último índice DTI, para o GM, apresentava um valor máximo aquando da flexão dorsal, seguida do repouso e da flexão plantar (0,43; 0,41; 0,38). Este grupo de investigação também averiguou *à posteriori* os diferentes aspectos visuais das fibras através de tractografia, nas quais identificaram diferenças.

Schwenzer *et al.* [82] também avaliaram a influência do encurtamento e alongamento passivo da perna nos dados obtidos através do DTI. Para isso, com recurso a um dispositivo experimental, realizaram diversas aquisições de imagens com a articulação da tibiotársica a três posições definidas: -10° (flexão dorsal do pé), 0° (neutro) e 40° (flexão plantar do pé). Posteriormente calcularam os diversos valores de ADC, FA e dos três *eigenvalues* e analisaram as diferenças nos resultados obtidos. Verificaram que ao longo do estudo, começando da posição de flexão plantar para a de flexão dorsal, que o FA diminuía para o TA (0,32; 0,30; 0,26), enquanto que aumentava para os músculos antagonistas GM (0,28; 0,31; 0,33) GL (0,32; 0,36; 0,37) e SOL (0,26; 0,31; 0,32). Por outro lado, o ADC apresentava um comportamento oposto, apresentando um valor mínimo para o TA aquando do alongamento muscular (flexão plantar), crescendo depois *à medida* que se encurtava o músculo ($1,30 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,33 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,40 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). O ADC para os músculos GM ($1,37 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,33 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,31 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), GL ($1,33 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,29 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,26 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) e SOL ($1,39 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,33 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $1,32 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) apresentavam os seus valores máximos durante a flexão plantar, diminuindo *à posteriori* com a flexão dorsal do pé. Estes valores apresentavam diferenças significativas (~19,8% para o FA; ~5,7% para o ADC; $p < 0,05$). Os valores encontrados para os três *eigenvalues* apresentavam um comportamento similar ao ADC, decrescendo ou aumentando para os diferentes musculares da mesma forma para as três diferentes posições da articulação da tibiotársica. No entanto, enquanto que as diferenças foram significativas para o λ_2 (8,4%, $p < 0,05$) e λ_3 (10,3%, $p < 0,05$), estas não foram significativas para o λ_1 (1,1%, $p < 0,05$). Os autores sugerem que λ_2 e λ_3 sejam assim os principais factores influenciadores para o ADC e FA.

Mas a posição da tibiotársica não interfere somente nos parâmetros obtidos relacionados com o DTI, tendo também influência em parâmetros arquitectónicos como o comprimento das fibras musculares e o ângulo de penação destas, tal como verificado no estudo realizado por Maganaris *et al.* [131]. Estes investigadores verificaram com o auxílio da US um decréscimo de cerca de 32-34% no comprimento das fibras de todos os músculos componentes do *triceps surae*, quando se passa de uma posição de 15º de flexão dorsal para uma de 30º de flexão plantar. Quanto ao ângulo de penação, este aumentou entre 39-67% nos diferentes músculos nas mesmas condições.

Com base em todos estes estudos, é extremamente importante ter em conta a estabilização e fixação da articulação de tibiotársica, de modo a reforçar e garantir a reprodutibilidade e validade de todos os dados obtidos. De forma a diminuir os efeitos originados por um encurtamento ou alongamento passivo dos músculos da perna e de maneira a reduzir as alterações verificadas nos dados obtidos exclusivamente aos efeitos resultantes do exercício, decidiu-se conceptualizar-se o suporte para que o pé ficasse fixo a este numa posição natural e de repouso de +15º, isto é, com a articulação da tibiotársica a 15º de flexão plantar.

A imobilização da perna é também de particular importância nos estudos BOLD. Davis *et al.* [132] identificaram durante a avaliação do comportamento do sinal BOLD após 30s de contracções isométricas de músculos da perna que existia uma possível fonte de erro. Verificaram que conjuntos de imagens com correcção de movimentos tinham que ser interpretadas com cuidado já que alterações de intensidade resultantes de movimento involuntário da perna em estudo poderiam mascarar ou simular sinal de BOLD real. Torna-se desta forma também necessário imobilizar a perna em estudos deste tipo, evitando a necessidade de correcção das imagens, sem no entanto comprometer ou restringir a circulação sanguínea.

4.2.2.3. Avaliação do tempo de recuperação dos parâmetros obtidos por DTI, BOLD e T_2

Tal como já referido, o factor tempo é muito importante neste tipo de estudos. Quase todos os sistemas tendem a voltar ao seu estado inicial depois de serem perturbados por factores externos. O mesmo acontece nos músculos. Assim, se um dos objectivos deste estudo é verificar as alterações arquitectónicas e fisiológicas após esforço intenso através de diversas técnicas de imagem, então empiricamente, a avaliação pós-exercício tem que ser realizada no mais curto espaço de tempo após a cessação desse mesmo exercício e instalação de fadiga muscular.

No entanto colocam-se algumas questões relativas à velocidade de recuperação dos tecidos musculares e qual o comportamento temporal dessa mesma recuperação. Até ao momento, tal estudo só foi realizado em parte por Nyger *et al.* [116]. No entanto, e ao contrário do estudo presente, este autor utilizou um protocolo de exercício de carga leve e intenso (duas sessões

separadas) através da instalação de um ergómetro no interior do equipamento de RM, e não um protocolo de exercício mais real do ponto de vista fisiológico. Nyger *et al.* avaliaram as alterações do tempo T_2 , do ADC e do CSA dos músculos da perna através do protocolo de IRM esquematizado abaixo (Figura 4.14).

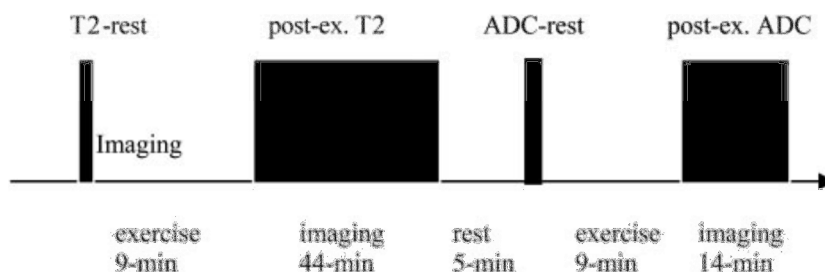


Figura 4.14 – Protocolo de estudo utilizado por Nyger *et al.* no seu estudo das transferências e comportamento da água nas pernas aquando do exercício. Adaptado de [116].

Como se vê neste esquema, deu-se maior importância ao T_2 relativo ao ADC/DTI, já que este último é somente efectuado em 2ª instância. Assim, não se pode excluir com toda a certeza que a aquisição DTI de “repouso” não tenha ainda em conta efeitos resultantes do exercício elaborado durante as aquisições T_2 , dado o relativo pequeno “descanso” de 5 min. Para além disto, o ROI utilizado na análise do ADC não individualizou os músculos, sendo delimitado um ROI de “grandes dimensões” na parte posterior da perna, englobando os músculos GM, GL, SOL e peronial longo. No entanto, o objectivo do estudo de Nyger *et al.* era o de avaliar as trocas e comportamento da água entre diversos compartimentos de forma quantitativa, não tendo qualquer parâmetro arquitectónico ou estrutural em conta, exceptuando o CSA. Estes factos explicam o descurar do protocolo DTI, sequencia esta que é fundamental para o estudo presente nesta dissertação, motivo pelo qual lhe foi dedicada uma sessão exclusiva, ao contrário do BOLD e T_2 que foram emparelhados numa mesma sessão.

Okamoto *et al.* [120] verificaram as alterações registadas no FA aquando do exercício, no entanto realizaram aquisições de imagens numa escala temporal mais alargada: pré-exercício; pós-exercício; 24 horas; 72 horas; 168 horas (uma semana). O protocolo de exercício utilizado por este grupo de investigadores era intenso e prolongado (até 60 min), deixando inclusive sequelas sob forma de dor muscular até às 48 horas subsequentes. Comparando a perna activada e a perna “em repouso”, registaram uma baixa imediata do valor de FA após o exercício e um retorno progressivo ao longo do tempo a um equilíbrio de valores de FA entre as duas pernas. Neste contexto e com esta escala temporal, podem existir outros factores tais como destruição e desarranjo dos fascículos musculares, elevada actividade enzimática e edema, entre outros, que podem explicar e alterar os valores de FA ao longo do tempo, ficando-se na mesma sem saber ao certo o que se passa no período de tempo mais abrangente imediato subsequente ao exercício.

Morvan [87] também estudou os efeitos de exercício nos músculos através de técnicas de IRM. Utilizou sequências com componente de difusão para avaliar os valores e diferenças entre o ADC pré- e pós-exercício de alguns músculos do antebraço. Outros parâmetros não foram analisados e também só foi realizada uma aquisição pós-exercício, o que não nos fornece uma ideia da velocidade do retorno aos valores de equilíbrio dos parâmetros em causa.

Assim, antes de se avançar para a investigação principal foi necessário efectuar um estudo preliminar para verificar a “janela temporal” que temos para realizar aquisições de imagens pós-exercício sem que ocorresse perda excessiva de informação resultante da recuperação dos tecidos analisados.

Foram utilizadas duas sequências: DP (referência anatómica) e DTI. Os parâmetros de ambas as sequências foram os mesmos que usados posteriormente no estudo principal e encontram-se descritos nos capítulos 4.2.1.2.1. e 4.2.1.2.2. As únicas diferenças foram a utilização de um FoV de 40x40 cm em ambas de modo a englobar na mesma aquisição as duas pernas e a aplicação de uma única excitação (NEX=1) no DTI de modo a se conseguir obter um maior número de aquisições no menor tempo possível (tempo de aquisição = 1min20s). A perna esquerda (não exercitada) serviu de referência para a perna direita (exercitada) sujeita ao protocolo de exercício baseado em salto unipedal descrito no capítulo 4.2.1.1.

Efectuaram-se 11 aquisições em DTI sucessivas pós-exercício, correspondentes a um período de 30 min. Delimitaram-se ROI's ovais no músculo solear no corte em que este apresentava o CSA mais elevado, evitando estruturas vasculares, nervos ou outras que pudessem contaminar os resultados obtidos. De cada ROI foi posteriormente calculado e registado o valor do ADC.

O ADC antes do exercício foi de $2,04 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para a perna de referência e de $2,08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para a perna direita. Logo após o exercício, o ADC da perna esquerda desceu para os $1,82 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, enquanto que o ADC da perna direita subiu para $3,20 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. Depois deste primeiro registo, o ADC da perna direita continuou a aumentar ligeiramente até aos cerca de 7,5 min, iniciando *à posteriori* um progressivo retorno aos valores iniciais de repouso (Figura 4.15). O ADC da perna esquerda por oposição e fora o ligeiro decréscimo inicial, ficou de forma contínua a oscilar em volta dos $2,00 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, valor que apresentava inicialmente.

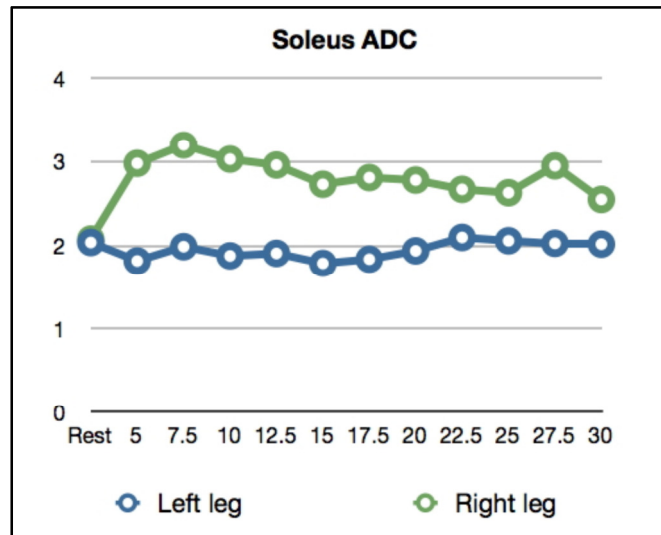


Figura 4.15 – Comportamento do ADC ao longo do tempo (em minutos) na perna esquerda (referência; não-exercitada) e na perna direita (exercitada).

Concluiu-se deste modo que dados provenientes do DTI obtidos nos primeiros 10-12 minutos após o término do exercício e instalação da fadiga não apresentam diferenças significativas. Quaisquer aquisições após este período já apresentam um declínio no valor de ADC, que se torna tão mais predominante quanto mais tardia esta for realizada.

Assim, graças a este estudo foi decidido isolar a avaliação das alterações arquitectónicas e estruturais do músculo por DTI numa única sessão, garantindo que esta fosse realizada no período ideal dos primeiros 10 minutos. Dado que – como explicado anteriormente – todas as aquisições foram efectuadas em dois volumes (metades superior e inferior da perna) e tendo em conta a duração elevada de cada aquisição em DTI, esta decisão ainda se torna mais importante.

A sequência BOLD avalia as alterações relacionadas com o fluxo e volume sanguíneo, bem como a detecção dos tecidos e áreas activadas através das diferenças locais do rácio oxihemoglobina – desoxyhemoglobina. Dada a importância dos dados resultantes desta técnica e devido ao facto de se prever que o rácio referido anteriormente seja restabelecido para valores de “base” de forma rápida após a realização e cessação do exercício, foi decidido que esta aquisição fosse remetida para uma sessão independente da sessão “DTI”.

A relaxometria T_2 é útil na obtenção de informação sobre o comportamento da água nos tecidos analisados e pode de certa forma corroborar alguns resultados e conclusões provenientes de outras técnicas. Por outro lado, foi considerada a técnica cujos resultados seriam comparativamente menos importantes para o objectivo primordial do estudo de fornecer dados arquitectónicos e fisiológicos *in vivo* relativos aos músculos da perna e suas respectivas alterações quando submetidos a exercício intenso, de modo a serem utilizados em modelação biomecânica. Assim, e para reduzir o esforço pedido aos sujeitos, foi decidido acoplar esta técnica a uma das sessões anteriores. Dado que a duração das aquisições DTI é superior às aquisições BOLD, foi definido que a relaxometria T_2 seria realizada após o BOLD.

4.2.2.4. Impacto do NEX e número de direcções de difusão em DTI

Tanto o aumento do NEX como o acréscimo do número de direcções de difusão (Figura 4.16) melhoram a imagem e os dados obtidos. Esta melhoria pode consistir num sinal global mais intenso por exemplo como acontece quando o NEX é mais elevado ou numa melhor identificação e descrição do sentido da difusão preferencial das moléculas de água e cálculo de ADC, factores melhorados com um aumento do número de direcções de difusão. No entanto, ambos aumentam o tempo total de exame e podem aumentar o risco de aparecimento e propagação de alguns artefactos (artefactos de movimento, correntes eddy, etc.). Para além disso, em estudos funcionais, como é o caso, o factor tempo é de extrema importância e deve ser o quão mais reduzido quanto possível, de modo a que todas as alterações provocadas pelo exercício sejam medidas antes de retornarem aos valores de repouso (tal como avaliado no estudo preliminar anterior – capítulo 4.2.2.3). Em estudos neurológicos, o consenso geral é que o melhor SNR é obtido com recurso a um maior número de direcções de gradientes de difusão e menor NEX do que o vice-versa, para tempos de exame semelhantes [133]. Mas para estudos musculares este consenso ainda não existe. Torna-se desta forma importante verificar qual das duas condições é mais vantajosa para este tipo de estudos, o que motivou a execução deste estudo preliminar.

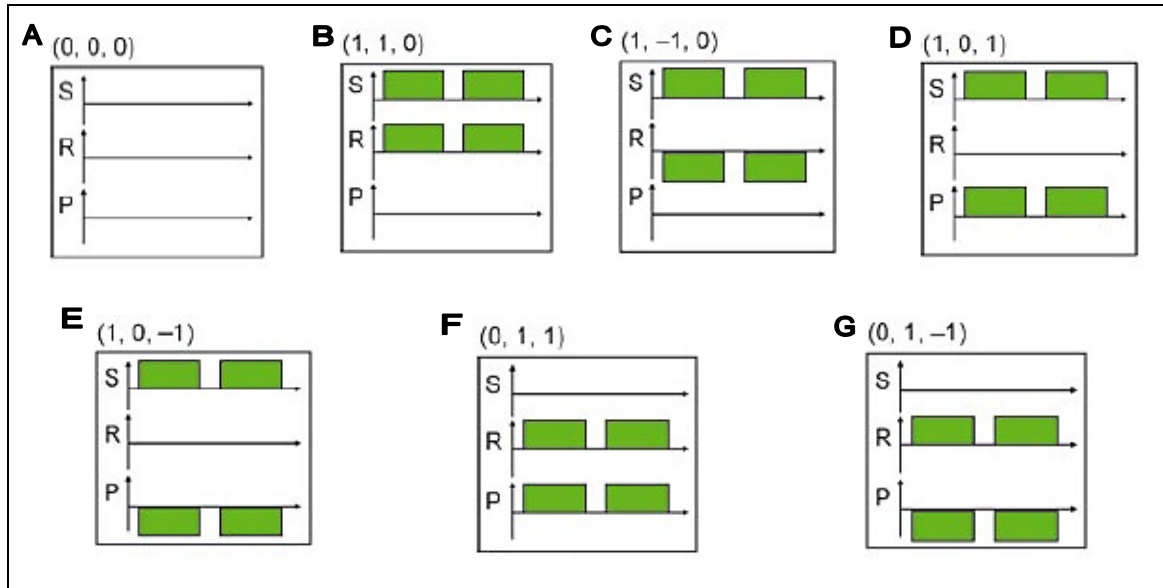


Figura 4.16 – Direcções de gradiente. Para a criação de novas direcções de gradiente basta associar gradientes de difusão aos gradientes de selecção de corte (S), codificação de frequência (R) e/ou codificação de fase (P) com diversas intensidades, sejam elas positivas ou negativas, tais como nos exemplos em cima (B – G). A imagem sem gradiente (B₀) corresponde a opção sem gradientes de difusão (A). Adaptado de [26].

O número de excitações tal como encontrado no protocolo de estudo contribui proporcionalmente com a raiz quadrada para o SNR. Portanto, pode-se intuitivamente assumir

que cada excitação colecta sinal ao mesmo tempo que ruído. Com uma excitação adicional, o sinal é colectado de novo e o ruído em causa pode corresponder a diferentes frequências, não se encontrando à mesma localização que o ruído adquirido previamente. No entanto, com cada aquisição consequente, a probabilidade de se obter ruído similar a medidas anteriores aumenta, proporcionando um aumento deste numa mesma localização. [30]

Simulações numéricas realizadas por Jones *et al.* em 2004 demonstraram que a variância no ADC, FA e direcção do tensor decresce quando é utilizado um maior número de direcções de gradientes de difusão [134]. No entanto, este grupo de investigação verificou que para valores de FA baixos na ordem dos 0,4 ou menos, os benefícios de se utilizar um maior número de direcções de gradiente não é tão pronunciado e que a variância nos parâmetros de DTI não se alteram muito para mais de 14 direcções de gradientes de difusão. Apesar disso, a utilização de um número de direcções de gradientes de difusão mais elevado do que as 6 direcções *standard* é importante e sensível em condições de baixo SNR [134].

Mukherjee *et al.* [95] consideraram múltiplas considerações técnicas sobre como melhorar os estudos DTI e as tractografias consequentes e concluíram que a aquisição de imagens com maior número de direcções de gradientes de difusão sem um aumento do NEX tornou-se cada vez mais comum e benéfico para a qualidade geral dos estudos que recorram ao DTI, produzindo tractografias e resultados mais robustos.

Mais recentemente, Sinha *et al.* estudaram a reprodutibilidade do DTI e da tractografia nos músculos da perna submetidos a exercício [119]. Numa tentativa de reduzir o tempo de exame, efectuaram um pequeno estudo comparativo em que utilizaram 6 e 13 direcções de gradiente de difusão e analisaram as diferenças. Todos os outros parâmetros mantiveram-se constantes, sendo o NEX utilizado de 8. A aquisição realizada com menor número de direcções demorou 4,6 min enquanto que a outra levou cerca de 9 min (aproximadamente o dobro do tempo). Verificaram que o coeficiente de variabilidade calculado para os dois métodos não apresentava diferenças significativas e por isso alterações nos parâmetros do DTI obtidos após o exercício eram identificáveis pelos dois métodos.

No entanto, e tal como indicado por Sinha *et al.* [119], a utilização de número baixo de direcções de gradiente pode ser mais favorável em estudos que monitorizem os parâmetros DTI, ao passo que para a avaliação de alterações de orientações das fibras, a utilização de uma maior número de direcções de gradientes é mais aconselhável.

Foram assim executados vários paradigmas de aquisição tal como indicado na tabela abaixo (Tabela 4.5). Estas aquisições (DP e DTI) foram realizadas à perna dominante (perna direita) de um único sujeito tanto pré como pós-exercício. Depois de efectuado o tratamento das imagens, o mesmo investigador avaliou as seguintes características: qualidade da tractografia obtida (número de fibras e correcta trajectória destes ao longo do volume muscular) e duração da sequência.

Tabela 4.5 – Sequências utilizadas na avaliação do impacto do NEX e do número de direcções de gradiente utilizados no estudo DTI dos músculos da perna.

	Sequência	TE (ms)	TR (ms)	Nº de cortes	Espessura de corte (mm)	Nº de direcções de gradiente	NEX
DP	FSE	7,6	4140	54	3,9	-	2
DTI ₁	EPI-GE	76,1	10000	54	3,9	6	2
DTI ₂	EPI-GE	76,1	10000	54	3,9	12	2
DTI ₃	EPI-GE	76,1	10000	54	3,9	12	4

Verificou-se que o aumento do número de direcções melhorava a tractografia obtida dos diferentes músculos. O número de fibras traçadas aumentou em cerca de 19,8% no paradigma DTI₂ e 22,4% no DTI₃ (ambos com 12 direcções de gradiente) quando comparados com o DTI₁, em que só foram utilizadas 6 direcções de gradiente. Em todos os casos, a tractografia realizada em cada músculo pertencente a esta investigação demonstrou possuir fibras de trajectória “normal” e sem invasão de tecido vizinho não pertencente ao próprio músculo. É de realçar que os ROI’s delimitados na obtenção destes resultados serem do tipo “circulares” e centrais ao músculo, o que por sua vez já reduz bastante o risco de presença de fibras erróneas ou propagação destas para outros músculos adjacentes.

O aumento do NEX de 2 (DTI₂) para 4 (DTI₃) aumentou a tempo de aquisição das imagens de 6min14s para 8min50s, com alguma melhoria qualitativa observada pelo operador.

Com base nestes resultados e na literatura consultada, e, tendo em conta que tal como decidido anteriormente, a obtenção de imagens DTI seria realizada em sessão dedicada (permitindo uma maior margem de manobra temporal), foi decidido que as sequências DTI a efectuar no decurso desta investigação teriam um NEX = 4 e 12 direcções de gradientes de codificação de difusão distintas.

4.2.2.5. Influência do tipo de ROI’s na tractografia e resultados obtidos

A determinação das regiões de interesse (ROI) é de extrema importância para os trabalhos de investigação cujo objectivo é o estudo das propriedades locais de um determinado objecto ou tecido. Estes são massivamente utilizados em estudos de imagem médica em estruturas e/ou tecidos biológicos, normalmente humanos. O investigador consegue assim reduzir a sua região de estudo a uma zona muito mais localizada e assim impedir a contaminação dos dados locais

com outros provenientes de estruturas próximas, assegurando-se desta forma que os resultados obtidos reflectam com maior exactidão as propriedades do objecto de estudo.

Após uma revisão aprofundada dos estudos anteriores que associam IRM às estruturas musculares (e em que muitos casos se recorre a tractografia), verificou-se que não existe uma norma ou linha de pensamento predominante quanto ao tipo e quantidade de ROI's a utilizar. Nestes estudos, os autores usaram ROI's para determinar diversos parâmetros associados ao DTI tais como o ADC, FA e os três *eigenvalues*. Na maior parte das vezes, os mesmos ROI's foram posteriormente utilizados como “*seeding areas*” (áreas de partida para a tractografia) para análise tractográfica.

Sinha *et al.* [90, 119] recorreram a ROI's ovais de tamanho variado e centrados a cada músculo analisado, num único corte de localização média da pena. Esta abordagem é também utilizada por outros autores tais como Hatakenaka *et al.* [83, 84] que avaliaram a influência da extensão e contracção passiva dos músculos da perna nos parâmetros de DTI ou Nygren e Kaijser [116] que avaliaram o comportamento da água nos tecidos durante a activação muscular. Este tipo de ROI's é muito prático, já que facilmente é desenhado numa localização central do músculo, permitindo que estruturas nefastas para os dados obtidos como vasos sanguíneos, nervos, gordura e osso, sejam evitados e fiquem fora do respectivo ROI.

Outros autores preferem delimitar ROI's que englobem a totalidade de determinado músculo, permitindo a análise completa deste último. No entanto, podem correr o risco de incluir estruturas prejudiciais (principalmente vasos sanguíneos) ou ainda serem “contaminados” por fibras de músculos vizinhos. Esta abordagem foi por exemplo utilizada por Okamoto *et al.* [122] que estudaram a evolução da FA ao longo de alguns dias em músculos da perna sujeitos a carga mecânica, Schwenzler *et al.* [82] que analisaram o comportamento dos parâmetros DTI e de alguns dados de arquitectura muscular com a alteração da posição da articulação da tibiotársica (condicionando alongamento/encurtamento muscular), Deux *et al.* [86] que também avaliaram a contracção muscular através de DTI, ou ainda, Steidle *et al.* [124] que estudaram a aplicação de técnicas de atenuação dos artefactos de correntes *eddy* em estudos DTI da perna.

Galban *et al.* [79, 120] adoptaram uma abordagem semelhante aos estudos mencionados anteriormente, no entanto, em vez de delimitar cada músculo na sua totalidade, a delimitação realiza-se com uma margem de erro interna, evitando assim “contaminação” de músculos vizinhos e tecidos extra-musculares.

Existem ainda outro tipo de ROI's mais avançados e usados primariamente em estudos tractográficos, em que se identifica e marca as aponeuroses dos variados músculos em todos os cortes relevantes, utilizando-se essa estrutura digital a 3D como *seeding area* para a tractografia [89]. Estes estudos preocupam-se principalmente com os aspectos relacionados com a arquitectura das fibras musculares e sua visualização em 3D e não tanto com os parâmetros obtidos naturalmente em DTI. Por essa razão, este tipo de ROI não foi incorporado no presente estudo preliminar.

As imagens processadas de DP e DTI adquiridas na fase pré-exercício (ver capítulo 4.2.1.2.) foram utilizadas neste estudo preliminar em que se pretendeu verificar se a escolha de determinado número e formato de ROI influenciava os parâmetros de ADC, FA, λ_1 , λ_2 , λ_3 provenientes da análise das imagens de DTI. O comprimento das fibras resultante da utilização destes mesmos ROI's no estudo tractográfico também foi tido em conta e avaliado subsequentemente.

Tal como descrito com mais pormenor mais à frente no capítulo 4.4. relativo à análise dos dados e imagens, todos os ROI's foram delimitados nas imagens de DP e transpostos à *posteriori* para as imagens de DTI. Esta delimitação e todos os valores e dados em causa foram obtidos com recurso ao *software* de visualização e análise de imagens e tractos de fibras TrackVis (*Department of Radiology, Massachusetts General Hospital, EUA*). A análise foi realizada nos músculos Tibial Anterior, Gastrocnémios Medial, Gastrocnémios Lateral e Solear dos sete sujeitos pertencentes ao estudo. Todos os ROI's foram delimitados pelo mesmo investigador de forma a preservar consistência e evitar erros de interpretação.

Foram aplicados 12 tipos de paradigmas de ROI's. Estes podem-se apresentar-se como sendo únicos/solitários ou em conjuntos de duas ou três áreas. Podem também estar ou não associados a uma área que o autor desta investigação designou por "Anti-ROI". Estes Anti-ROI's são também delineados nas imagens em causa e representam áreas que não se pretendem avaliar, isto é, são regiões de exclusão. Os anti-ROI's são delimitados a cada segundo corte ao longo do volume de aquisição. Na prática, estimou-se teoricamente que os anti-ROI's seriam importantes quando se utiliza a tractografia pois trata-se de mais uma forma de garantir que os tractos/fibras obtidos se encontram confinadas ao músculo em causa e não atravessam o seu limite físico. Quando se delimitaram ROI's ovais no interior do músculo numa região central a este, foi evitado que o ROI incorporasse qualquer estrutura vascular ou nervosa. Os diferentes paradigmas de ROI's encontram-se descritos abaixo e alguns exemplos visíveis nas figuras 4.17 e 4.18, sendo que alguns exemplos dos tractos originados por estes também se encontram demonstrados nas figuras 4.19 e 4.20:

- ROI_01: Delimitação da totalidade do músculo com uma margem de segurança de cerca de 2-3 pixéis no "corte" em que o seu CSA é máximo;
- ROI_02: O mesmo que o anterior, mas associado a anti-ROI's;
- ROI_03: Delimitação de três ROI's separados entre si por 3 "cortes", sendo que o ROI central corresponde ao ROI_01. Quando realizada a tractografia, as fibras foram calculadas sobre o pressuposto que teriam que "atravessar" os 3 ROI's;
- ROI_04: Baseado no anterior, mas associado a anti-ROI's;
- ROI_05: Semelhante ao ROI_03, conservando-se o ROI central, mas em que os outros dois se encontram a ± 5 "cortes";
- ROI_06: O mesmo que o anterior, mas no qual anti-ROI's foram adicionados;

- ROI_07: Delimitação de dois ROI's a distâncias de ± 3 "cortes" do "corte" central em que determinado músculo possui maior CSA. Aquando da tractografia também aqui os tractos/fibras teriam que passar pelos dois ROI's;
- ROI_08: Tal como o ROI_07, mas com anti-ROI's;
- ROI_09: Delimitação de um ROI oval de pequenas dimensões (67 pixéis) numa localização central do músculo, evitando estruturas vasculares e nervosas, no "corte" em que o CSA de dado músculo é máximo;
- ROI_10: Tendo como base o ROI anterior, foram adicionados os anti-ROI's;
- ROI_11: Delimitação de 3 ROI's ovais (67 pixéis cada um), distribuídos pelo músculo no "corte" de maior CSA, em áreas livres de qualquer contaminação por tecido não-muscular. A tractografia é originada em cada ROI separadamente, sendo depois realizada a média dos valores obtidos em cada ROI;
- ROI_12: O mesmo que o anterior, mas associado a anti-ROI's.

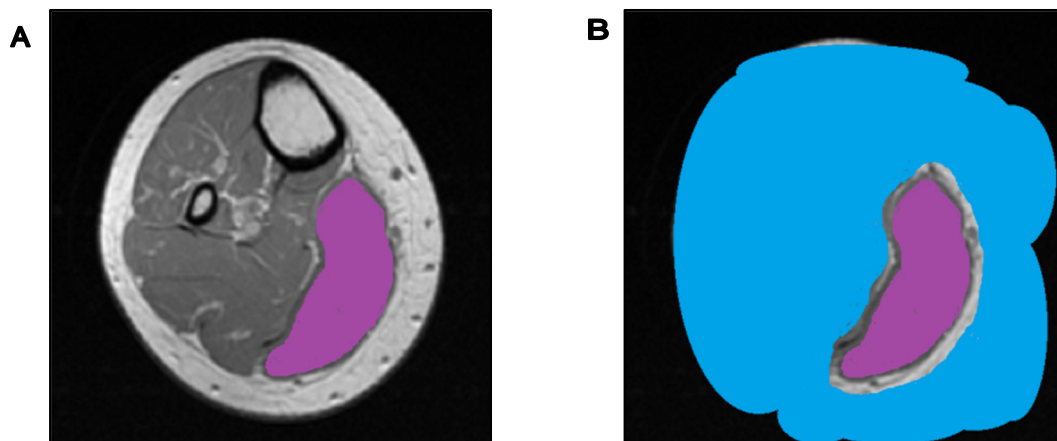


Figura 4.17 – Exemplos de marcações de ROI's. ROI delimitado ao longo de todo o contorno do GM (A); O mesmo ROI anterior associado a um anti-ROI de cor azul clara, abrangendo tudo menos o GM (B). O primeiro exemplo corresponde a um ROI_01, enquanto que o segundo exemplo corresponde a um ROI_02.

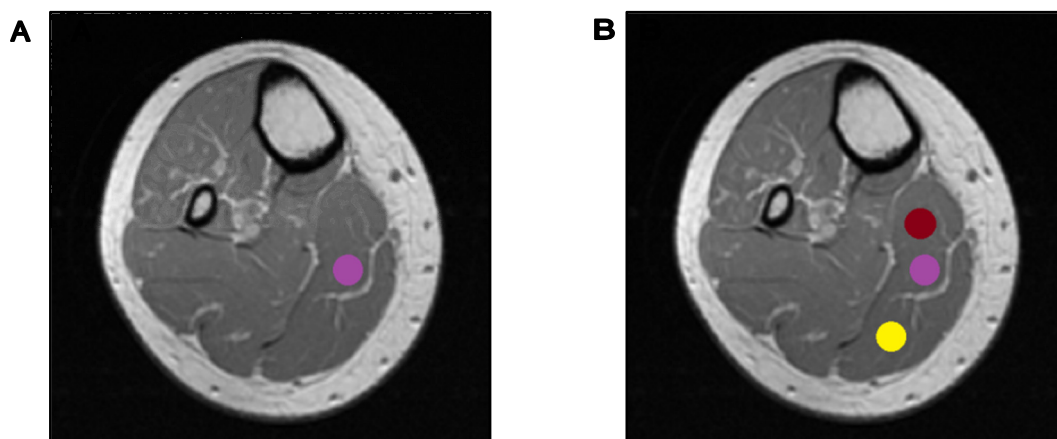


Figura 4.18 – Outros exemplos de marcações de ROI's. ROI oval (67 pixéis) delimitado no centro do corte de máximo CSA do GM, tendo o cuidado de não englobar estruturas vasculares e/ou nervosas (A); Marcação de três ROI's ovais no corte de máximo CSA do GM, afastados entre si mas incorporar outras estruturas que não tecido muscular (B). O primeiro exemplo corresponde a um ROI do tipo ROI_09, enquanto que o segundo corresponde a um do tipo ROI_11.

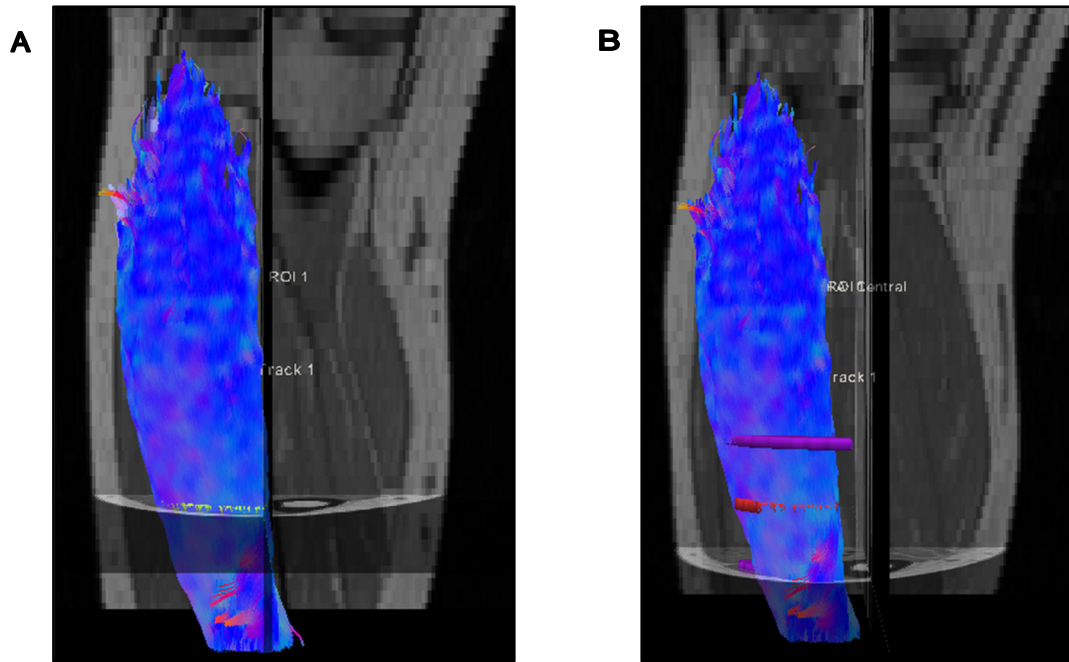


Figura 4.19 – Exemplos de tractografias originadas através de diferentes tipos de ROI's. Tractografia obtida através de um ROI do tipo ROI_01, em que é delimitado a totalidade do músculo TA (A); Tractografia do mesmo músculo através de um ROI do tipo ROI_05, em que para além de um ROI no corte de CSA máximo, também são delimitados ROI's abrangendo todo o músculo a +/- 5 cortes de "distância" (B).

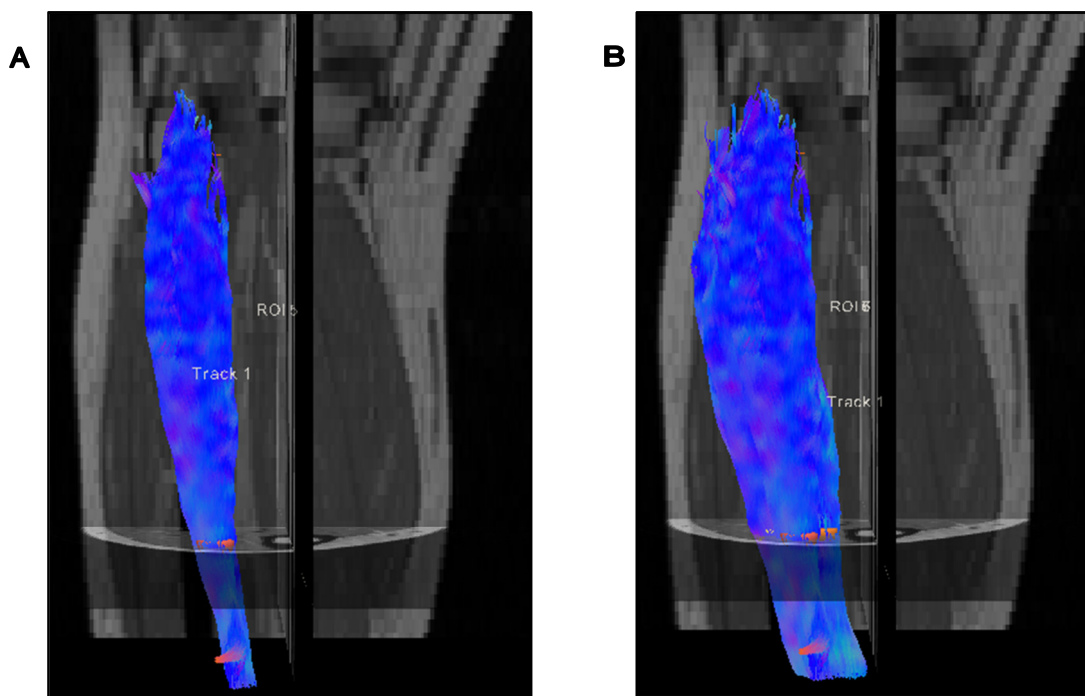


Figura 4.20 – Outros exemplos de tractografias originadas através de diferentes tipos de ROI's. Tractografia obtida através de um ROI do tipo ROI_09, em que é delimitado um pequeno ROI oval no centro do TA, no corte em que este apresenta um CSA máximo (A); Tractografia do mesmo músculo através de um ROI do tipo ROI_12, em que são delimitados três ROI's ovais no interior do músculo no corte de maior CSA e em que se encontra associado um anti-ROI (B).

Após a obtenção e tratamento de todas as imagens e dados, estes foram analisados através do *software* estatístico “IBM SPSS Statistics 20” (IBM, USA). A normalidade de todas as variáveis foi testada através do método de “Shapiro-Wilk” dada a amostra ser pequena e a seguir foi aplicada uma análise de medidas repetidas (ANOVA).

Após ser testada a normalidade e de esta não se encontrar presente em algumas situações, foram excluídos os seguintes ROI's para cada músculo específico analisado: TA: ROI_04 (FA, *Sig* 0,048), ROI_07 (FA, *Sig* 0,021), ROI_08 (FA, *Sig* 0,040) e ROI_12 (FA, *Sig* 0,028); GM: ROI_04 (comprimento médio das fibras, *Sig* 0,031) e ROI_05 (comprimento médio das fibras, *Sig* 0,047); GL: ROI_11 (FA, *Sig* 0,040); SOL: ROI_10 (λ_1 , *Sig* 0,028).

Durante a análise de medidas repetidas foram também excluídos outros ROI's em que foram detectadas diferenças significativas (*Sig* < 0,05) entre alguns pares de ROI's no que respeita algumas das variáveis analisadas. Desta forma, o ROI_06 e o ROI_10 foram eliminados no caso do músculo analisado ser o GM. No caso do GL, foram excluídos o ROI_04 e o ROI_10. O SOL foi o que apresentou resultados mais marcantes, sendo excluídos um grande número de ROI's. De facto, para este músculo, foram excluídos todos os ROI's à excepção do ROI_09, ROI_11 e ROI_12. Este facto poderá ser devido à grande heterogeneidade de características existentes neste músculo multi-compartimentado, requerendo uma análise mais cuidadosa e específica.

Com base nestes resultados, ao serem estudados os diversos parâmetros DTI nos músculos TA, GM e GL, poderiam ser utilizados ROI's do tipo ROI_01, ROI_02, ROI_03, ROI_06, ROI_09 e ROI_10 que não haveriam diferenças significativas nos resultados e dados obtidos. Assim, qualquer um destes tipos de ROI's poderia ser usado neste trio de músculos na presente investigação. O problema surge com a adição do SOL. No entanto, dado que o ROI_09 não foi excluído em nenhuma das fases e processos deste estudo preliminar e ainda devido à enorme facilidade de este ser delimitado (ROI oval de pequenas dimensões numa localização central do músculo), este foi escolhido como sendo o ROI final a ser utilizado na obtenção da maior parte dos dados arquitectónicos e funcionais (excepção feita à medição do CSA e ângulo de penação, que requerem ROI's cobrindo toda a área muscular em dado corte).

4.3. Processamento de imagem

Consoante o tipo de imagens em causa, assim o processamento aplicado. As imagens anatómicas DP não sofreram nenhum processamento específico já que estas só são necessárias como imagens de referência para as sequências de imagens mais avançadas (DTI, BOLD e T_2).

As imagens BOLD e T_2 sofrem um processamento de imagem em que são feitas correcções movimento e o co-registo das imagens. Finalmente, o processamento das imagens DTI obtidas

assenta fundamentalmente em três aspectos: correcção de artefactos, co-registo de imagens, processamento avançado e especializado.

Todo este processamento foi realizado com recurso a *scripts* desenvolvidos para o efeito em linguagem MATLAB (MathWorks, USA) que executam diversas tarefas computacionais de forma automática e sequencial. Estes *scripts* encontram-se em anexo no final desta dissertação (Anexo H).

Durante algumas fases do processamento das imagens, estas são convertidas para formatos diferentes consoante necessidade e imposição de determinado *software* ou *script*. Estas encontram-se originalmente em formato DICOM¹⁵, mas são normalmente convertidas para o formato *nifti* logo que possível através do *software* dcm2niiGUI (Dr. Chris Rorden, USA). Na fase final do processamento ainda se obtém um terceiro formato – o formato *analyze*.

4.3.1. Correcção de artefactos e co-registo de imagens

Tal como referido anteriormente (capítulo 3.2.1.6), podem surgir nas imagens diferentes tipos de artefactos. Alguns podem ser anulados ou evitados previamente ou durante a aquisição das imagens, mas outros conseguem por vezes surgir e têm que ser corrigidas *à posteriori*.

Os artefactos de movimento podem prejudicar seriamente as imagens obtidas e os dados funcionais existentes nestas. Apesar de os sujeitos estarem alertados para permanecerem imóveis e apesar da utilização do suporte desenvolvido para este estudo cujo um dos objectivos era manter a perna imobilizada e estática, pode sempre existir um pequeno movimento e registo incorrecto de dado sinal num vóxel errado. Ora, isto é de extrema importância quando se tratam de estudos funcionais como é neste caso.

Estes artefactos podem ser corrigidos com recurso ao co-registo de imagens. O co-registo permite associar determinados volumes de dados entre si, permitindo o alinhamento destes e maximização das semelhanças entre ambos [135]. As imagens DTI, BOLD e T₂ são assim co-registadas às imagens de referência DP, adquiridas na mesma sessão e ao mesmo sujeito. Dado que o protocolo de RM utilizado neste estudo consiste numa aquisição pré-exercício e em outra pós-exercício, cada volume funcional é co-registado ao seu respectivo volume DP. Garante-se desta forma que a correcção e realinhamento necessário seja o mínimo possível.

Tanto a correcção de movimentos como o co-registo linear das imagens é realizado através de um *software* dedicado à análise e processamento de imagens médicas, o FSL (*Analysis Group*, Oxford, UK).

Os artefactos resultantes da presença de correntes *eddy* (no caso das imagens DTI) são outro tipo de artefacto que tem que ser corrigido nesta fase. As distorções provocadas por este tipo

¹⁵ *Digital Imaging and Communications in Medicine*.

de artefacto são também corrigidas por uma função dedicada existente no FSL e executada através de comando existente em *script*.

4.3.2. Processamento avançado

Para ser possível proceder-se à tractografia das fibras musculares, os parâmetros relativos à avaliação quantitativa dos músculos (FA, ADC, *eigenvalues*) já têm que estar calculados, pois é com base nestes que a tractografia pode ser realizada.

Este processamento é efectuado pelo *software* Diffusion Toolkit que analisa a informação contida nas imagens DTI e nos gradientes de difusão utilizados para criar ficheiros específicos para cada parâmetro DTI e por fim o ficheiro *.trk que é aberto no TrackVis e permite a visualização e obtenção da tractografia.

A eficácia deste *software* é já reconhecida e sua utilização tornada rotina em estudos DTI. Assim, a análise mais aprofundada deste processamento constituído por vários processos de computação avançados não faz parte desta dissertação

4.4. Análise dos dados e imagens

4.4.1. Tractografia e parâmetros do DTI

Depois de todas as imagens sofrerem os diferentes passos do seu processamento, o principal ficheiro resultante (o ficheiro *.trk) que possui toda a informação funcional relativa ao DTI é aberto no *software* TrackVis. Neste *software* dedicado à análise DTI, os diferentes volumes de imagens podem ser manipulados no espaço 3D virtual e podem ser originados tractos a partir de diferentes ROI's definidos pelo utilizador. Destes ROI's ou tractos podem ser retiradas todas as informações pretendidas quanto aos parâmetros DTI – o ADC, o FA, os três *eigenvalues* e o comprimento das fibras (no caso dos tractos).

Quando se inicia o *software*, este demonstra inicialmente todas as fibras que passem num plano coronal médio (Figura 4.21), em formato “bruto” e sem nenhum tipo de tratamento mais aprofundado por parte do utilizador ou eliminação de possíveis artefactos e tractos erróneos.

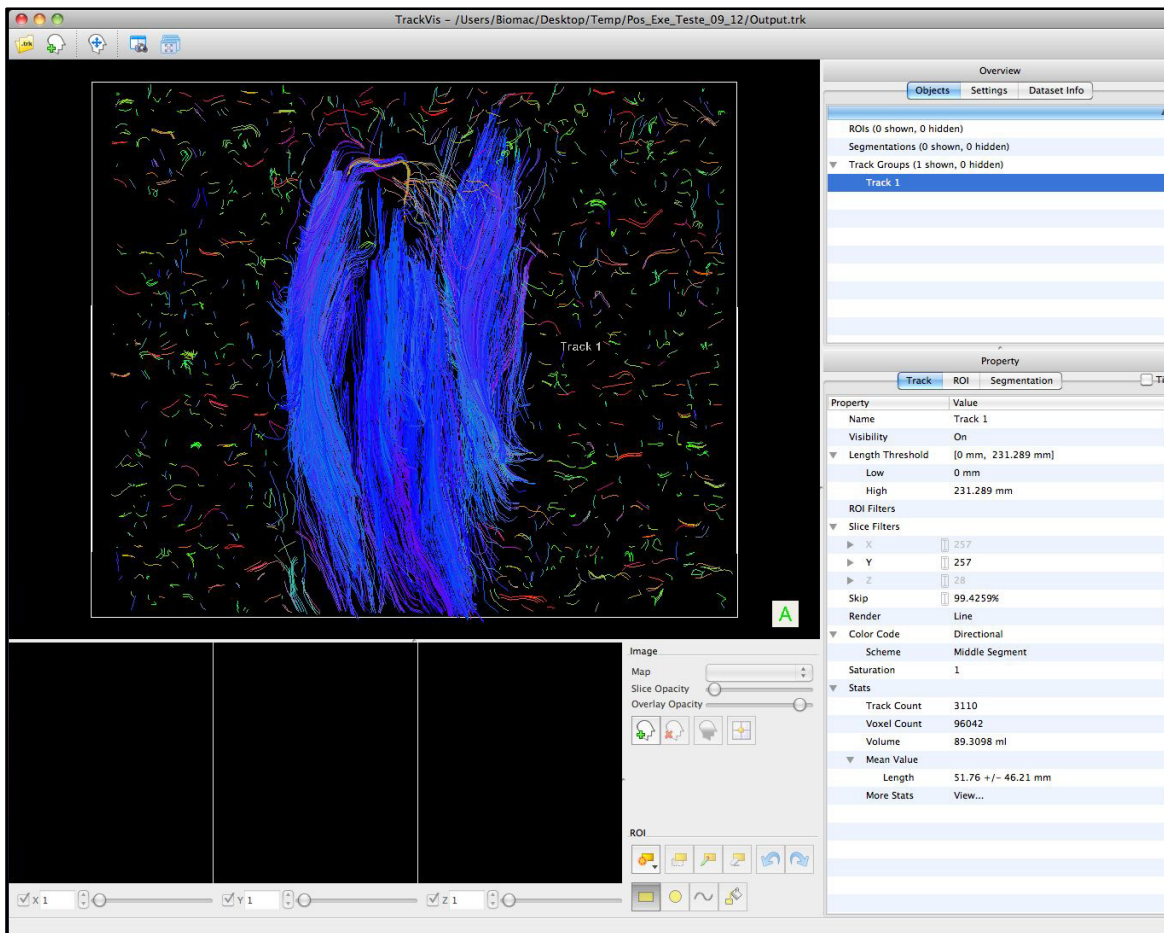


Figura 4.21 – Janela principal do TrackVis quando da abertura de um ficheiro “*.trk”. São automaticamente traçados todos os tractos que passam no plano coronal médio. É de realçar que está aqui representada uma tractografia em formato “bruto”, sem eliminação de tractos originados aleatoriamente pelo ruído ou delimitação muscular específica.

Na fase seguinte é adicionado o volume de imagens de referências – as imagens DP – de forma a ser possível associar e visualizar os tractos correspondentes aos diversos músculos (Figura 4.22). Outros volumes podem ser adicionados tais como os mapas de ADC, FA e dos três *eigenvalues*, obtidos durante o processamento das imagens com o *software* Diffusion Toolkit. Apesar de estes volumes de imagens não serem utilizados como referências dado a sua baixa resolução de contraste, vão no entanto ser fundamentais nos procedimentos posteriores.

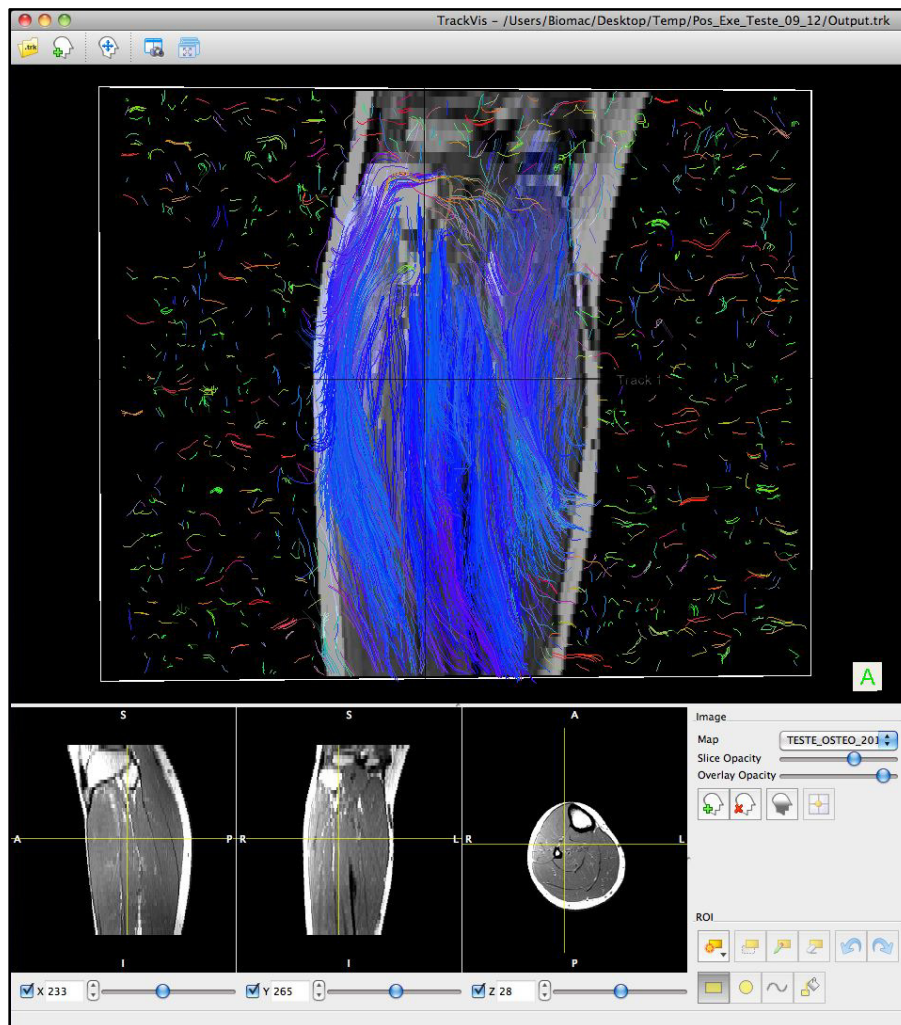


Figura 4.22 – Janela principal do TrackVis com tractografia associada ao volume de imagens anatómicas. As imagens DP são utilizadas como referência de modo a que seja possível associar os diferentes tractos aos diferentes músculos. Os tractos continuam aqui em formato “bruto” sem qualquer tratamento.

Após ser verificado a qualidade geral das imagens, são delimitados ROI's nos diferentes músculos em estudo – o TA, o GM, o GL e o SOL (Figura 4.23 e 4.24). Os ROI's são delimitados para cada músculo no corte onde cada um destes apresenta o seu CSA máximo. É assim natural que os diferentes ROI's se encontrem em cortes diferentes. Estes ROI's podem ser delimitados englobando a totalidade do músculo (apesar de ser mantida uma margem de segurança de forma a garantir que as fibras não ultrapassem os limites musculares) ou sob forma de pequenos ROI's ovais, dependendo da variável concreta em estudo. Nestes últimos tipos de ROI's deve ser garantido que não se englobe nenhum vaso sanguíneo, nervo, gordura ou qualquer tipo de tecido que não músculo. Quando sobrepostos às imagens correspondentes ao mapa de ADC, pode-se confirmar esta localização correcta, já que os vasos sanguíneos (estruturas mais facilmente englobadas durante a delimitação de ROI's) aparecem com um hipersinal bastante pronunciado. Sempre que possível, este deve ser também delimitado numa localização central do músculo.

Tal como determinado no estudo preliminar descrito no capítulo 4.2.2.5, o tipo de ROI utilizado não influenciava de forma significativa os resultados obtidos. Assim, para a determinação dos parâmetros DTI foram utilizados ROI's circulares de pequenas dimensões (67 pixéis). Estes constituem a opção mais fácil de ser aplicada e reproduzível nos diversos músculos de forma consistente, sem correr o risco de se incluírem outras estruturas que não tecido muscular.

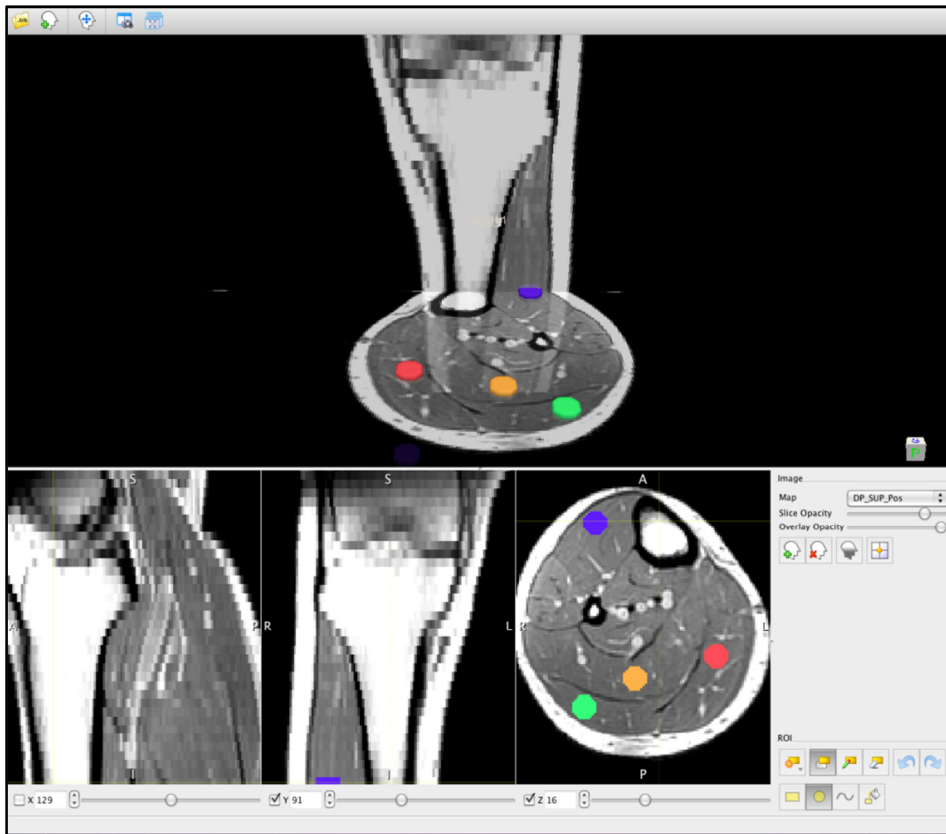


Figura 4.23 – Janela principal do TrackVis com delimitação de ROI's. As imagens DP são utilizadas como referência para a delimitação de ROI's ovais (67 pixéis) nos quatro músculos analisados neste estudo: Tibial Anterior (cor roxa), Gastrocnémios Medial (cor rosa), Gástrocnemius Lateral (cor verde), Solear (cor laranja).

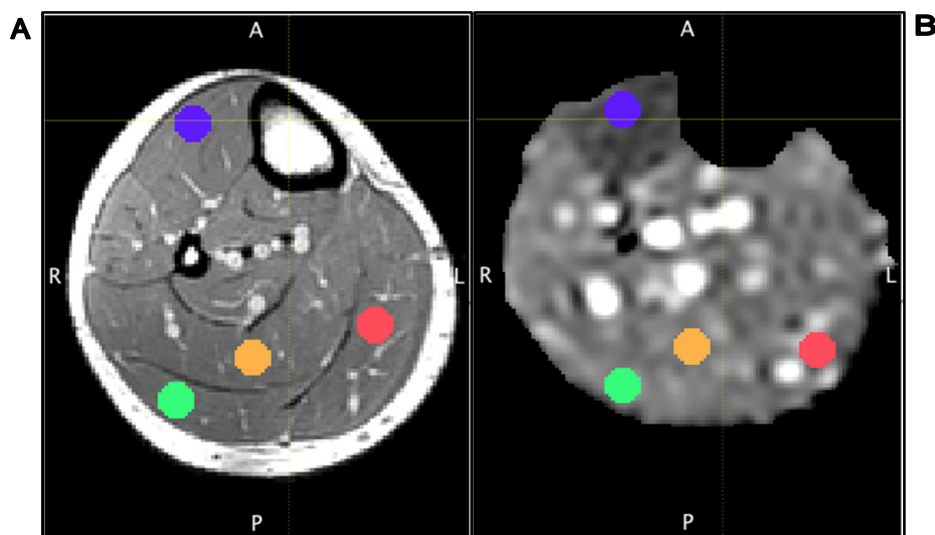


Figura 4.24 – Delimitação de ROI's no TrackVis. Os ROI's são delimitados no plano axial nas imagens de referência DP (A). É delimitado um ROI em cada músculo no corte em que este apresenta o CSA máximo. Nesta figura encontram-se todos delimitados no mesmo plano axial para melhor demonstração. Podem ser visualizados os seguintes ROI's: Tibial Anterior (cor roxa), Gastrocnémios Medial (cor rosa), Gástrcnemius Lateral (cor verde), Solear (cor laranja). Os ROI's podem ser visualizados sobrepostos às imagens funcionais DTI (B).

Após a delimitação de todos os ROI's necessários, iniciam-se as respectivas tractografias (Figura 4.25). Estas são realizadas sob diversas condições ou “factores de paragem” definidos pelo utilizador: a tractografia termina quando o FA registado no vóxel seguinte for inferior a 0.1 (implicando a presença de um meio predominantemente isotrópico) ou a diferença entre a orientação de dois vectores v_1 de dois vóxeis contíguos for superior a 20° (demonstrando não se tratar do mesmo tracto). Em estudos encefálicos, o ângulo utilizado como factor de paragem é normalmente na ordem dos 30 a 40° . No entanto, dado ao facto das fibras musculares serem lineares e seguirem um trajecto/orientação bastante regular e contínuo, este ângulo pode assim ser reduzido para valores mais baixos.

É também importante aqui referir que todas as tractografias só foram realizadas para as aquisições relativas à metade superior da perna, já que os resultados e tentativas de “fusão” dos dois volumes de imagens não foi tecnicamente satisfatório e induzia a criação errónea de múltiplos tractos na área de transição dos dois volumes de imagens. Dado que os músculos analisados possuem a maior parte do seu volume muscular (85-100%) na porção superior da perna, foi decidido que só esta seria usada para os procedimentos que requeressem execução de tractografias.

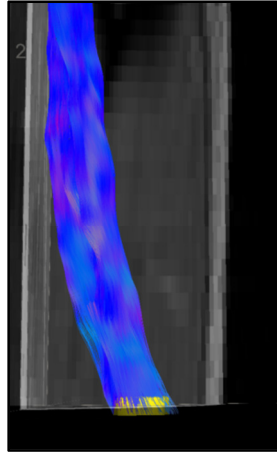


Figura 4.25 – Tractografia do TA em vista posterior. Nesta imagem pode-se verificar a tractografia realizada a partir de um ROI oval (cor amarela) delimitado num corte axial do músculo Tibial Anterior. As fibras apresentam-se predominantemente azuladas devido ao facto da sua orientação ser ao longo do eixo z (isto é, no sentido inferior-superior).

Após a obtenção da tractografia e seleccionando os diferentes volumes de imagens com a informação específica de cada parâmetro DTI em causa, conseguem-se obter as estatísticas relativas a cada variável em estudo no que concerne o DTI (ADC, FA, λ_1 , λ_2 , e λ_3). Estas são obtidas de forma directa e calculadas automaticamente pelo *software* e apresentadas sob forma de um gráfico em que são distribuídas por classes (Figura 4.26 e 4.27). São também calculados os valores médios, mínimos e máximos da cada variável.

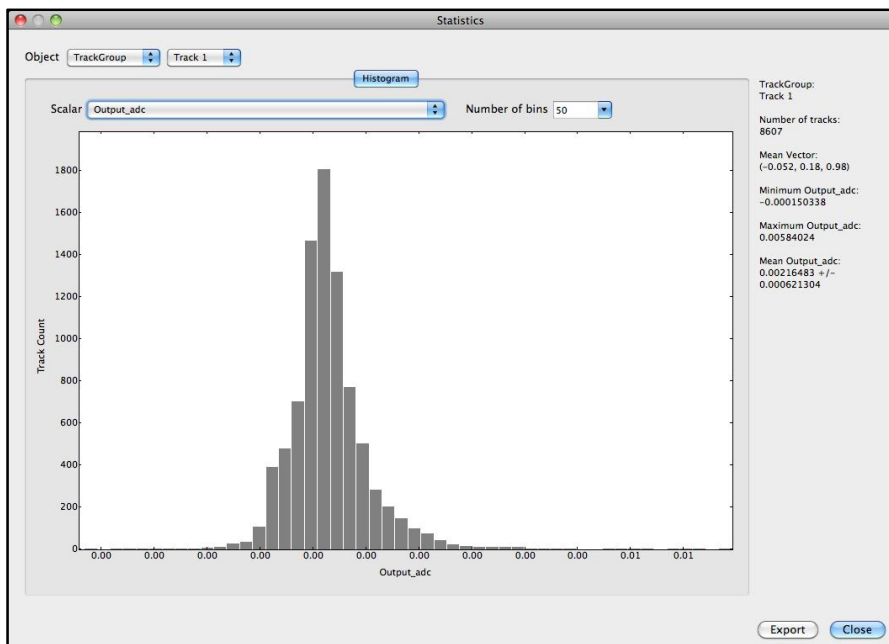


Figura 4.26 – Janela “Statistics” relativa ao ADC. Após a realização de tractografia a partir de determinado ROI, o *software* consegue fornecer-nos diversas estatísticas sobre esses mesmos tractos. Neste exemplo, podemos verificar a quantidade de tractos com determinado ADC, o valor médio do ADC, bem como os valores mínimos e máximos registados.

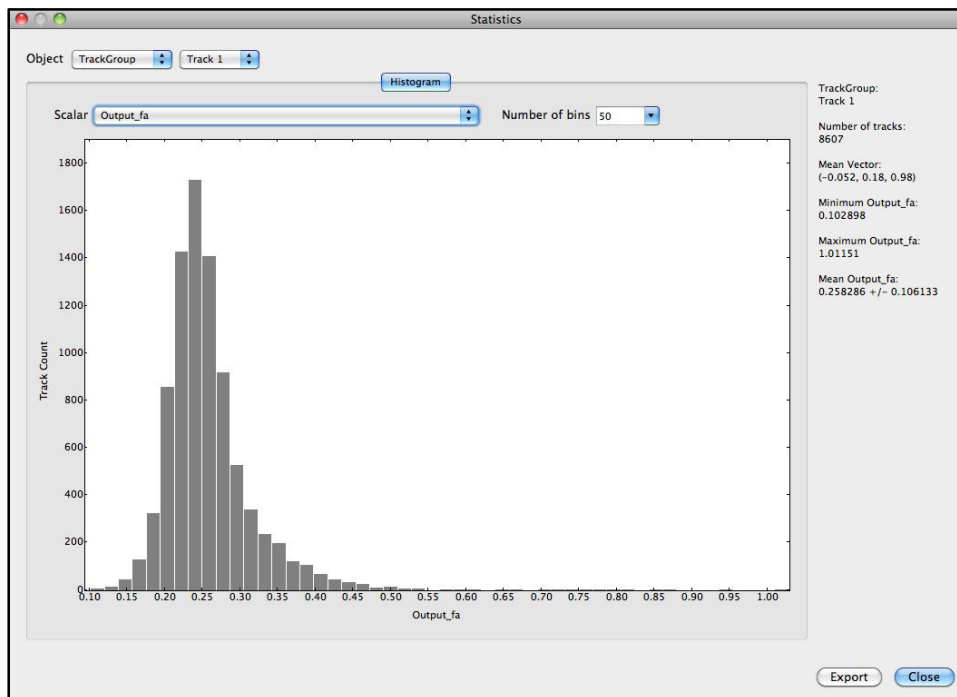


Figura 4.27 – Janela “Statistics” relativa ao FA. Tal como na figura anterior, os mesmos procedimentos podem ser realizados para se obter as estatísticas relativas ao FA, registado nos diversos tractos originados a partir de dado ROI.

Esta análise foi realizada em todos os sujeitos, para os quatro músculos em estudo e nas aquisições pré e pós-exercício. Todos os valores obtidos foram registados e posteriormente analisados estatisticamente.

4.4.2. Sequências BOLD

O comportamento do BOLD foi analisado nos quatro músculos em estudo através da marcação de ROI's com recurso a ferramenta dedicada existente no *software* OsiriX® (Pixmeo, Switzerland).

Foram delimitados ROI's circulares de pequenas dimensões (área de $0,63 \text{ cm}^2$) numa posição central de cada músculo em 10 cortes diferentes do volume contendo a metade superior da perna. Os cortes foram seleccionados de forma ascendente e alternada, começando-se no corte mais inferior do volume em causa. Englobam-se assim os cortes onde o CSA dos diferentes músculos é maior.

Esta delimitação foi efectuada manualmente pelo mesmo operador, com base nas imagens de referência anatómica (DP) pré e pós-exercício. Foi evitado a inclusão de estruturas nefastas para o estudo tais como vasos sanguíneos, gordura ou fásCIAS.

O valor de intensidade de sinal BOLD foi registado nos 10 cortes, para os quatro músculos, em todos os 60 volumes temporais. Esta informação recolhida refere-se à intensidade média do sinal dos vóxeis contidos no ROI, sendo que em cada vóxel, a intensidade do sinal está dependente do TR, da sequência usada e do tecido nele contido.

Em cada aquisição temporal, foi calculado o valor médio da intensidade do sinal BOLD para cada músculo. Estes valores foram depois representados em gráficos que demonstram o comportamento desse mesmo sinal ao longo do tempo. Todos os resultados obtidos foram à *posteriori* analisados estaticamente.

4.4.3. Comportamento de T_2

A avaliação do comportamento do T_2 que aparentemente parece ser realizável de forma bastante simples, requer no entanto uma preparação adequada e algum tratamento matemático e correcção dos valores obtidos.

Isto ocorre devido à existência de pequenos ajustes e calibrações automáticas realizadas pelo equipamento de RM previamente à execução da sequência de aquisição de imagens ponderadas em T_2 e que vão alterar a intensidade do sinal obtido.

Para colmatar este problema foi utilizada uma pequena cápsula elipsóide contendo óleo de fígado de bacalhau que posicionada na parte ântero-superior da perna, serviu de referência para calibração do sinal (Figura 4.28).

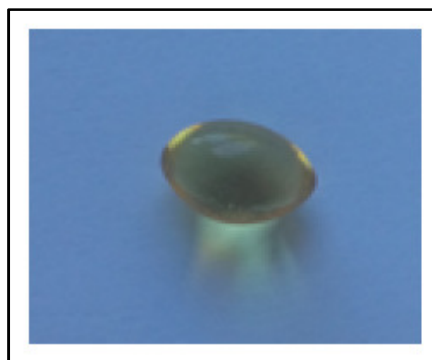


Figura 4.28 – Cápsula utilizada para calibração nas sequências T_2 .

Mas em primeira instância é necessário calcular-se o valor de T_2 da cápsula. Isto foi feito com a utilização de um fantoma contendo água e onde à sua superfície foi colocado a cápsula de calibração. Aplicou-se uma sequência multi-eco com cortes de 3,9 mm de espessura, um TR de 3000 ms, $TE_1 = 45$ ms, $TE_2 = 90$ ms, $TE_3 = 135$ ms, $TE_4 = 180$ ms, um FoV de 240 mm, uma matriz de 256x256 pixéis, e com recurso à equação abaixo demonstrada (Equação 4.1) foi

calculado o T₂ da cápsula. M_t é a intensidade média do sinal obtido e M₀ é a intensidade do sinal inicial.

$$\ln(M_t) = -\frac{1}{T_2} \cdot TE + \ln(M_0) \quad \text{Equação 4.1}$$

Estes resultados permitiram a elaboração de um gráfico (Figura 4.29) que representasse as diversas intensidades de sinal registadas a diferentes tempos de eco. Por meio de regressão linear é depois possível obter-se uma recta que por sua vez permite a obtenção do valor de T₂ da cápsula.

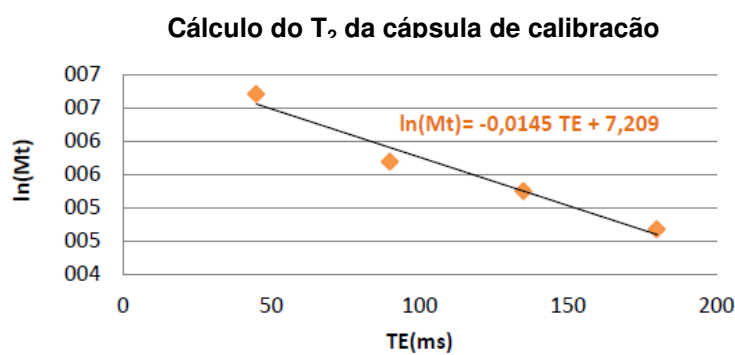


Figura 4.29 – Gráfico com as diversas intensidades de sinal registadas a diferentes TE (em escala logarítmica). O traçar de uma recta por regressão linear permite a obtenção do valor de T₂ da cápsula de calibração.

Através deste método, pode-se estimar que o tempo de relaxamento T₂ da cápsula de óleo de fígado de bacalhau é de 69,0 ± 3,6 ms.

Depois de se saber o valor de T₂ da cápsula é possível calcular o factor de calibração para cada individuo/aquisição. Isto foi feito com recurso a cada “par” de volumes DP e T₂ adquiridos para cada sujeito pré e pós-exercício.

Inicialmente, os valores de intensidade médios obtidos nos ROI's relativos à cápsula de calibração das sequências DP e T₂ são registados. Dado que o TE utilizado no DP é diferente do que é utilizado na sequência T₂, então consegue-se elaborar um gráfico (Figura 4.30) semelhante ao presente no cálculo do T₂ da cápsula de calibração.

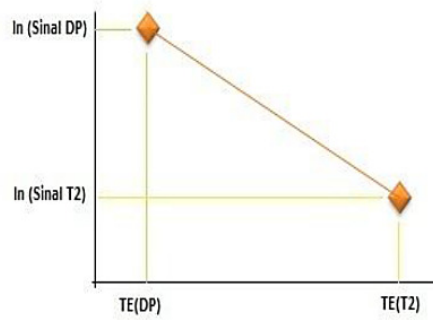


Figura 4.30 – Gráfico com as intensidades de sinal da cápsula de calibração registadas em DP e T₂ (em escala logarítmica).

No entanto, antes de se iniciar cada sequência, o equipamento de RM procede a um ajuste e calibração automática de diversos parâmetros que vão influenciar directamente os sinais obtidos nessa mesma sequência. Isto faz com que o declive da recta obtido não seja idêntico ao declive da recta determinado aquando do cálculo do valor de T₂ da cápsula de calibração com recurso à sequência multi-eco (Figura 4.31).

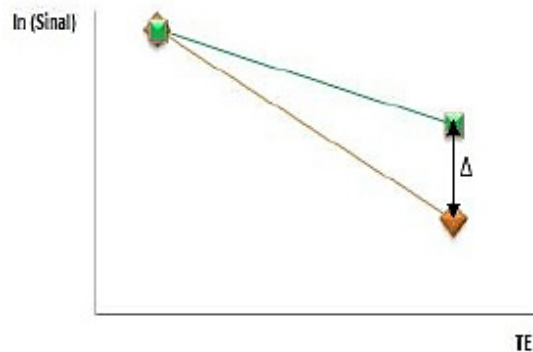


Figura 4.31 – Gráfico demonstrando a diferença entre o declive da recta determinado durante o cálculo do valor de T₂ da cápsula de calibração e o declive da recta obtido com base nas intensidades de sinal e TE das sequências DP e T₂ de dado sujeito (em escala logarítmica).

Desta forma, teve que se proceder a um ajuste/calibração. A partir do valor de “ln(Sinal_DP)”, foi determinado qual o valor que “ln(Sinal_T₂)” teria que ser de forma a que o declive obtido permitisse que o resultante valor de T₂ da cápsula fosse idêntico ao seu valor real de 69,0 ms. Estes cálculos foram realizados através das seguintes equações (Equação 4.2 e 4.3):

$$m = -\frac{1}{T_2} = \frac{\ln(\text{Sinal } T_2 \text{ calibrado}) - \ln(\text{Sinal } DP)}{TE_{(T_2)} - TE_{(DP)}} \Leftrightarrow$$

Equação 4.2

$$\Leftrightarrow \text{Sinal } T_2 \text{ (calibrado)} = e^{-\frac{1}{69,0} [TE_{(T_2)} - TE_{(DP)}] + \ln(\text{Sinal } DP)}$$

Na equação anterior, o T_2 calibrado é o valor que o T_2 obtido deve possuir de forma a que os declives das rectas obtidos durante o cálculo do T_2 da cápsula de calibração e durante a análise das intensidades de sinal e TE das sequências DP e T_2 sejam iguais.

$$\Delta = \frac{\text{Sinal } T_2 \text{ da cápsula obtido directamente}}{\text{Sinal } T_2 \text{ da cápsula calibrado}}$$

Equação 4.3

Depois de obtido o factor de calibração (Δ), pode-se determinar o “ T_2 calibrado” dos ROI’s delimitados no tecido muscular dividindo o valor de intensidade de sinal verificado directamente desses mesmos ROI’s nas imagens T_2 pelo factor de calibração. De seguida, com base na equação abaixo indicada (Equação 4.4) e conhecendo-se o valor de intensidade de sinal obtido nas imagens DP (com os ROI’s na mesma localização espacial), consegue-se finalmente calcular o valor T_2 de cada músculo em estudo.

$$-\frac{1}{T_2} = \frac{\ln(\text{Sinal } T_2 \text{ calibrado}) - \ln(\text{Sinal } DP)}{TE_{(T_2)} - TE_{(DP)}} \Leftrightarrow$$

Equação 4.4

$$\Leftrightarrow T_2 = \frac{TE_{(T_2)} - TE_{(DP)}}{\ln(\text{Sinal } T_2 \text{ calibrado}) - \ln(\text{Sinal } DP)}$$

Foram delimitados ROI’s circulares (com uma área de $0,63 \text{ cm}^2$) nos quatro músculos em estudo nos últimos 20 cortes do volume de imagens em T_2 englobando a metade superior da perna. Quando a área do músculo (à medida que se subia para cortes superiores) não permitia a delimitação do ROI em “segurança” sem que se englobasse outras estruturas que não tecido muscular ou tecido muscular de um músculo vizinho, então o processo de delimitação de ROI’s acabava para esse músculo. Desta forma, alguns músculos possuem menos do que 20 ROI’s.

Para cada músculo, o valor de T_2 final e apresentando nos resultados, é determinado através da média aritmética dos valores de T_2 registados em todos os ROI’s nos diversos cortes relativos a esse músculo.

4.4.4. Cálculo de dados musculares estruturais e arquitectónicos

4.4.4.1. CSA, PCSA, comprimento do músculo e volume muscular

As propriedades arquitectónicas dos músculos dependem das propriedades intrínsecas das suas fibras e do seu arranjo extrínseco, isto é, a sua arquitectura propriamente dita. A arquitectura muscular é tipicamente descrita em termos de comprimento das fibras, massa, comprimentos das miofibras, ângulo de penação e PCSA [23].

Para a obtenção do volume muscular foram delimitados ROI's através do *software* "Osirix" (*Pixmeo*, Suíça) em todos os cortes dos volumes obtidos em DP, nos músculos estudados. Desta forma, um único operador, através das ferramentas de delimitação oferecidas por este *software*, traçou os contornos do tibial anterior, gastrocnémio medial, gastrocnémio lateral e solear. O volume muscular foi calculado através da soma do produto das áreas de secção transversal de dado músculo em cada imagem pela espessura de corte (3,9 mm).

O $CSA_{\text{máx}}$ foi ao mesmo tempo determinado como sendo o CSA registado de maior valor nos diversos cortes obtidos. O comprimento do músculo foi definido como a distância entre as pontas proximais e distais do músculo, isto é, verificou-se o primeiro e o último corte em que se visualiza o músculo em causa e o número de cortes existentes pelo meio foi multiplicado pelo valor da espessura de corte.

O PCSA é uma aproximação do total da área de secção transversal – CSA – de todas as fibras musculares, projectada ao longo da linha de acção de força do músculo [23]. Este PCSA foi calculado através da equação 4.5 (onde θ corresponde ao ângulo de penação) derivada do trabalho originado por Gans [136] e desenvolvido posteriormente por Liber [1]:

$$PCSA (cm^2) = \frac{\text{volume muscular } (cm^3)}{\text{comprimento da fibra } (cm)} \times \cos \theta \quad \text{Equação 4.5}$$

4.4.4.2. Ângulo de penação

O ângulo de penação foi medido directamente nas diversas imagens visualizadas no *software* TrackVis. Após a realização da tractografia em cada músculo analisado, manipulou-se o "volume de imagens" no espaço 3D virtual (em volta do eixo z) de modo a que o ângulo entre um determinado *bundle* de fibras e a linha de acção de força do músculo atingisse um valor máximo (Figura 4.32 e 4.33). Ao contrário dos tractos utilizados para a obtenção dos diferentes parâmetros de DTI, nesta fase os tractos tiveram a sua origem em ROI's que englobavam todo o músculo no corte onde cada um deles apresentava maior CSA. Assim, garantiu-se a visualização de todas as fibras em dado músculo e identificação das diferentes populações de

fibras possíveis com orientações distintas. A inclusão de outras estruturas para além do tecido muscular não é nestes casos prejudicial já que estas não originam os seus próprios tractos. O cuidado mais importante a ter é o de não incluir tecido dos músculos vizinhos.

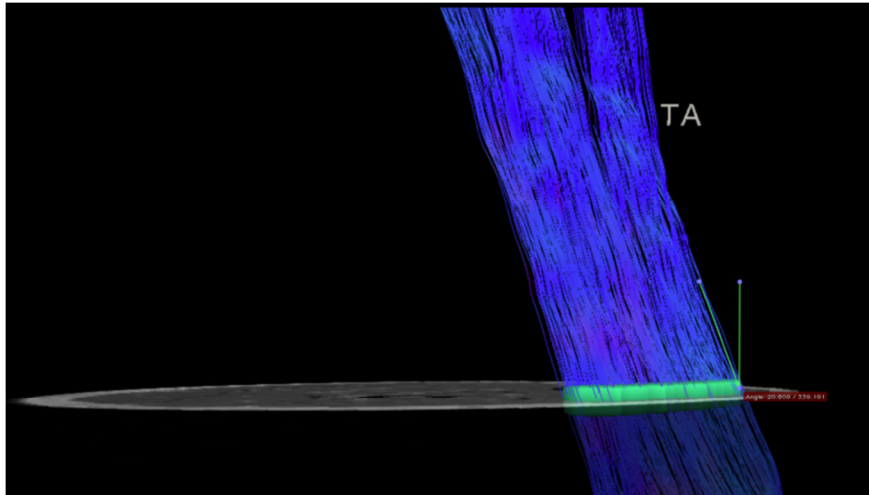


Figura 4.32 – Cálculo do ângulo de penetração no TrackVis. Vista geral da tractografia realizada a partir de um ROI englobando todo o músculo TA manipulada em redor do eixo z até que se pudesse identificar o θ máximo.

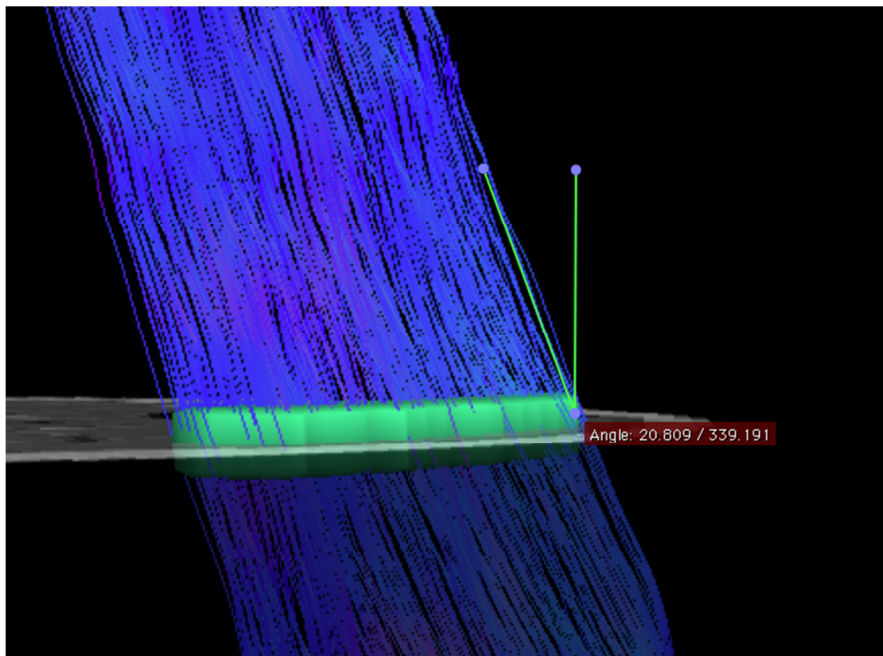


Figura 4.33 – Vista ampliada da figura 4.32 onde podemos verificar a determinação do ângulo de penetração do TA de determinado sujeito através de ferramenta própria existente no *software* TrackVis. Neste exemplo consegue-se verificar que o θ é igual a 20,809°.

Em todos os músculos analisados, o volume 3D foi manipulado de forma a serem verificados as orientações predominantes das suas fibras e foram calculados três valores de ângulo de penação (exceptuando os TA em que só foram registados dois valores, dado a elevada homogeneidade de orientação das suas fibras). De seguida foi calculado o valor médio para cada músculo e para cada sujeito. Isto foi feito de modo a ter em conta as diferentes populações de fibras existentes em alguns músculos (Figura 4.34). Este procedimento é especialmente importante no SOL devido ao facto de possuir uma arquitectura multipenada.

Uma análise mais aprofundada dos diversos compartimentos dos músculos e da orientação das suas respectivas fibras seria mais desejada, no entanto, este tipo de análise não faz parte do âmbito deste projecto. Os resultados serão ultimamente utilizados em modelos computacionais do sistema musculoesquelético que não têm em conta o aspecto multi-compartimentado de alguns músculos, mas sim caracterizam estes músculos como uma entidade individual e de certa forma com constituição “homogénea”.

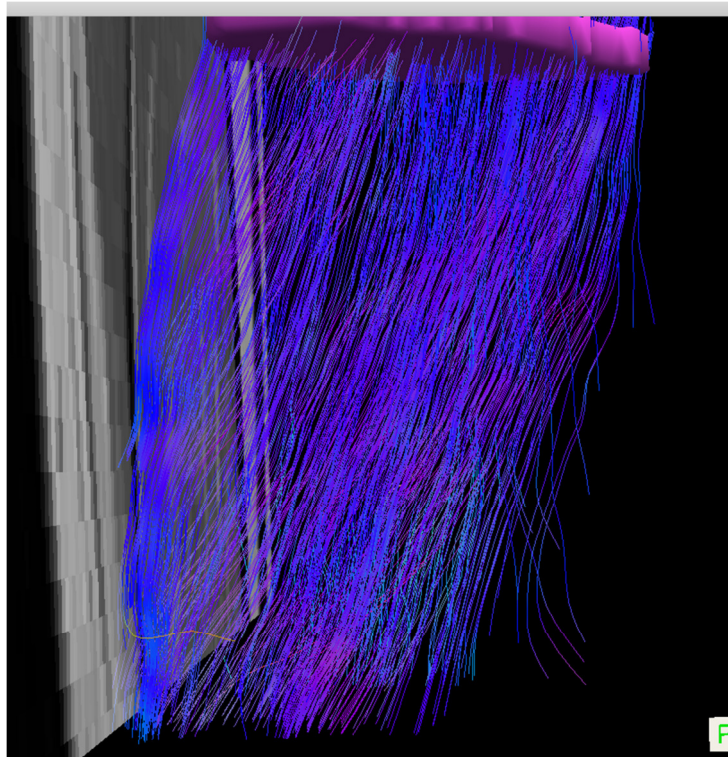


Figura 4.34 – Vista aproximada das fibras do GL em vista pósterio-externa. Nesta tractografia realizada a partir de um ROI abrangendo o GL num volume pré-exercício, podemos verificar que existem diversas populações de fibras com diferentes orientações. É assim importante registar os diferentes ângulos de penação predominantes para assim poder obter um valor médio representativo.

4.4.4.3. Comprimento das fibras musculares

O comprimento das fibras é obtido de forma directa pelo *software* utilizado. Este facultá-nos os valores mínimos e máximos registados, bem como os valores médios. Para além destes valores, podemos também ter acesso a um gráfico que demonstra a distribuição dos vários tractos em classes com vários tamanhos (Figura 4.35). Esta análise é realizada com base nos tractos originados aquando do cálculo dos ângulos de penação descrito no capítulo anterior.

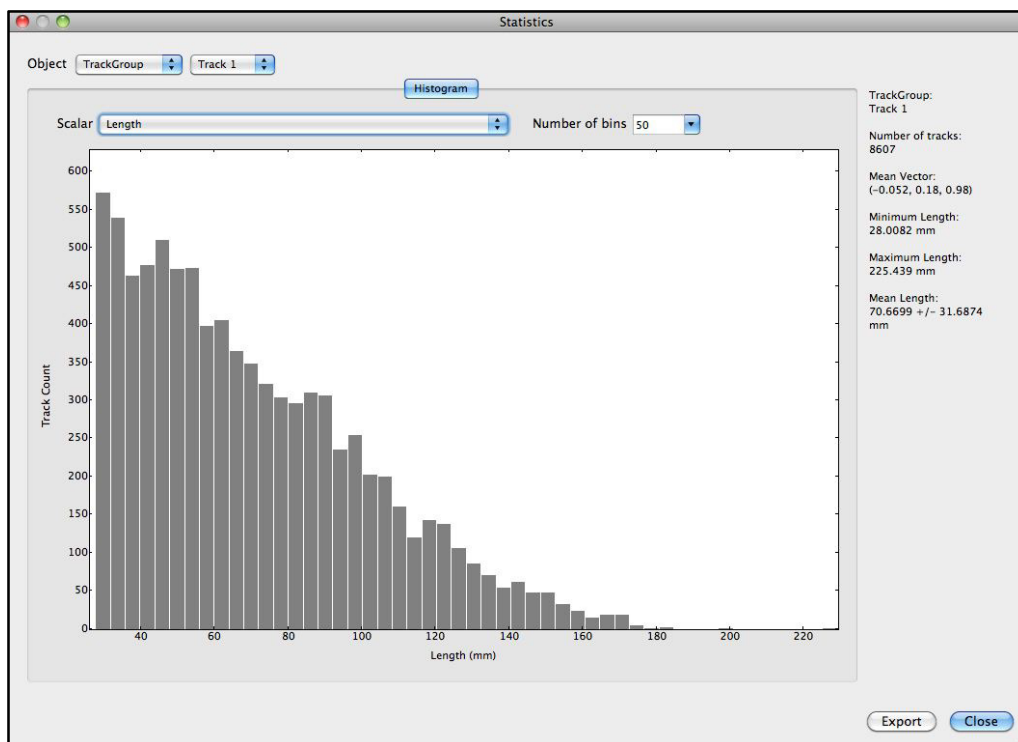


Figura 4.35 – Janela “Statistics” relativa ao comprimento das fibras. O *software* TrackVis permite-nos obter um gráfico que apresenta estatísticas relativas ao comprimento de fibras.

4.4.5. Análise Estatística

Toda a análise estatística foi realizada com recurso ao *software* “IBM SPSS Statistics 20”. Foi testada a normalidade das variáveis e realizada uma análise por *t-test* para amostras emparelhadas. O intervalo de confiança utilizado foi de $p < 0,05$. Estes testes foram utilizados para comparar as diferenças entre os parâmetros arquitectónicos e funcionais antes e depois da execução do exercício.

Pretende-se com esta abordagem verificar se as variações da aquisição pré para a pós-exercício são significativas e se a média das diferentes variáveis registadas na fase pós-exercício é superior à média registada na fase pré-exercício, isto para todas as técnicas de IRM utilizadas.

5. Resultados Experimentais

Depois de serem realizados todos as sessões de aquisição de imagens, estas foram tratadas de acordo com a metodologia descrita no capítulo anterior e todos os dados e resultados foram registados e analisados estatisticamente.

Dado o enorme volume de dados resultantes desta investigação, neste capítulo são apresentados os dados relativos ao DTI, BOLD, T2 e análise arquitectónica para cada um dos quatro músculos em estudo e para cada voluntário individualmente e no final é realizada uma apreciação geral para a totalidade dos seis voluntários.

Os conjuntos de dados provenientes de cada técnica e/ou processo são apresentados de forma diferente consoante as variáveis em causa e de modo a facilitar a sua leitura e interpretação.

Do DTI obtiveram-se os seguintes parâmetros: FA, ADC e os três *eigenvalues*. Apesar do facto de que o comprimento das fibras musculares e do ângulo de penação serem conseguidos com recurso a esta técnica de RM, estes são juntos aos restantes parâmetros arquitectónicos por motivos de lógica e clareza. Os valores registados pré e pós-exercício são apresentados em forma de tabela, bem como o respectivo ganho percentual, calculado através da equação abaixo (Equação 5.1).

$$\text{Ganho Percentual (\%)} = \frac{\text{Variável}_{\text{Pós-exercício}} - \text{Variável}_{\text{Pré-exercício}}}{\text{Variável}_{\text{Pré-exercício}}} \times 100 \quad \text{Equação 5.1}$$

No que respeita ao comportamento do sinal BOLD nos quatro músculos, este é apresentado de duas formas. Apesar de serem adquiridos 60 volumes pré-exercício foi verificado que o sinal BOLD registado em cada um deles não apresentava diferenças significativas. Desta forma, foi calculado o valor médio do sinal BOLD pré-exercício, sendo este comparado com o valor máximo do sinal registado após a execução do protocolo de exercício. Tal como visível mais à

frente, este valor máximo nem sempre correspondeu ao sinal obtido no primeiro dos 60 volumes pós-exercício. A possível explicação para este achado, bem como as razões para se escolher uma análise com base no valor máximo pós-exercício (e não propriamente o primeiro valor registado após este exercício) são apresentados no capítulo da discussão dos resultados.

Para além desta análise, é também analisado o comportamento do sinal BOLD ao longo do tempo após o exercício e a forma como é feito o retorno para os valores iniciais de “repouso”.

Na análise do valor de T_2 foi realizada uma avaliação dos valores pré e pós-exercício, sendo os resultados apresentados sob forma de gráficos de barras.

Para cada sujeito estudado, são exibidos e analisados por fim todos os parâmetros arquitectónicos do âmbito deste estudo: volume muscular, CSA, PCSA, comprimento das fibras, ângulo de penação e comprimento muscular. É de realçar que o último parâmetro – o comprimento muscular – só possui um valor por músculo, já que não se registaram diferenças neste parâmetro entre as aquisições pré e pós-exercício.

No final deste capítulo e tal como já foi referido anteriormente, será feita uma exame geral das diversas variáveis para a totalidade dos sujeitos, bem como uma comparação relativa entre os dados observados nas várias técnicas de RM.

5.1. Sujeito A

5.1.1. DTI

Neste subcapítulo são apresentados os valores relacionados com o DTI obtidos nos quatro músculos em estudo do sujeito A, antes e depois da realização do protocolo de exercício (Tabela 5.1 e 5.2).

Tabela 5.1: FA e ADC quatro músculos em estudo pré e pós-exercício. Podemos também verificar o ganho percentual na terceira coluna de cada variável.

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,286	0,272	-4,8	0,00167	0,00163	-1,9
GM	0,236	0,245	3,9	0,00169	0,00205	21,6
GL	0,254	0,285	12,1	0,00176	0,00225	27,8
SOL	0,275	0,256	-7,0	0,00161	0,00206	27,6

A maior variação no valor do FA com a execução do exercício foi encontrado no GL (12,1%), cujo FA passou de 0,254 para 0,285. O outro músculo a apresentar uma variação positiva no valor de FA foi o GM (3,9%). O TA e o SOL viram o seu FA decrescer de 0,286 para 0,272 (variação de -4,8%) e de 0,275 para 0,256 (variação de -7,0%) respectivamente.

Quanto ao ADC, os maiores valores pré e pós-exercício foram encontrados no GL. Neste músculo, o ADC aumentou de um valor de $1,76 \times 10^{-3}$ mm²/s para $2,25 \times 10^{-3}$ mm²/s (variação de 27,8%). O SOL e o GM também apresentaram variações da mesma ordem quanto aos seus valores de ADC (27,6%; 21,6%), acabando respectivamente com os valores pós-exercício de $2,06 \times 10^{-3}$ mm²/s e $2,05 \times 10^{-3}$ mm²/s. O ADC médio do TA variou -1,9% com o exercício, de um valor inicial de $1,67 \times 10^{-3}$ mm²/s para um pós-exercício de $1,63 \times 10^{-3}$ mm²/s.

Tabela 5.2: Os três *eigenvalues* obtidos antes e depois do exercício para os quatro músculos em estudo do sujeito A.

	λ_1 (mm ² /s)		λ_2 (mm ² /s)		λ_3 (mm ² /s)	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00220	0,00213	0,00151	0,00150	0,00127	0,00126
GM	0,00211	0,00258	0,00161	0,00193	0,00133	0,00164
GL	0,00224	0,00296	0,00168	0,00208	0,00138	0,00172
SOL	0,00209	0,00264	0,00150	0,00190	0,00124	0,00163

O λ_1 sofreu o maior aumento no GL, subindo de um valor de $2,24 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para um de $2,96 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. Este músculo também apresentou os maiores valores de λ_2 pré e pós-exercício ($1,68 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ e $2,08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ respectivamente). O mesmo aconteceu no que respeita o λ_3 . O TA, por outro lado, verificou um decréscimo no valor de todos os *eigenvalues*, sendo este mais pronunciado no λ_3 .

5.1.2. BOLD

A influência do exercício no sinal BOLD pode ser verificado na figura abaixo (Figura 5.1).

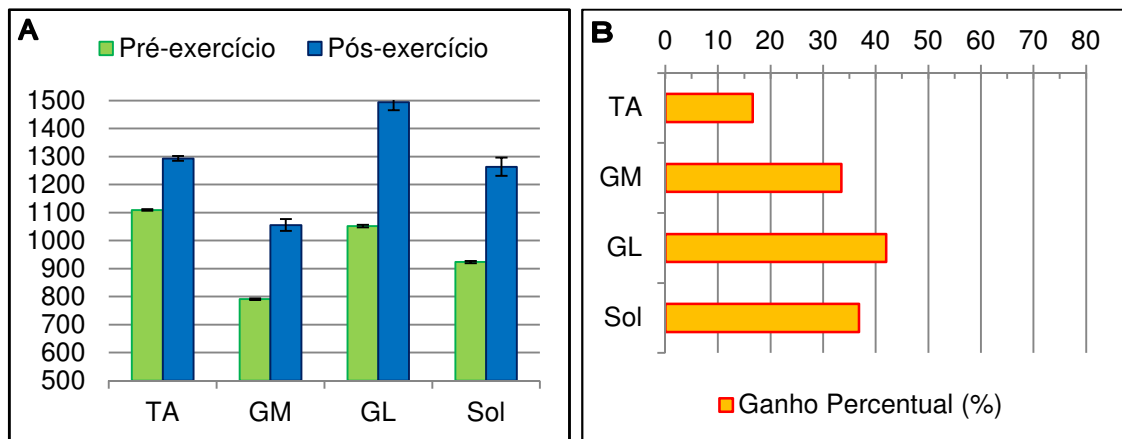


Figura 5.1: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito A. Intensidade do sinal BOLD pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

Verifica-se que para o sujeito A, o músculo que regista uma maior intensidade de sinal BOLD previamente a execução do exercício é o TA, seguido do GL, SOL e por último o GM. No entanto, após o exercício, o GL é aquele que sofre uma variação de 42,0% passando a ser o músculo a apresentar uma maior intensidade de sinal BOLD, seguido do SOL (36,8%) e do GM (33,5%). Apesar do TA só exibir um ganho percentual de 16,6%, após o exercício, este é o músculo que apresenta a segunda maior intensidade de sinal BOLD.

Segundo a análise estatística, as variações de intensidade do sinal BOLD para os quatro músculos entre as aquisições pré e pós-exercício são todas extremamente significativas ($p < 0,001$).

O comportamento temporal do sinal BOLD pode ser verificado na figura 5.2.

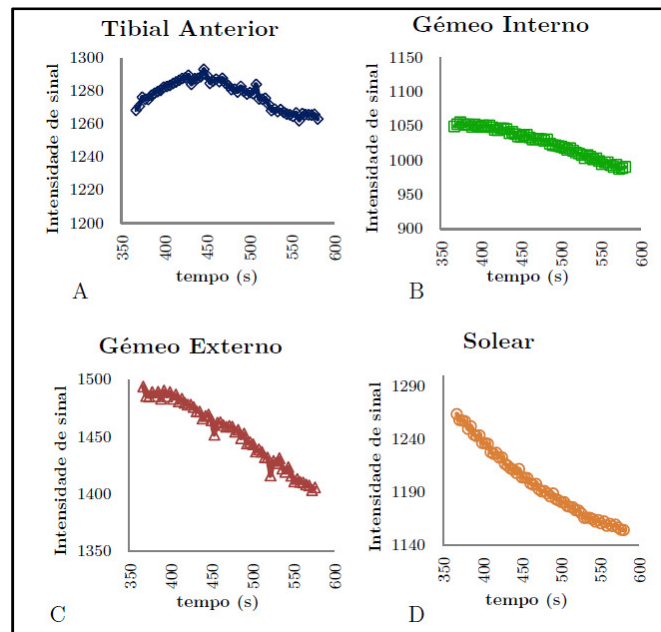


Figura 5.2: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito A.

As intensidades do sinal BOLD dos músculos GM, GL e SOL começam por ser elevados nos primeiros tempos, mas logo a seguir iniciam o seu decaimento tendencial para os valores pré-exercício. O TA por outro lado, antes de apresentar um comportamento semelhante aos outros músculos, ainda se pode verificar um aumento inicial progressivo de intensidade do sinal BOLD, atingindo nessa altura o seu valor máximo.

5.1.3. Relaxometria T_2

Nas figuras 5.3 e 5.4 são apresentados os valores médios do T_2 registados antes e depois da realização do protocolo de exercício, bem como os respectivos ganhos percentuais.

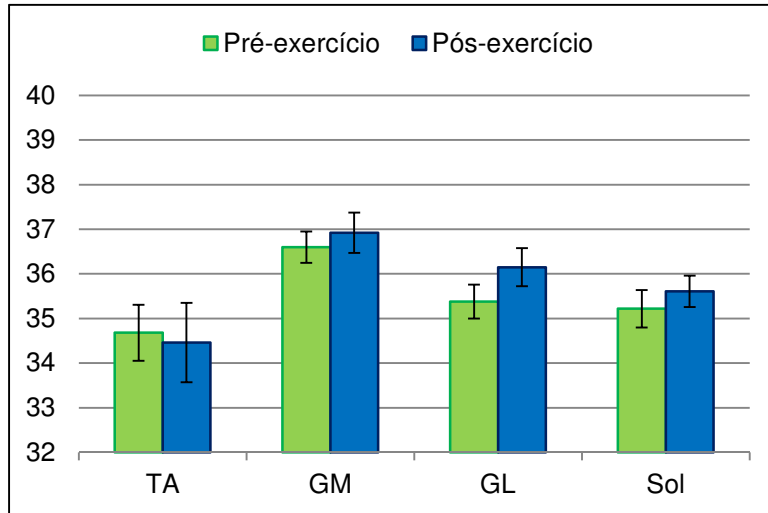


Figura 5.3: T₂ (ms) registado nos quatro músculos do sujeito A antes e após realização de exercício.

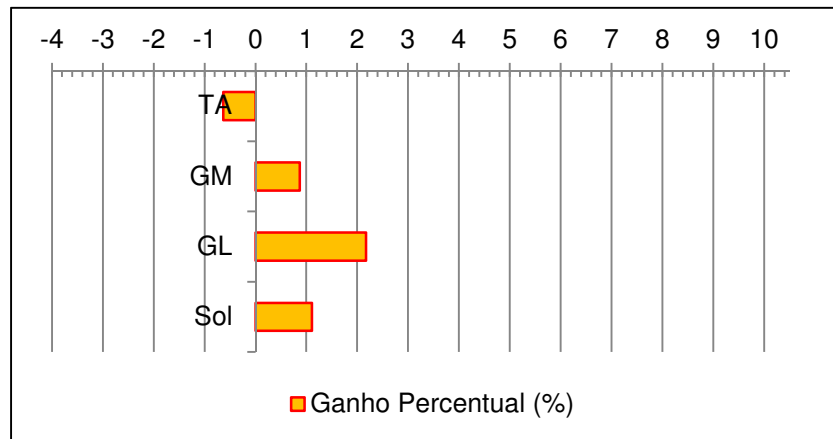


Figura 5.4: Variação sofrida pelo T₂ nos quatro músculos do sujeito A após realização do protocolo de exercício.

O GM é o músculo que apresenta o valor médio de T₂ mais elevado, tanto na fase pré-exercício como pós-exercício. Este passa de um valor médio de 36,6 ± 0,35 ms para 36,9 ± 0,45 ms ($p < 0,008$) o que corresponde a uma variação de 0,9%. O GL é o músculo que possui um ganho percentual mais elevado (2,2%), aumentando de um valor médio de 35,4 ± 0,38 ms para 36,1 ± 0,43 ms ($p < 0,001$). O T₂ do SOL aumentou de 35,2 ± 0,38 ms para 36,1 ± 0,35 ms ($p < 0,003$). O único músculo que não registou diferenças significativas ($p > 0,05$) foi o TA, que viu o seu T₂ decrescer de 34,7 ± 0,63 ms para 34,5 ± 0,89 ms (variação de -0,6%).

5.1.4. Dados Arquitectónicos

Os dados relativos à arquitectura muscular dos quatro músculos em estudo do sujeito A encontram-se nas tabelas que se seguem (Tabela 5.3, 5.4 e 5.5).

Tabela 5.3: Volume muscular e comprimento das fibras médio obtido pré e pós-exercício para os quatro músculos analisados do sujeito A e suas respectivas variações percentuais.

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	145,3	142,8	-1,7	9,87	10,59	7,3
GM	270,6	275,0	1,6	7,02	7,00	-0,3
GL	131,2	140,5	7,1	8,01	8,01	5,9
SOL	407,9	401,9	-1,4	6,86	6,86	-1,0

O volume muscular mais elevado foi registado no SOL (407,9 cm³ pré-exercício e 401,9 cm³ pós-exercício). Este sofreu um decréscimo no seu volume pós-esforço de -1,4%. Decréscimo semelhante ocorreu também no TA (-1,7%) cujo volume passou de 145,3 cm³ para 142,8 cm³. O maior aumento de volume muscular foi registado no GL que passou de um valor de 131,1 cm³ para um valor de 140,5 cm³ (ganho percentual de 7,1%).

No que respeita o comprimento médio das fibras, este diminuiu para os músculos GM e SOL (-0,3% e -1,0% respectivamente), enquanto que aumentou para os GL e TA (5,9%; 7,3%). Este último apresentou o maior comprimento de fibras médio pré e pós-exercício, passando de um valor de 9,87 cm para um de 10,59 cm.

Tabela 5.4: CSA e PCSA calculados para os diferentes músculos em estudo antes e após a realização do protocolo de exercício pelo sujeito A.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	10,3	9,5	-7,2	13,9	13,0	-6,5
GM	19,0	19,4	2,2	36,3	37,9	4,2
GL	9,9	10,7	7,2	15,8	16,2	2,3
SOL	25,5	25,7	1,0	53,3	56,0	4,9

O CSA e o PCSA aumentaram com a execução do protocolo de exercício em todos os músculos do sujeito A exceptuando o TA. Este último apresentou uma redução do valor de CSA de -7,2% e do PCSA de -6,5%. O SOL é em acordo com os valores de volume muscular, o músculo que possui o maior CSA (25,5; 25,7) e PCSA (53,3; 56,0) em ambas as fases, apresentando também o ganho percentual mais relevante no que respeita o PCSA (4,9%).

Quanto ao CSA, esse maior ganho percentual (7,2%) ocorre no GL que passa de um valor de 9,9 cm² para 10,7 cm².

Tabela 5.5: Ângulo de penação e comprimento muscular observados nos músculos do sujeito nº1.

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	19,4	15,5	-20,1	31,6
GM	19,5	15,4	-20,8	23,0
GL	15,2	12,6	-17,0	23,4
SOL	26,2	19,0	-27,3	30,4

Todos os ângulos de penação médios decrescem com a realização de exercício. A diminuição mais marcante acontece no SOL que passa de um valor de 26,2° para um de 19,0° (correspondente a um decréscimo de -27,3%). O músculo que apresenta um maior ângulo de penação nas duas fases é o SOL, enquanto que o GL apresenta os valores mais baixos (15,2° e 12,6° respectivamente).

No que se refere ao comprimento muscular, o músculo de maior comprimento é o TA (31,6 cm), seguido do SOL (30,4 cm), GL (23,4 cm) e GM (23,0 cm).

5.2. Sujeito B

5.2.1. DTI

Os dados relativos às sequências DTI para os vários músculos do sujeito B encontram dispostos nas tabelas que se seguem (Tabela 5.7 e 5.8).

Tabela 5.6: Valores de FA e ADC pré e pós-exercício e respectivo ganho percentual para os quatro músculos em estudo do sujeito B.

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,255	0,274	7,2	0,00170	0,00178	4,9
GM	0,249	0,266	7,2	0,00174	0,00209	19,9
GL	0,276	0,280	1,3	0,00170	0,00222	30,9
SOL	0,262	0,257	-1,8	0,00163	0,00221	35,3

O músculo com FA mais elevado na fase pré-exercício – o GL – passou de um valor de 0,276 para um de 0,280 (variação de 1,3%). Os outros músculos em que também registaram um aumento no valor de FA foram o TA e o GM, que respectivamente passaram de valores de 0,255 para 0,0274 (variação de 7,2%) e de 0,249 para 0,266 (variação de 7,2%). No SOL, o FA decresceu 1,8%, de um valor de 0,262 para um valor pós-exercício de 0,257.

Quanto ao ADC, a maior variação (35,3%) foi registada no SOL, subindo de $1,63 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para $2,21 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. A segunda maior variação ocorreu no GL (30,9%) em que o valor de ADC passou de $1,70 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para um valor pós-exercício de $2,22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. O ADC do GM registou uma variação de 19,9% e a menor subida foi observada no TA (4,9%) que acabou com o valor de ADC pós-exercício mais baixo ($1,78 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$).

Tabela 5.7: Resultados obtidos para os três *eigenvalues*, nos músculos do sujeito B, antes e depois do protocolo de exercício.

	$\lambda_1 \text{ (mm}^2/\text{s)}$		$\lambda_2 \text{ (mm}^2/\text{s)}$		$\lambda_3 \text{ (mm}^2/\text{s)}$	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00218	0,00232	0,00158	0,00164	0,00134	0,00138
GM	0,00222	0,00272	0,00164	0,00192	0,00137	0,00164
GL	0,00220	0,00286	0,00160	0,00212	0,00129	0,00168
SOL	0,00209	0,00281	0,00155	0,00210	0,00126	0,00172

O músculo que apresentou um maior valor de λ_1 pré-exercício foi o GM ($2,22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), seguido do GL ($2,20 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), do TA ($2,18 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) e finalmente pelo SOL ($2,09 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). Após o exercício, o GL passou a ser o detentor do maior valor de λ_1 ($2,86 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), seguido do SOL ($2,81 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$), GM ($2,72 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) e por fim do TA ($2,32 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). O mesmo comportamento geral foi observado no que respeita o λ_2 . Na fase pré-exercício do λ_3 passa-se de novo o mesmo e na fase Pós-esforço trocam-se somente as duas primeiras posições entre o GL e o SOL.

5.2.2. BOLD

Os valores de intensidade do sinal BOLD dos músculos do sujeito B pré e após a realização do protocolo de exercício, bem como a sua variação percentual são apresentados na figura abaixo (Figura 5.5).

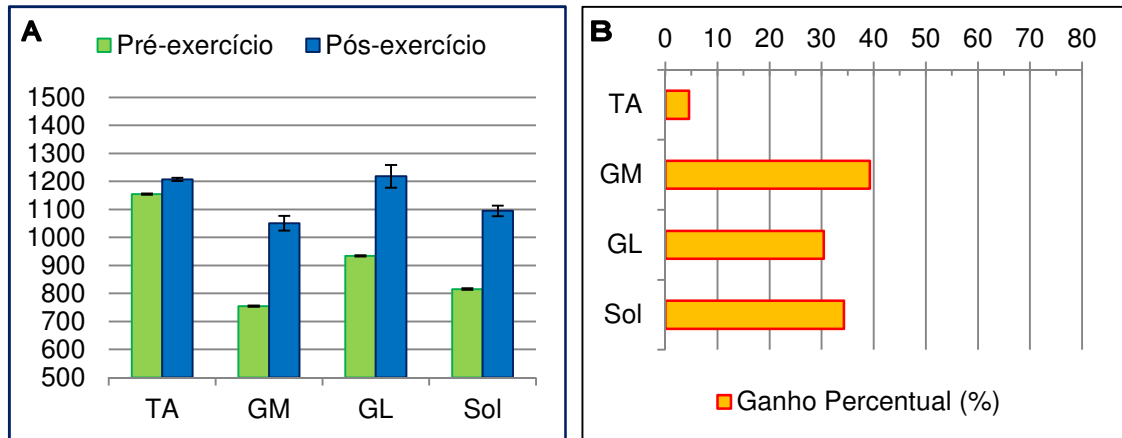


Figura 5.5: Intensidades do sinal BOLD registadas antes e depois do exercício, nos quatro músculos em estudo do sujeito B. Sinal BOLD médio pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

Verifica-se que a intensidade do sinal BOLD para o TA entre as fases pré e pós-exercício varia somente 4,5%. Apesar disso, este músculo é o que apresenta maior intensidade do sinal BOLD antes do exercício e a segunda maior após a realização deste mesmo exercício. O GM é o músculo que apresenta maior ganho percentual entre as duas fases (39,2%), no entanto é o músculo com menor valor absoluto de intensidade do sinal BOLD em ambas as aquisições. O GL e o SOL vêm a sua intensidade de sinal BOLD aumentar (39,2% e 34,3% respectivamente), passando o primeiro a ser o músculo com maior valor BOLD após o exercício.

As variações entre as fases pré e pós-esforço são estatisticamente significativas para todos os músculos em estudo do sujeito B ($p < 0,05$).

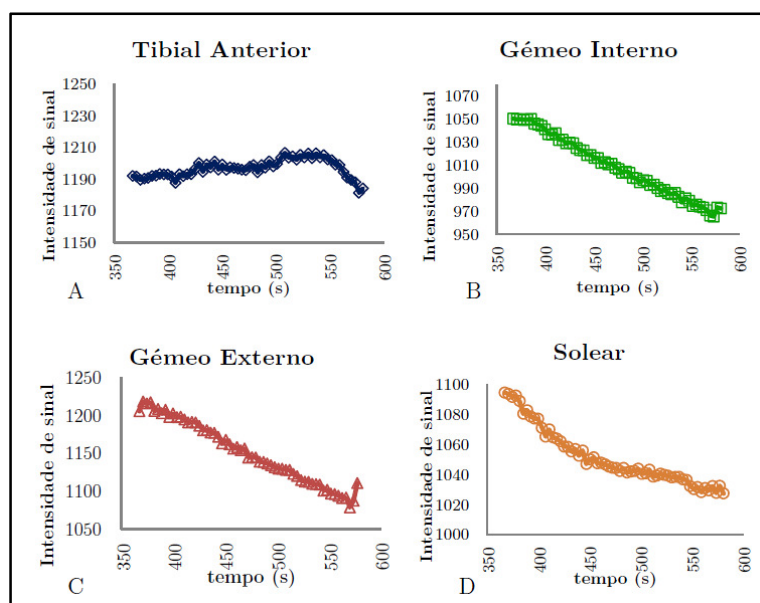


Figura 5.6: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito B.

Quanto ao comportamento temporal do sinal BOLD após os músculos serem submetidos ao protocolo de exercício (Figura 5.6), pode ser novamente verificado que o sinal BOLD para o GM, GL e SOL se encontra em percurso decrescente para valores de “repouso” de forma contínua. O sinal BOLD do TA contraria esse comportamento, apresentando-se inicialmente em crescimento, só iniciando à sua descida para valores de base de forma abrupta já perto do fim.

5.2.3. Relaxometria T_2

As diferenças entre o T_2 antes e depois da execução do protocolo de exercício nos quatro músculos da perna em estudo do sujeito B e variação percentual correspondente podem ser observadas nas figuras abaixo (Figura 5.7 e 5.8).

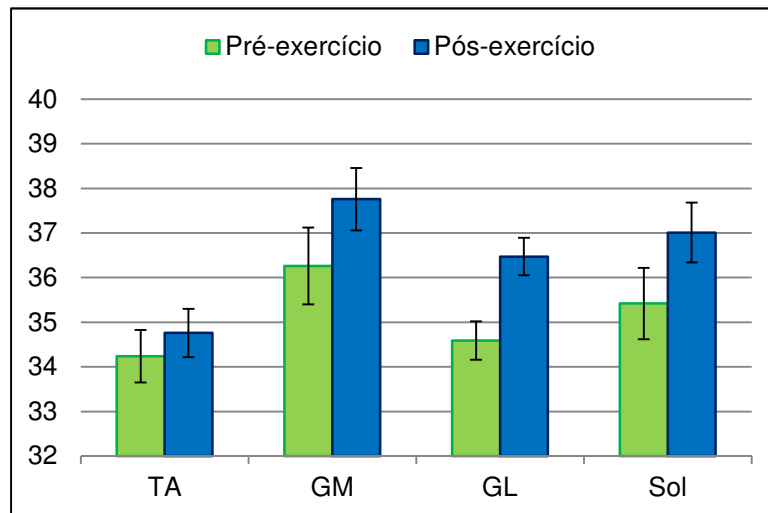


Figura 5.7: Valores de T_2 (ms) registados nos quatro músculos do sujeito B pré e pós-realização de exercício.

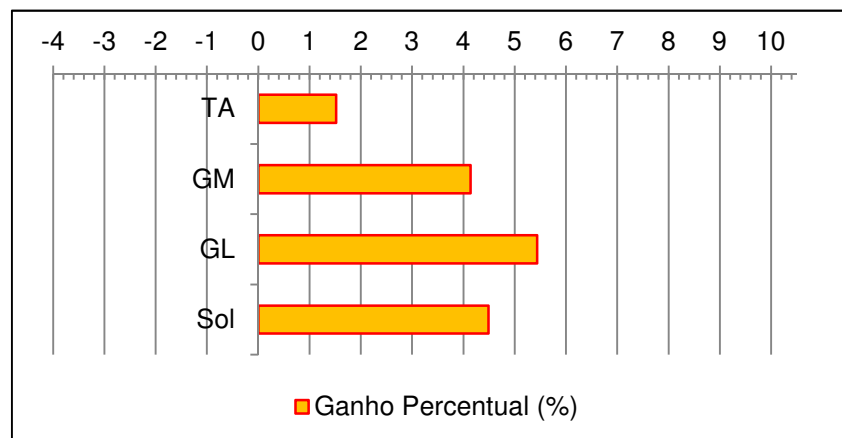


Figura 5.8: Ganho percentual do valor de T_2 nos quatro músculos do sujeito B após realização do protocolo de exercício.

O valor de T_2 pré e pós-exercício mais elevado foi observado no músculo GM. Este músculo aumentou 4,1%, passando de um valor médio de $36,3 \pm 0,86$ ms para $37,8 \pm 0,70$ ms ($p < 0,002$). O SOL registou os segundos maiores valores para as duas fases, aumentando de $35,4 \pm 0,80$ ms para $37,0 \pm 0,67$ ms ($p < 0,001$), o que correspondeu a um ganho percentual de 4,5%. O T_2 do GL foi aquele que experienciou um maior aumento percentual (5,4%), passando de um valor médio de $34,6 \pm 0,43$ ms para $36,5 \pm 0,42$ ms ($p < 0,002$). O T_2 do TA teve o menor aumento registado para este sujeito (1,5%), diminuindo de um valor de $34,2 \pm 0,59$ ms para $34,8 \pm 0,54$ ms ($p < 0,001$).

5.2.4. Dados Arquitectónicos

Os dados arquitectónicos relativos ao sujeito B encontram-se registados nas tabelas abaixo (Tabelas 5.8, 5.9 e 5.10).

Tabela 5.8: Volume muscular e comprimento das fibras médio obtido antes e depois do exercício (Sujeito B).

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	120,2	115,7	-3,7	8,98	8,18	-8,9
GM	209,2	211,3	1,0	5,60	7,08	26,4
GL	106,7	118,3	10,8	4,06	5,97	47,0
SOL	461,4	454,6	-1,4	6,29	6,49	3,2

O maior volume muscular registado para o sujeito B é relativo ao SOL, que apesar de perder um pouco desse valor com o exercício (-1,4%) consegue no entanto manter-se a pouco mais do dobro do valor do segundo maior músculo – o GM. O GL foi aquele que variou mais entre as duas fases, passando de um volume de $106,7$ cm³ para um de $118,3$ cm³. O volume muscular do TA, tal como o SOL, também decresceu com a execução do protocolo de exercício (-3,7%).

Quanto ao comprimento médio das fibras musculares, as fibras mais compridas foram detectadas no TA (8,98 cm e 8,18 cm em cada respectiva fase), no entanto também foram estas fibras as únicas a sofrerem um decréscimo de tamanho com o esforço (-8,9%). A maior variação positiva foi obtida no GL (47,0%), seguido do GM (26,4%) e por fim no SOL (3,2%).

Tabela 5.9: CSA máximo e PCSA dos músculos em estudo do sujeito B antes e depois de submetidos ao exercício, com respectiva variação percentual.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	7,8	8,1	4,1	12,5	13,6	9,1
GM	16,6	17,5	5,0	35,5	28,7	-19,2
GL	9,8	11,7	18,5	25,9	18,8	-27,4
SOL	32,6	31,9	-2,3	65,4	64,3	-1,6

O CSA mais elevado foi calculado no SOL e o menor no TA. A mesma coisa aconteceu para o PCSA dos músculos deste sujeito. No entanto, enquanto que o GL registou o maior ganho percentual no valor de CSA (18,5%), este também registou o decréscimo percentual mais pronunciado no que respeita os valores de PCSA (-27,4%).

Tabela 5.10: Ângulo de Penação médio verificado pré e pós-esforço e comprimento muscular dos quatro músculos, no sujeito B.

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	21,3	15,9	-25,6	28,5
GM	18,1	16,1	-11,3	24,9
GL	10,2	18,5	81,5	19,9
SOL	27,0	23,4	-13,2	28,5

O único valor médio de ângulo de penação que aumentou após a realização do protocolo de exercício ocorreu no músculo GL (81,5%). Em todos os outros, os ângulos de penação decresceram, sendo este decréscimo de -25,6% no TA, -13,2% no SOL e -11,3 no GM.

O SOL e o TA foram os músculos do sujeito B que apresentaram possuir um maior comprimento (28,5 cm cada), seguidos do GM (24,9 cm) e do GL (19,9 cm).

5.3. Sujeito C

5.3.1. DTI

De seguida, podemos encontrar as tabelas com os dados obtidos relacionados com o DTI (Tabela 5.11 e 5.12).

Tabela 5.11: FA e ADC obtidos para o sujeito C antes e depois do exercício.

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,293	0,271	-7,4	0,00153	0,00196	27,9
GM	0,289	0,266	-7,8	0,00145	0,00212	46,5
GL	0,330	0,290	-12,2	0,00151	0,00213	41,4
SOL	0,291	0,273	-6,2	0,00162	0,00222	37,1

Quanto ao sujeito C, os valores de FA de todos os músculos decresceram após o exercício. O músculo onde este facto foi mais evidente foi no GL (-12,2%) que passou de 0,330 para 0,290. No entanto, este foi o músculo cujo FA foi mesmo assim maior nas duas fases.

Quanto ao ADC, os maiores valores pré e pós-exercício foram encontrados no SOL. Neste músculo, o ADC aumentou de um valor de $1,62 \times 10^{-3}$ mm²/s para $2,22 \times 10^{-3}$ mm²/s (variação de 37,1%). O GM e o GL foram os músculos em que a variação ocorrida no ADC após exercício foi mais elevada (4,5% e 41,4% respectivamente).

Tabela 5.12: Os três *eigenvalues* pré e pós-esforço dos músculos do sujeito C.

	λ_1 (mm ² /s)		λ_2 (mm ² /s)		λ_3 (mm ² /s)	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00202	0,00254	0,00143	0,00183	0,00114	0,00150
GM	0,00190	0,00273	0,00135	0,00197	0,00108	0,00166
GL	0,00205	0,00281	0,00140	0,00194	0,00108	0,00164
SOL	0,00214	0,00288	0,00152	0,00204	0,00120	0,00174

O SOL foi o músculo que apresentou os maiores valores para os três *eigenvalues* nas duas fases distintas. No entanto, o músculo em que a variação foi mais elevada no que respeita os três *eigenvalues* foi no GM, seguido de forma próxima pelo GL.

5.3.2. BOLD

Os valores de intensidade de sinal BOLD registados no sujeito C para os músculos em estudo antes de depois do exercício são verificados na figura abaixo (Figura 5.9).

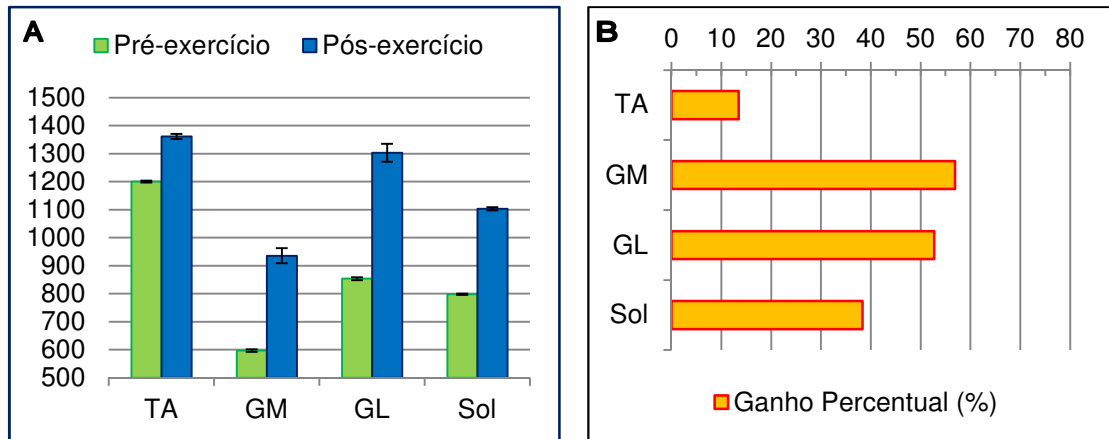


Figura 5.9: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito C. Intensidade do sinal BOLD pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

Na figura anterior verifica-se que todos os músculos do sujeito C apresentam um aumento no valor e intensidade do sinal BOLD. O TA apresenta o maior valor de sinal BOLD tanto na fase pré como pós-exercício, tendo aumentando 13,5% entre estas mesmas fases. Este valor do BOLD para o TA é inclusivamente o maior verificado entre todos os músculos dos seis sujeitos para a fase pré-exercício. O menor sinal BOLD registado antes do protocolo de exercício corresponde ao músculo GM, seguido do SOL e do GL. Estes mantêm a sua posição relativa na fase pós-exercício, aumentando o respectivo valor de sinal BOLD em 56,9% (GM), 38,3% (SOL) e 52,9% (GL).

De novo, todas as variações registadas foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

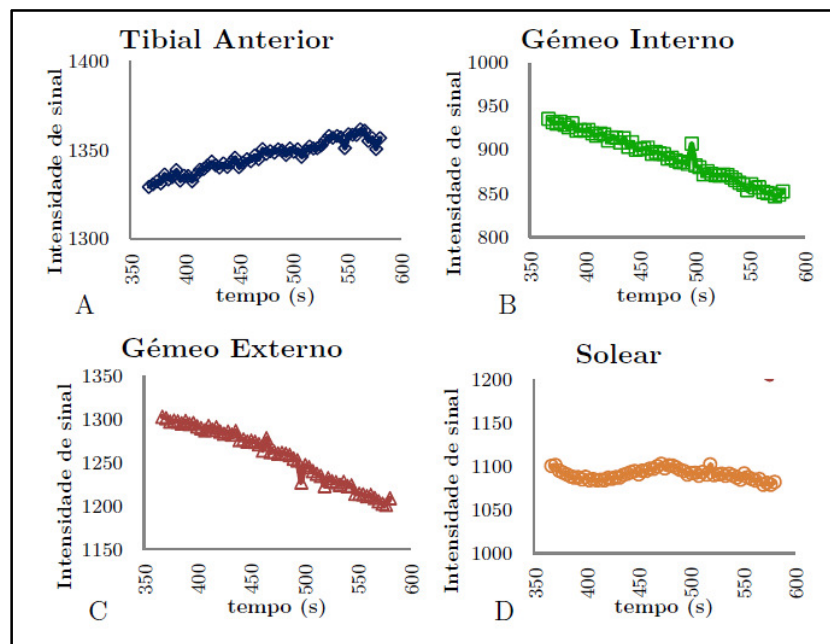


Figura 5.10: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito C.

A variação temporal do sinal BOLD, disposta no gráfico 5.10, não foi semelhante entre os quatro músculos em estudo. O GM e o GL apresentaram um comportamento consistente com aqueles demonstrados nos sujeitos anteriores, decrescendo de forma consistente (fora alguns *outliers*) ao longo do tempo. Em oposição, o sinal BOLD no TA vai crescendo ao longo do tempo, adivinhando-se um retorno para valores de base pré-exercício já só na parte final. O SOL é no entanto o músculo a apresentar um comportamento mais peculiar. A intensidade do sinal BOLD para este músculo começa por decrescer suavemente, voltando a crescer ligeiramente de seguida até atingir um novo pico máximo, após o qual inicia finalmente a decrescer de forma consistente.

5.3.3. Relaxometria T_2

Os dados relativos aos valores de T_2 registados antes e depois do exercício para o sujeito C encontram-se na figura abaixo (Figura 5.11), bem como a variação percentual (Figura 5.12).

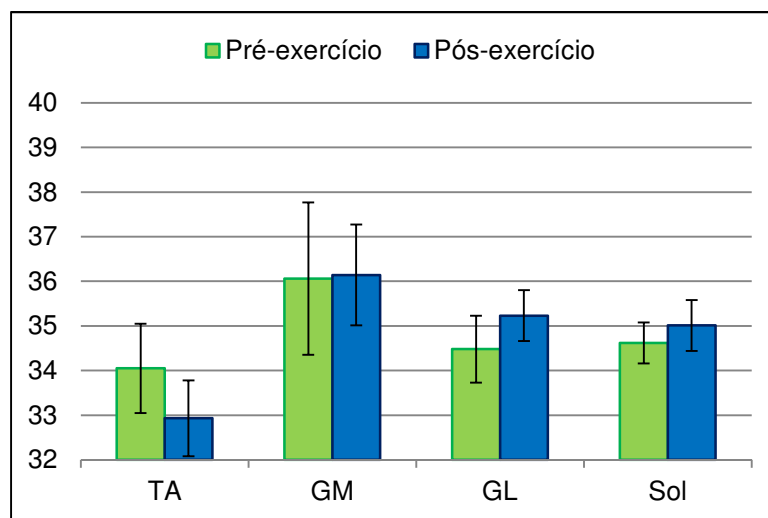


Figura 5.11: Valores de T_2 (ms) registados antes e depois do protocolo de exercício nos quatro músculos do sujeito C.

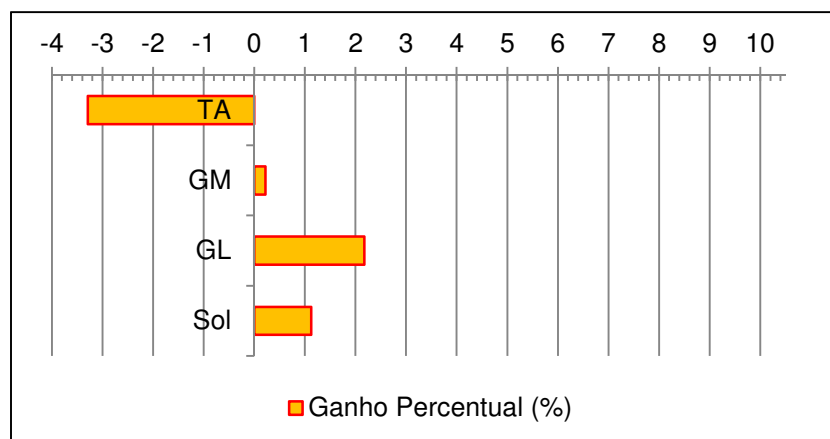


Figura 5.12: Variação dos valores de T₂ nos quatro músculos do sujeito C após exercício.

O T₂ do TA sofreu uma descida estatisticamente significativa ($p < 0,001$), diminuindo de um valor médio pré-exercício de $34,0 \pm 1,00$ ms para um valor pós-exercício de $32,9 \pm 0,85$ ms (variação de -3,3%). O GL apresentou um valor de T₂ pré-exercício de $34,5 \pm 0,75$ ms e pós-exercício de $35,2 \pm 0,57$ ms ($p < 0,001$). O SOL também viu o seu T₂ aumentar, passando de $34,6 \pm 0,46$ ms para $35,0 \pm 0,57$ ms ($p < 0,003$). Apesar do T₂ do GM das duas fases serem os valores mais elevados registados neste sujeito, o aumento existente entre eles não foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$), aumentando somente 0,2% de um valor de $36,0 \pm 1,71$ ms para $36,1 \pm 1,13$ ms.

5.3.4. Dados Arquitectónicos

Tabela 5.13: Valores obtidos pré e pós-exercício para o volume muscular e comprimento médio das fibras musculares relativas ao sujeito C.

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	124,9	121,3	-2,9	8,67	9,68	11,6
GM	232,4	232,7	0,1	6,33	6,43	1,6
GL	108,6	110,1	1,3	6,08	6,71	10,4
SOL	406,9	405,2	-0,4	5,65	6,70	18,6

Na tabela anterior (Tabela 5.13) podemos verificar o volume e o comprimento médio das fibras dos quatro músculos em estudo do sujeito C.

O volume muscular não se altera muito entre a fase pré e pós-exercício, decrescendo ligeiramente no TA e no SOL, e aumentando no GL e no GM. O SOL continua tal como observado nos sujeitos anteriores a ser o músculo com maior volume muscular, sendo este seguido pelo GM.

No que respeita o comprimento médio das fibras, as mais longas podem ser encontradas no TA (8,67 cm; 9,68 cm). O SOL é detentor das fibras mais curtas na fase pré-exercício, no entanto é neste músculo que verificamos a maior variação entre fases (18,6%).

Tabela 5.14: CSA máximo e PCSA obtidos nos músculos do sujeito C.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	9,4	8,9	-5,5	13,3	11,8	-11,7
GM	17,0	16,9	-0,3	34,2	34,2	0,0
GL	8,9	9,4	5,6	17,5	16,2	-7,6
SOL	25,7	25,8	0,6	65,5	56,3	14,0

Na tabela acima (Tabela 5.14), podemos observar que o CSA e PCSA mais elevados foram obtidos para o SOL. Estes valores subiram entre as duas fase em 0,6% (CSA) e 14,0% (PCSA). O CSA que sofreu um maior aumento no seu valor foi encontrado no GL, CSA este que passou de 8,9 cm² para 9.4 cm². O TA e o GM viram o seu respectivo CSA diminuir em -5,5% e -0,3%. No TA também se verificou a maior perda de PCSA, que passou de um valor de 13,1 cm² para um valor de 11,8 cm² (-11,69%).

Tabela 5.15: Ângulos de penação registados nos quatro diferentes músculos antes e depois do exercício e comprimento muscular respectivo (sujeito C).

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	22,1	19,9	-9,9	28,9
GM	21,3	19,0	-10,7	22,6
GL	11,0	9,1	-16,7	21,1
SOL	24,6	21,6	-12,6	31,6

Todos os ângulos de penação médios decrescem com a realização de exercício (Tabela 5.15). A diminuição mais marcante acontece no GL que passa de um valor de 11,0º para um de 9,1º (correspondente a um decréscimo de -16,7%). O músculo que apresenta um maior ângulo de penação nas duas fases é o SOL, que passa de um valor médio pré-exercício de 24,6º para um outro pós-esforço de 21,5º (variação de -12,6%).

No que se refere ao comprimento muscular (Tabela 5.15), o músculo de maior comprimento é o SOL (31,6 cm), seguido do TA (28,9 cm), GM (22,6 cm) e GL (21,1 cm).

5.4. Sujeito D

5.4.1. DTI

Encontram-se neste subcapítulo, os dados relativos ao DTI para os vários músculos da perna em estudo do sujeito D (Tabelas 5.16 e 5.17).

Tabela 5.16: FA e ADC quatro músculos em estudo pré e pós-exercício, com respectivo ganho percentual na terceira coluna de cada variável (sujeito D).

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,281	0,305	8,5	0,00178	0,00181	1,8
GM	0,283	0,324	14,4	0,00178	0,00206	15,9
GL	0,300	0,309	2,9	0,00167	0,00219	31,1
SOL	0,300	0,309	2,9	0,00167	0,00208	24,4

O músculo com FA mais elevado na fase pré-exercício – o SOL – passou de um valor de 0,300 para um de 0,309 (variação de 2,9%). Os outros músculos também registaram um aumento no valor de FA, sendo este percentualmente de 14,4% (GM), 8,5% (TA) e 2,9% (SOL).

Quanto ao ADC, a maior variação (31,1%) foi registada no GL, subindo de $1,67 \times 10^{-3}$ mm²/s para $2,19 \times 10^{-3}$ mm²/s. A segunda maior variação ocorreu no SOL (24,4%) em que o valor de ADC passou de $1,67 \times 10^{-3}$ mm²/s para um valor pós-exercício de $2,19 \times 10^{-3}$ mm²/s. O ADC do GM registou uma variação de 15,9% (passando de $1,78 \times 10^{-3}$ mm²/s para $2,06 \times 10^{-3}$ mm²/s) e a menor subida foi observada no TA (1,8%) que acabou com o valor de ADC pós-exercício mais baixo ($1,81 \times 10^{-3}$ mm²/s).

Tabela 5.17: Os três *eigenvalues* pré e pós-exercício, no caso do sujeito D.

	λ_1 (mm ² /s)		λ_2 (mm ² /s)		λ_3 (mm ² /s)	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00233	0,00242	0,00163	0,00165	0,00137	0,00136
GM	0,00231	0,00276	0,00169	0,00192	0,00133	0,00151
GL	0,00222	0,00292	0,00158	0,00121	0,00121	0,00165
SOL	0,00222	0,00277	0,00157	0,00195	0,00122	0,00151

O maior ganho percentual do λ_1 e do λ_3 foi observado no GL. No entanto, de forma paradoxal, este foi o único músculo que viu o seu valor de λ_2 decrescer com o exercício. O valor de λ_3

decrece também ligeiramente no caso do TA, comportamento semelhante ao observado no sujeito A. Para os restantes “pares” pré e pós-esforço, os valores dos respectivos *eigenvalues* aumentam com o exercício.

5.4.2. BOLD

Na figura abaixo (Figura 5.13) podem ser verificados os valores de intensidade do sinal BOLD nas fases pré e pós-exercício para os músculos TA, GM, GL e SOL do sujeito D, bem como as correspondentes variações percentuais.

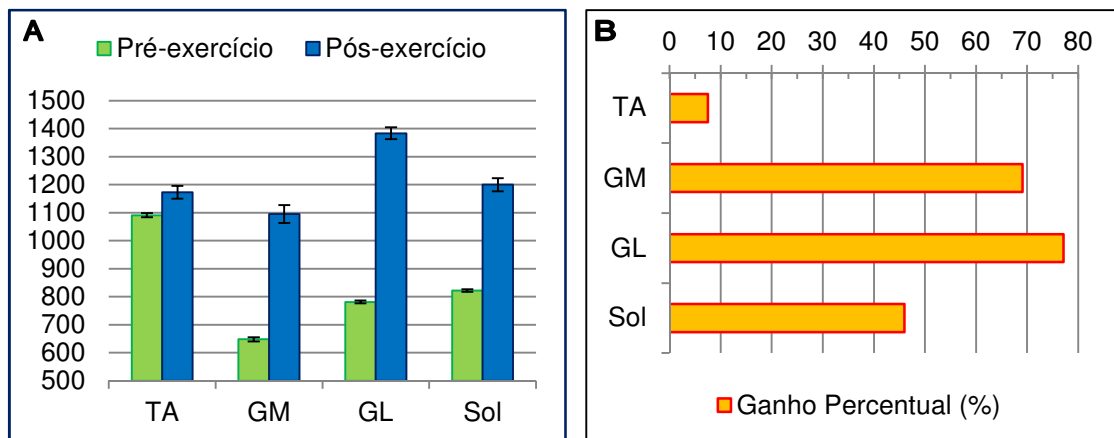


Figura 5.13: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito D. Intensidade do sinal BOLD pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

Na fase pré-exercício, o TA é o músculo que apresenta o sinal BOLD mais intenso, seguido do SOL, GL e GM. Com a execução do protocolo de exercício, o GL é o músculo que mostra um maior ganho percentual (77,1%), sendo o maior ganho registado entre todos os sujeitos estudados e passando a apresentar da mesma forma o maior sinal BOLD pós-exercício de entre todos os músculos. O TA demonstra o menor aumento percentual (7,5%), seguido do SOL (46,0%) e do GM (69,1%).

Todas as alterações referenciadas são estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

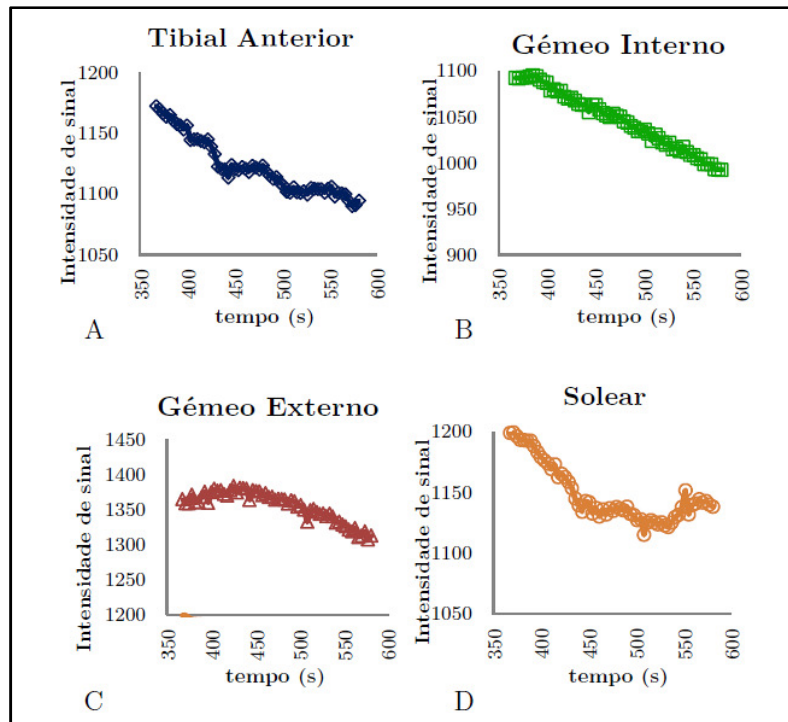


Figura 5.14: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito D.

Quanto ao comportamento do sinal BOLD após o exercício (Figura 5.14), consegue-se de novo identificar o comportamento irregular presente no músculo SOL, cujo sinal BOLD decresce de forma rápida, estabilizando progressivamente e depois aumentando na parte final. O GL decresce de forma consistente tal como em sujeitos anteriores, comportamento que também agora é apresentado pelo TA em que não se consegue verificar um período ascendente inicial marcante. O comportamento “habitual” do TA é agora apresentado pelo GL em que verificamos que a intensidade do sinal BOLD se encontra inicialmente em crescimento, começando depois um decréscimo consistente ao longo do tempo.

5.4.3. Relaxometria T_2

Os valores relativos aos T_2 médios registados pré e pós-exercício dos quatro músculos do sujeito D encontram-se nas figuras abaixo (Figura 5.15 e 5.16).

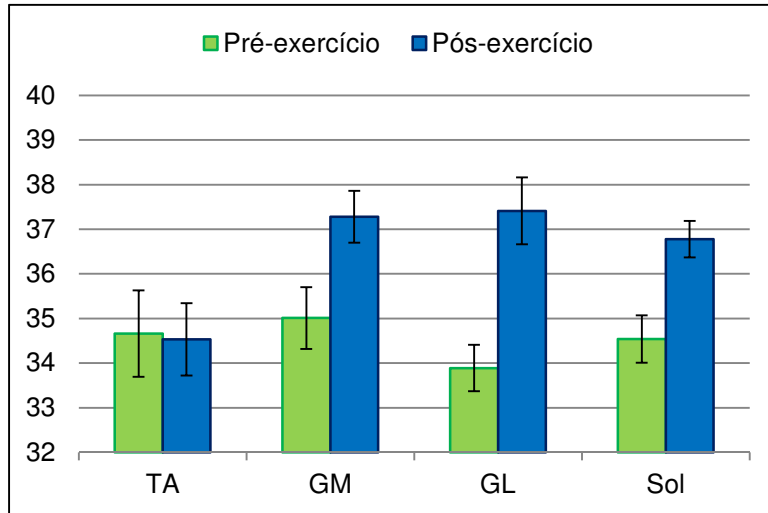


Figura 5.15: T₂ (ms) registado nos quatro músculos do sujeito D antes e após realização de exercício.

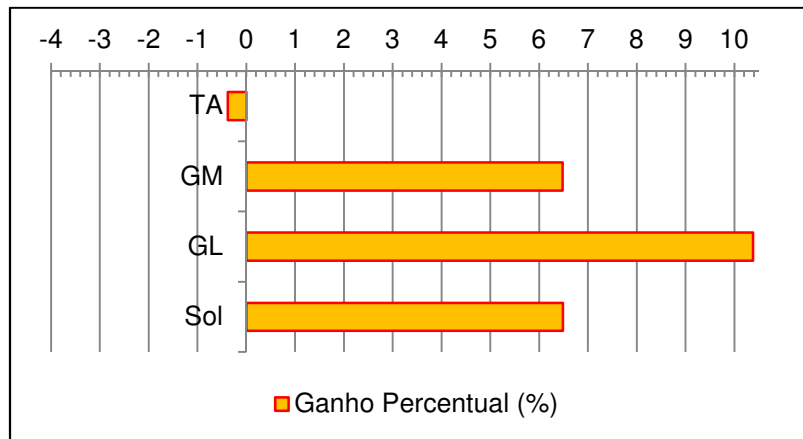


Figura 5.16: Variação percentual ocorrida nos valores de T₂ nos quatro músculos do sujeito D após realização do protocolo de exercício.

O T₂ do GL foi o que sofreu um maior ganho percentual (10,4%), passando do valor mais baixo pré-exercício de 33,9 ± 0,52 ms para o valor pós-exercício mais elevado de 37,4 ± 0,75 ms ($p < 0,001$). O T₂ do GM também aumentou significativamente ($p < 0,001$), aumentando de 35,0 ± 0,69 ms para 37,3 ± 0,58 ms (variação de 6,5%). O SOL viu o seu valor de T₂ passar de 34,5 ± 0,53 ms para 36,8 ± 0,41 ms ($p < 0,001$). Observa-se também um decréscimo não-significativo ($p > 0,05$) no valor de T₂ do TA após o exercício, que diminuiu de 34,7 ± 0,97 ms para 34,5 ± 0,81 ms (variação de -0,4%).

5.4.4. Dados Arquitectónicos

Os dados arquitectónicos relativos ao sujeito D encontram-se dispostos nas tabelas abaixo (Tabela 5.18, 5.19 e 5.20).

Tabela 5.18: O volume muscular e o comprimento das fibras dos quatro músculos em estudo, no caso do sujeito D.

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	87,8	85,7	-2,3	9,08	9,01	-0,8
GM	134,8	135,4	0,4	6,66	7,07	6,2
GL	66,8	69,0	3,3	7,14	7,96	11,5
SOL	285,9	277,1	-3,0	4,35	5,08	16,8

O volume muscular mais elevado foi registado no SOL (285,9 cm³ pré-exercício e 277,1 cm³ pós-exercício). Este sofreu um decréscimo no seu volume pós-esforço de -3,0%. Decréscimo semelhante foi também verificado no TA (-2,3%) cujo volume passou de 87,8 cm³ para 85,7 cm³. O maior aumento de volume muscular foi registado no GL que passou de um valor de 66,8 cm³ para um valor de 69,0 cm³ (ganho percentual de 3,5%).

No que respeita o comprimento médio das fibras, este diminuiu no caso do TA (-0,8%), enquanto que aumentou para os GM, GL e TA (6,2%; 11,5%; 16,8%). Este último, apresentou o maior comprimento de fibras médio pré e pós-exercício, passando de um valor de 9,08 cm para um de 9,01 cm.

Tabela 5.19: O CSA e o PCSA antes e depois do esforço intenso, dos músculos do sujeito n^o4.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	6,8	6,6	-2,0	8,9	9,2	2,3
GM	9,9	10,0	0,5	19,3	17,9	-7,3
GL	6,6	6,6	-0,6	9,3	8,7	-7,37
SOL	20,2	19,5	-3,8	58,7	52,3	-10,9

O CSA máximo decresceu em todos os músculos após execução do exercício, exceptuando no caso do GM (variação de 0,5%). O valor de CSA variou -2,0% para o TA e -0,6% para o TA, decrescendo respectivamente de 6,8 cm² para 6,6 cm² e de 6,6 cm² para 6,6 cm². O SOL,

músculo que de novo apresentou maior CSA, passou de um valor de 20,2 cm² para 19,5 cm², o que equivaleu a uma variação de -3,8%.

No que respeita o PCSA, só se evidenciou um aumento deste valor no TA (2,3%), passando de 8,9 cm² para um valor pós-exercício de 9,2 cm². Em todos os outros foram registados decréscimos acentuados. A variação foi de -7,3% para o PCSA do GM e GL. O PCSA do SOL sofreu a maior perda percentual, diminuindo para um valor de 52,3 cm² a partir de um valor original de 58,7 cm².

Tabela 5.20: Ângulo de Penação e comprimento dos vários músculos para o sujeito D.

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	22,2	15,8	-28,9	26,1
GM	17,9	21,1	18,0	22,2
GL	12,1	13,8	13,6	19,5
SOL	26,7	16,4	-38,5	30,0

O ângulo de penação médio decresce no caso do TA e SOL (-28,6% e -38,5%), enquanto que no caso dos GM e GL este aumenta (18,0% e 13,6%). O músculo que apresenta um maior comprimento é o SOL com 30,0 cm, seguido do TA (26,1 cm), GM (22,2%) e do GL (19,5%).

5.5. Sujeito E

5.5.1. DTI

O comportamento dos parâmetros DTI nos músculos do sujeito E entre as fases de “repouso” e pós-exercício encontra-se representado nas tabelas abaixo (Tabela 5.21 e 5.22).

Tabela 5.21: Valores de FA e ADC medidos pré e pós-exercício nos quatro músculos da perna dominante em estudo do sujeito E.

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,275	0,294	6,7	0,00151	0,00174	15,8
GM	0,293	0,267	-8,8	0,00192	0,00210	9,5
GL	0,256	0,268	4,8	0,00157	0,00227	45,1
SOL	0,269	0,281	4,4	0,00167	0,00226	35,1

O valor do FA aumenta com o esforço em todos os músculos excepto no GM onde diminui de 0,293 para 0,267 (variação de -8,8%). O TA é o músculo em que a variação positiva é maior (6,7%), seguido GL (4,8%) e SOL (4,4%).

O ADC aumenta em todos os músculos deste sujeito. Este aumento é mais marcante no GL em que o ADC passa de um valor de $1,57 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para um de $2,27 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ (aumento de 45,1%). Este efeito é sentido em menor escala no GM, sendo que neste o ganho percentual é somente de 9,5%.

Tabela 5.22: Os três *eigenvalues* registados antes e depois do esforço no sujeito E.

	$\lambda_1 \text{ (mm}^2/\text{s)}$		$\lambda_2 \text{ (mm}^2/\text{s)}$		$\lambda_3 \text{ (mm}^2/\text{s)}$	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00197	0,00231	0,00139	0,00162	0,00116	0,00131
GM	0,00256	0,00267	0,00177	0,00202	0,00144	0,00162
GL	0,00199	0,00289	0,00149	0,00216	0,00121	0,00175
SOL	0,00218	0,00289	0,00157	0,00217	0,00127	0,00172

Todos os valores dos três *eigenvalues* aumentam entre as duas aquisições. O GL é novamente o músculo em que este crescimento é mais pronunciado. Segue-se o SOL, o TA e por último o GM.

5.5.2. BOLD

O sinal BOLD medido nas fase pré e pós-esforço do sujeito E são exibidos na figura 5.17.

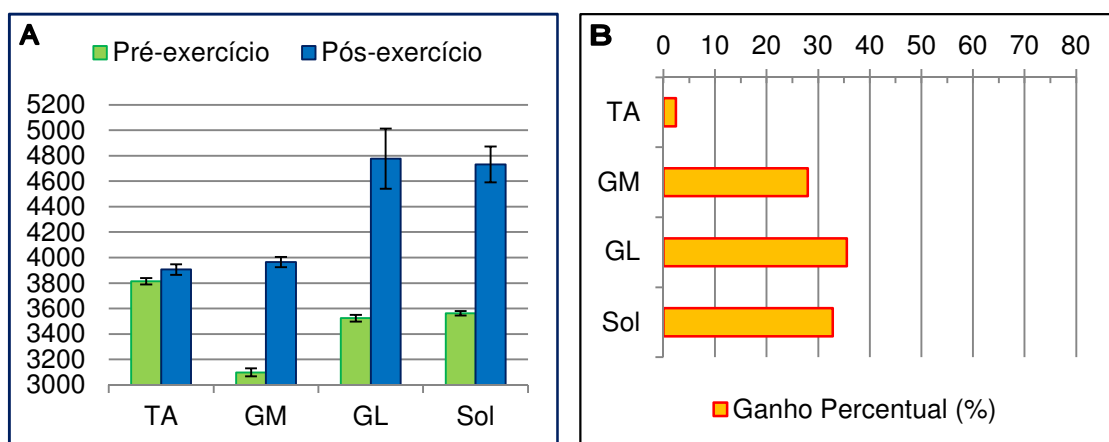


Figura 5.17: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito E. Intensidade do sinal BOLD pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

Os valores de sinal BOLD registados para os vários músculos em estudo do sujeito E apresentam-se como sendo cerca de 3 a 4 vezes superiores aos valores equivalentes registados nos cinco outros sujeitos. Estes são analisados aqui neste subcapítulo, no entanto devido a ao facto de apresentarem uma disparidade a nível de intensidade de sinal BOLD tão elevada, serão eliminados da avaliação geral dos resultados e considerados erróneos e consequentes de procedimento de aquisição inadequada e/ou processamento anormal.

O TA apresenta o maior valor de BOLD antes do exercício, aumentado em 2,4% com a execução deste último. O músculo que apresenta o segundo maior sinal BOLD – o SOL – mantém a sua segunda posição após o exercício, aumentando 32,8% de sua intensidade. O GL sofre o maior ganho percentual (35,6%), sendo o músculo com maior intensidade do sinal BOLD na fase pós-esforço. O sinal BOLD do GM aumenta 28,0% entre as duas fases.

As alterações medidas para todos os músculos avaliados neste sujeito entre as duas fases são estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

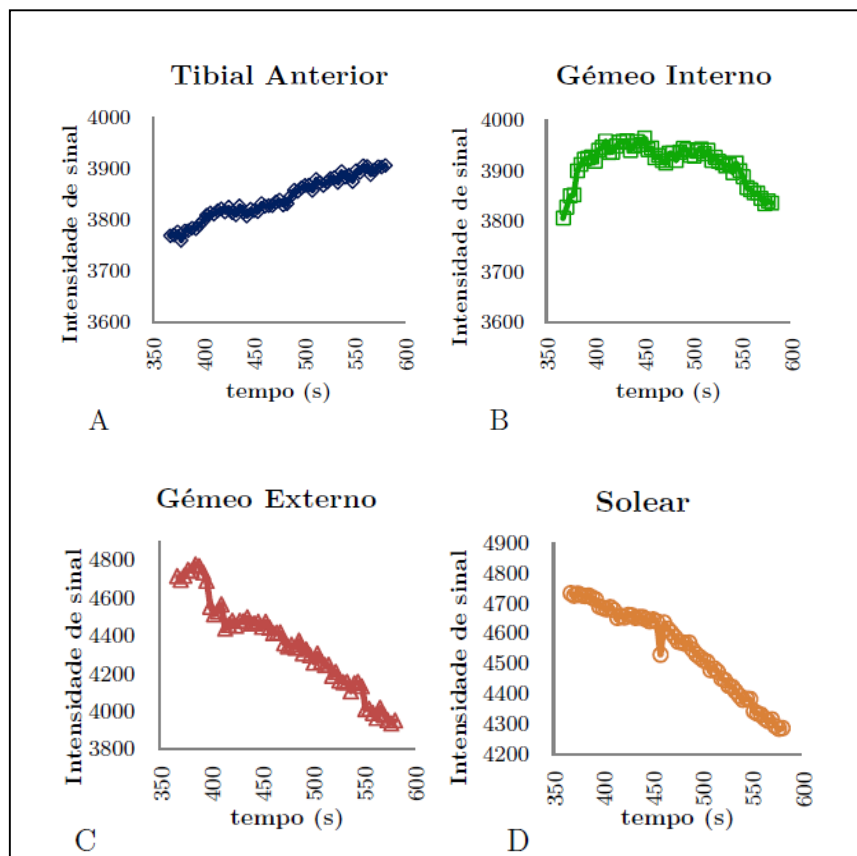


Figura 5.18: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito E.

Os músculos GL e SOL apresentam uma intensidade do sinal BOLD que vai decrescendo ao longo do tempo, apesar do GM evidenciar um pequeno período crescente inicial. O sinal BOLD presente no GM começa por ser crescente de forma acentuada atingindo um “*plafond*” máximo,

estabilizando um pouco, até iniciar de seguida uma descida progressiva. O sinal BOLD no TA vai aumentado desde os primeiros valores registados, não se conseguindo observar uma fase decrescente.

5.5.3. Relaxometria T_2

Nas figuras 5.19 e 5.20 são apresentados os valores médios do T_2 registados antes e depois da realização do protocolo de exercício, bem como os respectivos ganhos percentuais.

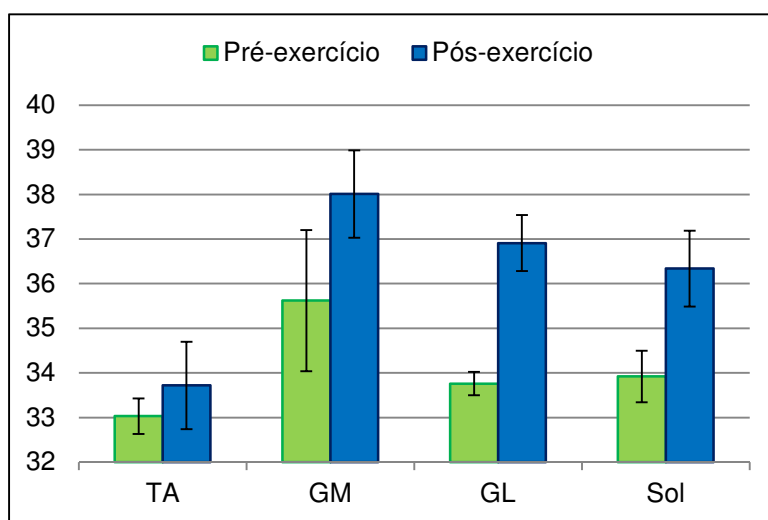


Figura 5.19: T_2 (ms) medido nos quatro músculos do sujeito E antes e após realização de exercício.

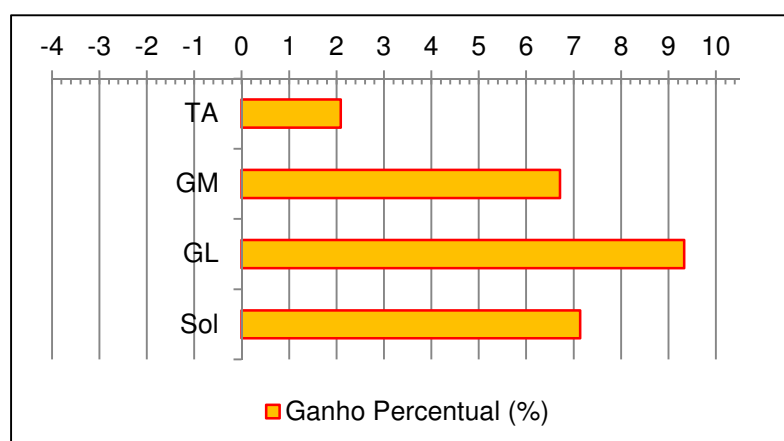


Figura 5.20: Variação dos valores T_2 dos quatro músculos do sujeito E após esforço.

Todos os valores de T_2 registaram uma variação estatisticamente significativa entre as fases pré e pós-exercício. O T_2 do GL foi aquele que apresentou um maior ganho percentual (9,3%),

aumentando de um valor de $33,8 \pm 0,26$ ms para $36,9 \pm 0,33$ ms ($p < 0,016$). O T_2 do TA foi aquele que menos variou com o exercício (2,1%), tendo subido de um valor de $33,0 \pm 0,40$ ms para $33,7 \pm 0,48$ ms ($p < 0,001$). No SOL registou-se uma subida no valor de T_2 de $33,9 \pm 0,58$ ms para $36,3 \pm 0,76$ ms ($p < 0,001$), correspondente a um ganho percentual de 7,1%. O T_2 do GM subiu 6,7%, passando de um valor médio pré-exercício de $35,6 \pm 1,58$ ms para um valor pós-exercício de $38,0 \pm 1,27$ ms ($p < 0,001$).

5.5.4. Dados Arquitectónicos

Tabela 5.23: Volume muscular e comprimento das fibras obtido nos quatro músculos do sujeito E, bem como os respectivos ganhos percentuais.

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	90,1	90,5	0,4	9,07	9,60	5,8
GM	138,5	155,3	12,2	6,30	6,95	10,3
GL	56,1	62,9	12,1	4,38	6,45	47,3
SOL	318,4	333,6	4,8	5,40	5,57	3,1

O volume muscular mais elevado foi registado no SOL (318,4 cm³ pré-exercício e 333,6 cm³ pós-exercício). Este sofreu um aumento no seu volume pós-esforço de 4,8%. No TA, o volume registou o menor ganho percentual, passando de 90,1 cm³ para 90,5 cm³ (0,4%). O maior aumento percentual de volume muscular foi registado no GM que passou de um valor de 138,5 cm³ para um valor de 155,3 cm³ (ganho percentual de 12,2%).

No que respeita ao comprimento médio das fibras, este aumentou com o exercício em todos os músculos analisados. Este aumento percentual foi de 47,3% para o GL, 10,3% para o GM, 5,8% para o TA e de 3,1% no caso o SOL..

Tabela 5.24: Valores de CSA máximo e PCSA calculados antes e depois do exercício para o sujeito E.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	6,5	6,5	0,6	9,6	9,2	-4,8
GM	9,5	10,1	5,8	21,1	21,2	0,6
GL	5,6	5,3	-5,7	12,7	9,5	-25,0
SOL	22,5	23,3	3,2	53,0	56,9	7,4

O CSA e o PCSA aumentaram com a execução do protocolo de exercício em todos os músculos do sujeito E exceptuando o TA (no caso do PCSA) e o GL. Este último apresentou

uma redução do valor de CSA de -5,7% e do PCSA de -25,0%. O SOL é em acordo com os valores de volume muscular, o músculo que possui o maior CSA (22,5; 23,3) e PCSA (53,0; 56,9) em ambas as fases, apresentando também o ganho percentual mais relevante no que respeita o PCSA (7,4%). Quanto ao CSA, esse maior ganho percentual (5,8%) ocorre no GM que passa de um valor de 9,5 cm² para 10,1 cm².

Tabela 5.25: Ângulos de Penação e comprimento muscular dos músculos do sujeito E.

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	14,5	13,7	-5,7	27,3
GM	16,2	18,2	12,2	25,3
GL	8,7	13,1	50,9	18,3
SOL	26,1	18,2	-30,3	30,0

O ângulo de penação médio diminuiu 30,3% no SOL quando o exercício foi executado. No TA também se verificou uma variação negativa (-5,7%), passando de um valor médio de 14,5^o para outro de 13,7^o. Por outro lado, no GL observou-se um aumento de 50,9%, de um valor de 8,7^o para um valor de 13,1^o. No GM, o aumento foi de 12,2%.

Quanto ao comprimento muscular, foi no SOL que se observou o maior comprimento – 30,0 cm. Depois deste, surge o TA (27,3 cm), o GM (25,3 cm) e o GL (18,3 cm).

5.6. Sujeito F

5.6.1. DTI

Os dados DTI referentes aos músculos do sujeito são apresentados nas tabelas abaixo (Tabela 5.26 e 5.27).

Tabela 5.26: Valores de FA e ADC registados para os músculos do sujeito F, antes e depois da realização do protocolo de exercício.

	FA			ADC (mm ² /s)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	0,281	0,278	-1,0	0,00164	0,00186	13,3
GM	0,259	0,254	-2,1	0,00152	0,00217	43,0
GL	0,281	0,324	15,3	0,00161	0,00213	32,0
SOL	0,269	0,272	1,3	0,00147	0,00220	49,1

Verificou-se que o maior ganho percentual no valor do FA foi observado no GL (15,3%) que aumentou de 0,281 para 0,324. O FA do SOL aumentou 1,3%, enquanto que no caso dos músculos TA e GM, o valor do FA decresceu -1,0% e -2,1% respectivamente.

O ADC aumentou em todos os músculos deste sujeito. O maior aumento foi registado no SOL (49,1%), seguido do GM (43,0%), do GL (32,0%) e do TA (13,3%).

Tabela 5.27: Os três *eigenvalues* pré e pós-exercício para o sujeito F.

	λ_1 (mm ² /s)		λ_2 (mm ² /s)		λ_3 (mm ² /s)	
	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício	Pré-exercício	Pós-exercício
TA	0,00215	0,00242	0,00150	0,00172	0,00126	0,00142
GM	0,00195	0,00278	0,00143	0,00203	0,00118	0,00171
GL	0,00209	0,00282	0,00153	0,00199	0,00122	0,00157
SOL	0,00191	0,00284	0,00139	0,00205	0,00113	0,00171

Neste sujeito, foi no SOL que se registou as maiores variações entre as fases pré e pós-exercício. Seguiram-se o GM, o GL e por fim o TA.

5.6.2. BOLD

Os valores de sinal BOLD pré-exercício e BOLD máximo pós-exercício para os músculos do sujeito F encontram-se identificados na figura abaixo (Figura 5.21)

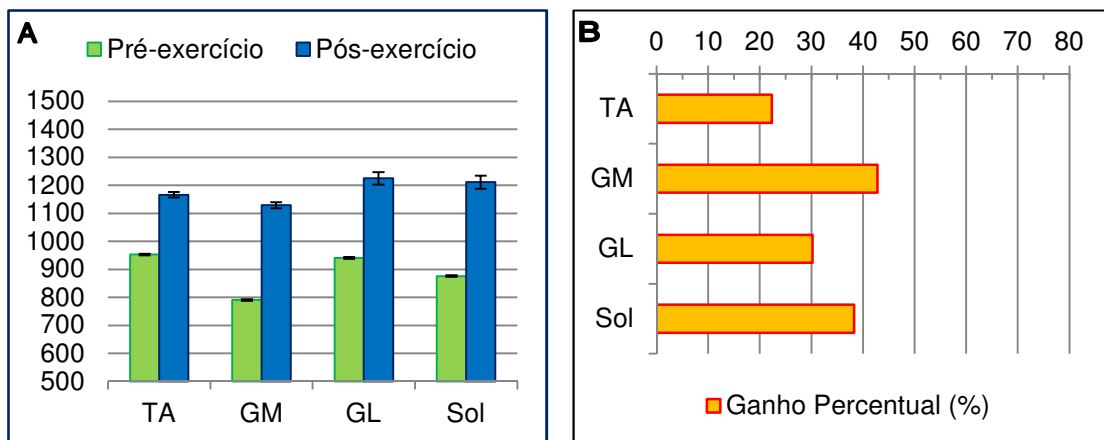


Figura 5.21: Variação do sinal BOLD nos quatro músculos para o sujeito F. Intensidade do sinal BOLD pré-exercício e valor máximo registado pós-exercício (A). Ganho percentual correspondente (B).

O músculo que apresenta uma intensidade do sinal BOLD maior na fase pré-exercício é o TA, seguido do GL, SOL e GM. Após a realização do protocolo de exercício, estas intensidades aumentam respectivamente em 22,3% (TA), 30,2% (GL), 38,3% (SOL) e 42,8% (GL). Assim, numa fase pós-exercício, o músculo que apresenta maior sinal BOLD é o GL, seguido do SOL, TA e GM.

Todas as variações verificadas para a intensidade do sinal BOLD entre as fases pré e pós-exercício nos quatro músculos foram extremamente significativas ($p < 0,001$)

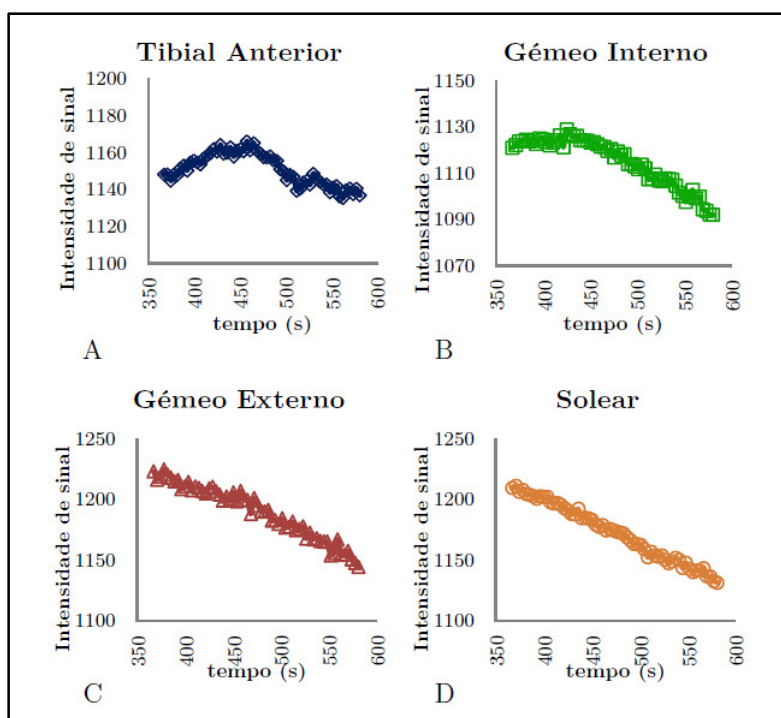


Figura 5.22: Variação temporal de intensidade de sinal BOLD pós-exercício para o sujeito F.

O comportamento do sinal BOLD após o protocolo de exercício (Figura 5.22) é consistente com o comportamento geral observado em sujeitos anteriores. O sinal BOLD do GL, o GM e o SOL apresenta um decréscimo constante para os valores de “repouso” da fase de pré-exercício, tendo o GM um ligeiro período de crescimento inicial. O sinal BOLD no TA começa por crescer até atingir um valor máximo, iniciando de seguida uma fase de descida progressiva.

5.6.3. Relaxometria T_2

Os dados relativos aos valores de T_2 registados antes e depois do exercício para o sujeito F encontram-se na figura abaixo (Figura 5.23), bem como a variação percentual (Figura 5.24).

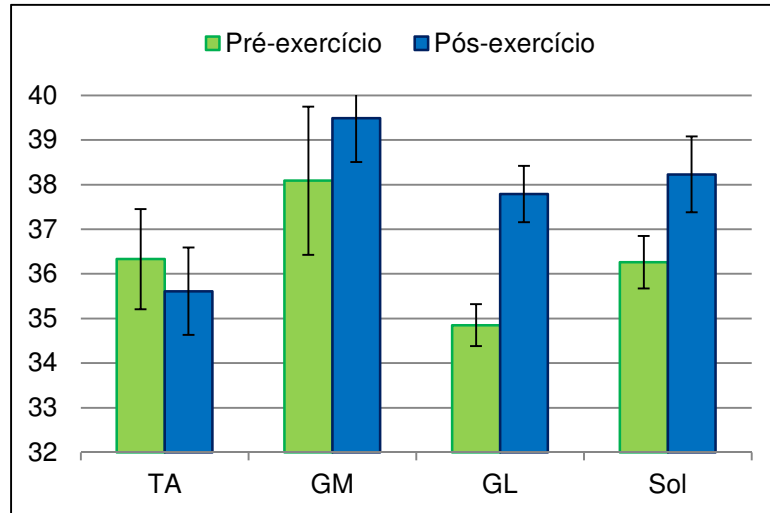


Figura 5.23: T₂ (ms) registado nos quatro músculos do sujeito F antes e após realização de exercício.

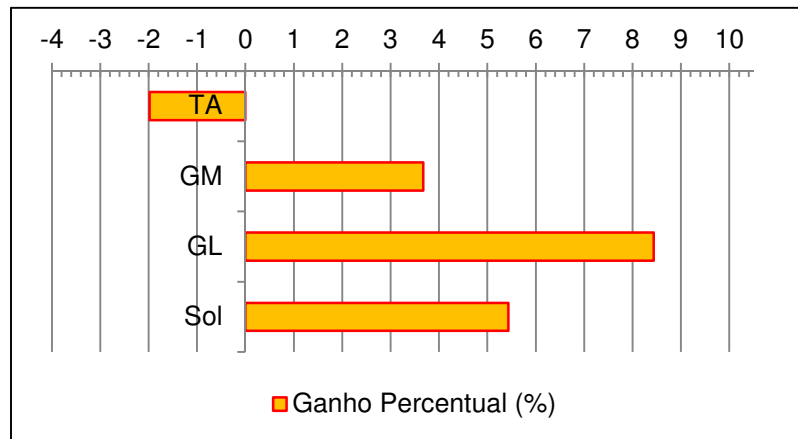


Figura 5.24: Variação sofrida pelo T₂ nos quatro músculos do sujeito F após exercício.

Pode-se verificar que o GM é aquele que apresenta um maior valor de T₂ pré e pós-exercício, sendo que o valor aumenta 3,7% entre as duas fases do exercício, subindo de um valor de $38,1 \pm 1,66$ ms para $39,5 \pm 0,98$ ms ($p < 0,001$). No entanto, o ganho percentual mais elevado é verificado no caso do GL (8,4%), em que o valor T₂ aumenta de $34,8 \pm 0,47$ ms para $37,8 \pm 0,63$ ms ($p < 0,016$). O T₂ do SOL aumenta de $36,3 \pm 0,59$ ms para $38,2 \pm 0,85$ ms ($p < 0,001$), o que equivale a um ganho percentual de 5,4%. O TA apresenta de novo um valor de T₂ que decresce com a execução do protocolo de exercício, diminuindo 1,9% de um valor médio de $36,3 \pm 1,12$ ms para um valor de $35,6 \pm 0,98$ ms ($p < 0,004$).

5.6.4. Dados Arquitectónicos

Seguem-se as tabelas com dados referentes aos aspectos arquitectónicos dos músculos da perna do sujeito F, antes e depois do exercício.

Tabela 5.28: Volume muscular e comprimento das fibras antes e depois do exercício para os músculos analisados do sujeito F.

	Volume Muscular (cm ³)			Comprimento das Fibras (cm)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	97,5	100,1	2,78	9,07	9,60	5,8
GM	151,1	151,9	0,5	6,30	6,95	10,3
GL	107,0	100,5	-6,1	4,38	6,45	47,3
SOL	334,6	348,3	4,1	5,40	5,57	3,1

Os músculos ganharam volume em todos os casos excepto no GL em que se registou uma perda de -6,1%. O SOL é novamente o músculo mais volumoso (334,6 cm³; 348,3 cm³). O músculo menos volumoso nas duas fases é o TA (97,5 cm³; 100,1 cm³).

As fibras aumentaram o seu comprimento em todos os músculos analisados. Este facto foi mais pronunciado no GL (47,3%) e menos pronunciado no SOL (3,1%). As fibras musculares mais compridas foram de novo observadas no TA (9,07 cm; 9,60 cm).

Tabela 5.29: Valores de CSA e PCSA calculados nos músculos do sujeito F.

	CSA (cm ²)			PCSA (cm ²)		
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	Pré-exercício	Pós-exercício	%
TA	7,5	7,7	2,1	9,3	9,2	-1,1
GM	12,2	12,6	3,7	23,3	19,9	-14,5
GL	9,2	9,8	6,0	19,9	12,6	-36,6
SOL	23,2	23,9	2,8	62,3	52,9	-15,0

Na tabela acima, podemos observar que o CSA e PCSA mais elevados foram obtidos para o SOL. Estes valores variaram entre as duas fase em 2,8% (CSA) e -15,0% (PCSA). O CSA que sofreu um maior aumento no seu valor foi encontrado no GL, CSA este que passou de 9,2 cm² para 9,8 cm². O TA e o GM viram o seu respectivo CSA aumentar em 2,1% e -3,9%. No GL verificou-se a maior perda de PCSA, que passou de um valor de 19,9 cm² para um valor de 12,6 cm² (-35,6%).

Tabela 5.30: Valores de Ângulos de Penação medidos no sujeito F antes e depois do exercício, e comprimento muscular dos quatro músculos em estudo.

	Ângulo de Penação			Comprimento Muscular (cm)
	Pré-exercício	Pós-exercício	%	
TA	18,8	20,3	8,2	24,6
GM	15,5	17,5	13,1	20,3
GL	10,6	15,2	42,7	19,5
SOL	25,6	24,0	-6,2	27,7

O SOL foi o único músculo em que o ângulo de penação médio decresceu com a execução de exercício, passando de um valor de 25,6º para um de 24,0º (variação de -6,2%). A maior variação deste ângulo médio foi registada no GL (42,7%) onde o valor médio passou de 10,6 cm para 15,2 cm.

O SOL foi determinado como sendo o mais comprido para este sujeito (27,7 cm), seguido do TA (24,6 cm), GM (20,3 cm) e GL (19,5 cm).

5.7. Análise Global

5.7.1. DTI

Os resultados obtidos para as diferentes variáveis associadas à técnica DTI para os quatro músculos em estudo dos vários sujeitos encontram-se apresentados nos gráficos abaixo (Figura 5.25 – 5.29).

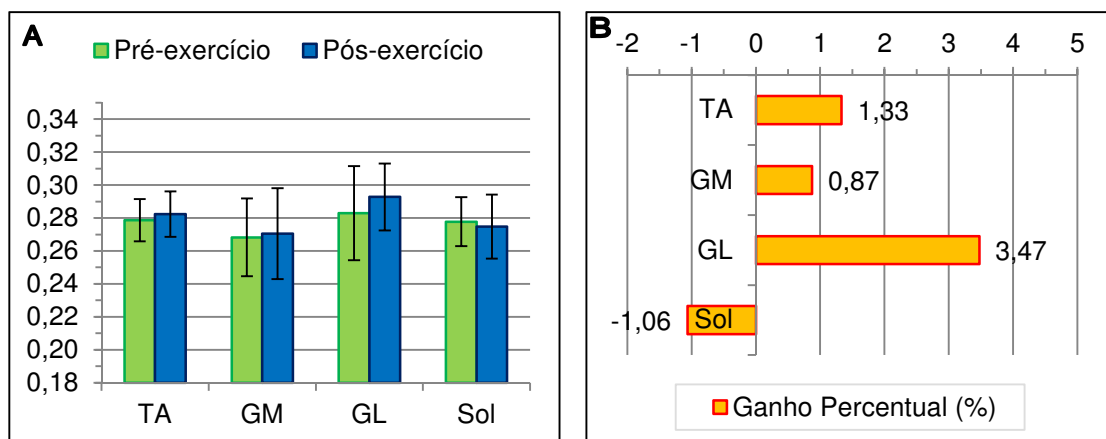


Figura 5.25: Valores de FA médio pré e pós-exercício (A) e respectivos ganhos percentuais (B).

No que respeita o FA, não se registaram alterações estatisticamente significativas ($p > 0,05$). O músculo com FA mais elevado na fase pré-exercício – o GL – passou de um valor médio de $0,283 \pm 0,0285$ para um de $0,293 \pm 0,0203$, o que correspondeu a uma variação de 3,5%. Isto equivale a dizer que o meio existente neste músculo se tornou desta forma mais anisotrópico, isto é, a direcção preferencial de difusão das moléculas de água intensificou-se. Os outros músculos em que também podemos verificar este comportamento são o TA e o GM, que respectivamente passaram de valores médios de $0,279 \pm 0,0129$ para $0,282 \pm 0,0138$ (variação de 1,3%) e de $0,283 \pm 0,0285$ para $0,293 \pm 0,0203$ (variação de 0,9%). No SOL, o FA decresceu 1,1%, de um valor médio de $0,278 \pm 0,0149$ para um valor pós-exercício de $0,275 \pm 0,0195$.

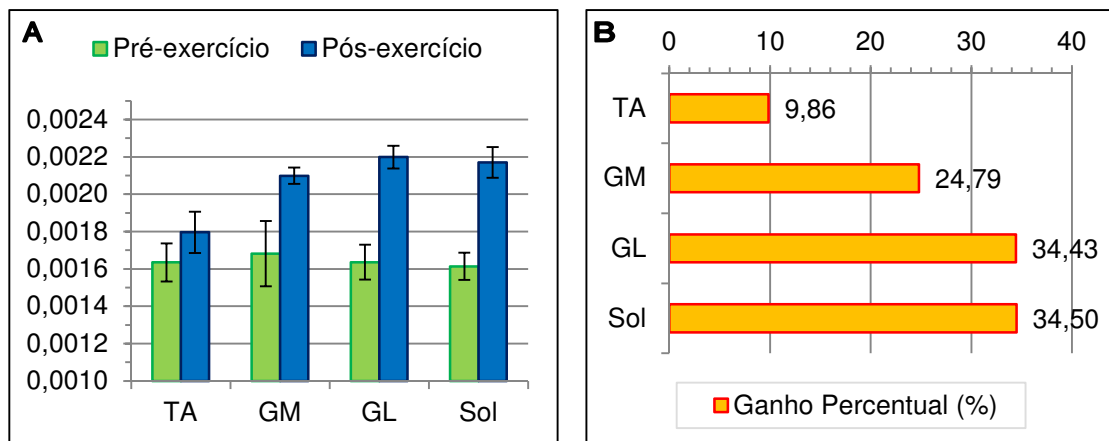


Figura 5.26: ADC (mm^2/s) médio calculado para os diferentes músculos em estudo antes e depois do exercício (A) e variação percentual correspondente (B).

Os valores de ADC médio aumentaram em todos os músculos analisados. O músculo que apresentou maior aumento deste valor foi o SOL (ganho percentual de 34,5%), passando de $1,61 \times 10^{-3} \pm 0,073 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para $2,17 \times 10^{-3} \pm 0,083 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. Com um aumento semelhante (34,4%), o valor de ADC médio do GL subiu de $1,64 \times 10^{-3} \pm 0,093 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para um valor pós-esforço de $2,20 \times 10^{-3} \pm 0,060 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. O GM, que possuía o ADC médio pré-exercício mais elevado, só aumentou este valor em 24,8%, crescendo do valor de $1,68 \times 10^{-3} \pm 0,017 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para $2,10 \times 10^{-3} \pm 0,044 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. O ADC médio do TA foi aquele que menos variou (9,9%), aumentando com a execução do exercício de $1,63 \times 10^{-3} \pm 0,010 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ para $1,79 \times 10^{-3} \pm 0,011 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$.

Assim, verificou-se que o ADC dos músculos SOL e GL variou de forma extremamente significativa entre as fases de pré e pós-exercício ($p < 0,01$) e de forma significativa no caso do GM ($p < 0,05$). O ADC no TA não registou alterações significativas ($p > 0,05$).

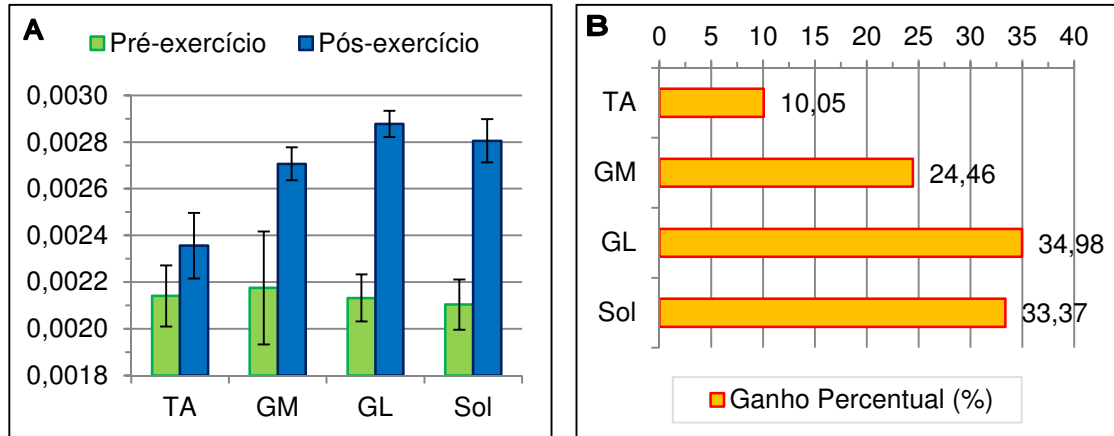


Figura 5.27: λ_1 (mm²/s) médio antes e depois do exercício (A) e ganho percentual correspondente (B).

Entre as fases de pré e pós-exercício registaram-se variações extremamente significativas no λ_1 médio do SOL e GL ($p < 0,01$) e significativas no λ_1 médio do GM ($p < 0,05$). De novo, no TA não se encontraram diferenças significativas ($p > 0,05$).

Todos os valores médios de λ_1 aumentaram após a realização do protocolo de exercício. O músculo em que se observou um maior ganho percentual do valor de λ_1 foi no GL (34,98%), seguido do SOL (33,4%), do GM (24,5%) e finalmente no TA (10,0%).

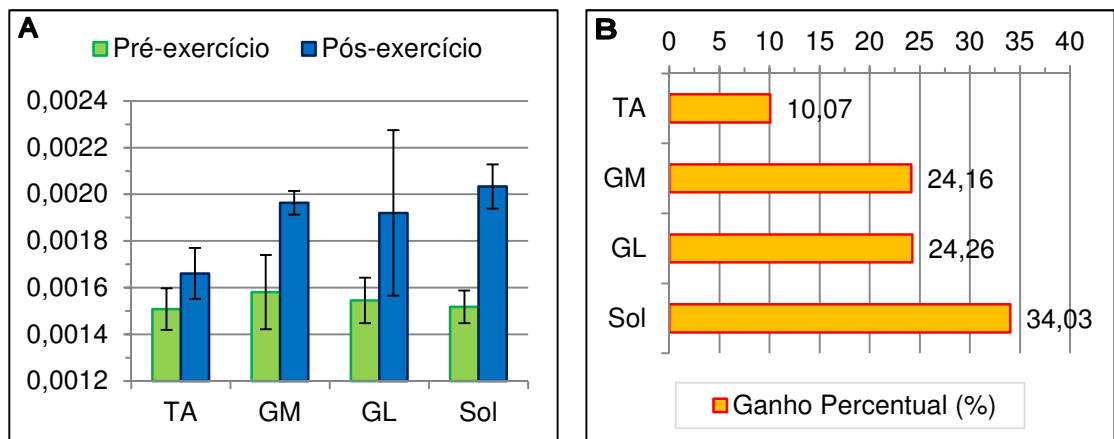


Figura 5.28: Valores de λ_2 (mm²/s) médio pré e pós-exercício (A) e respectivos ganhos percentuais (B).

No que respeita os valores médios de λ_2 , verificaram-se alterações extremamente significativas no músculo SOL ($p < 0,01$) e significativas no GM ($p < 0,05$), quando submetidos a exercício físico intenso. No GL e no TA, não se encontraram alterações significativas entre as duas fases para o valor de λ_2 ($p > 0,05$).

Os valores médios de λ_2 aumentaram em todos dos músculos em estudo. Este foi mais pronunciado no SOL (variação de 34,0%), seguida do GL (24,3%), do GM (24,2%) e por último pelo TA (10,1%).

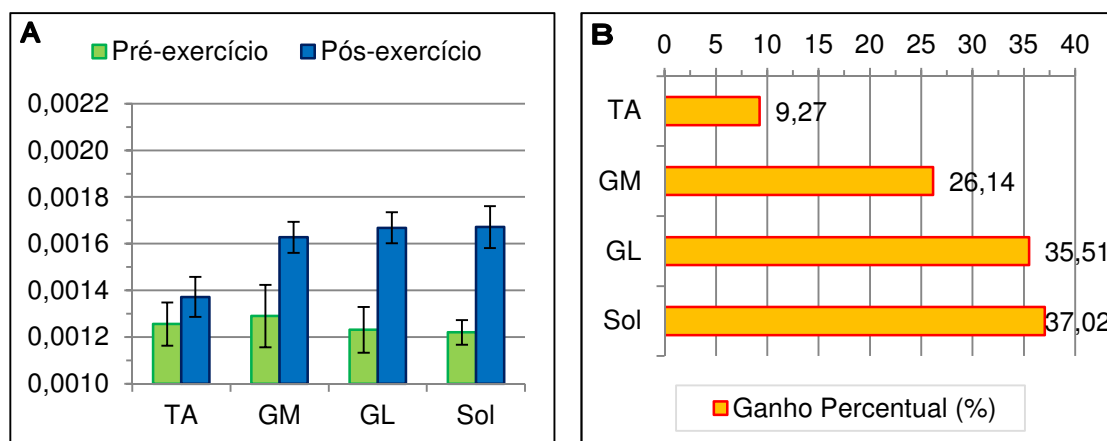


Figura 5.29: λ_3 (mm²/s) médio calculado para os quatro músculos estudados (A) e variação correspondente (B).

Após a execução do protocolo de exercício, verificaram-se alterações extremamente significativas nos valores de λ_3 do SOL e GL ($p < 0,01$) e significativas nos valores de λ_3 do GM ($p < 0,05$). Mais uma vez, no TA, não se encontraram diferenças estatisticamente significativas nos valores de λ_3 pré e pós-esforço ($p > 0,05$).

Voltou-se a observar aqui que o SOL foi aquele apresentou maior ganho percentual no valor médio do λ_3 , ganhando um crescimento de 37,0%. De seguida, a maior variação foi observada no GL (35,5%), no GM (26,1%) e no TA (9,3%).

5.7.2. BOLD

Os valores médios da intensidade do sinal BOLD de todos os músculos dos sujeitos em estudo foi calculado e encontram-se na figura abaixo, bem como o respectivo ganho percentual (Figura 5.30).

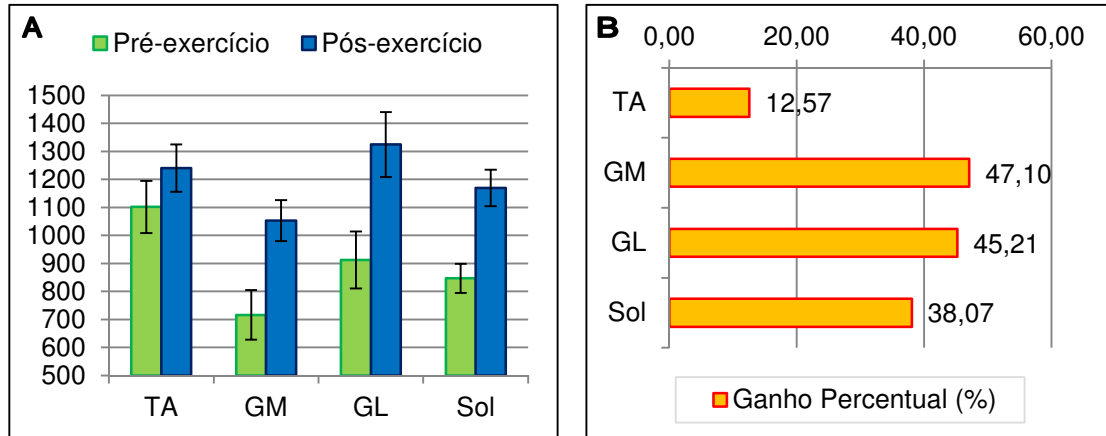


Figura 5.30: Valores de intensidade média do sinal BOLD antes e depois da execução do protocolo de exercício (A) e relativo ganho percentual (B).

De uma forma geral, o sinal BOLD aumentou em todos os músculos após a execução do protocolo de exercício. O músculo que apresentou sinal BOLD médio mais intenso antes do esforço foi o TA, seguido do GL, SOL e finalmente o GM. Este último foi aquele que sofreu uma variação maior com o exercício (47,1%), no entanto, continuou a ser o músculo detentor do menor sinal BOLD pós-exercício. Nesta segunda fase, a maior intensidade do sinal BOLD foi encontrada no GL (ganho percentual de 45,2%), seguido do TA (variação de 12,6%) e do SOL (aumento de 38,1%). Reforça-se o facto de que os dados relativos ao BOLD do sujeito E foram excluídos desta análise global tal como explicado anteriormente no subcapítulo relativo a este mesmo sujeito.

As variações encontradas foram extremamente significativas para os músculos GM, GL e SOL ($p < 0,001$) e não-significativas para o TA ($p > 0,05$).

5.7.3. Relaxometria T₂

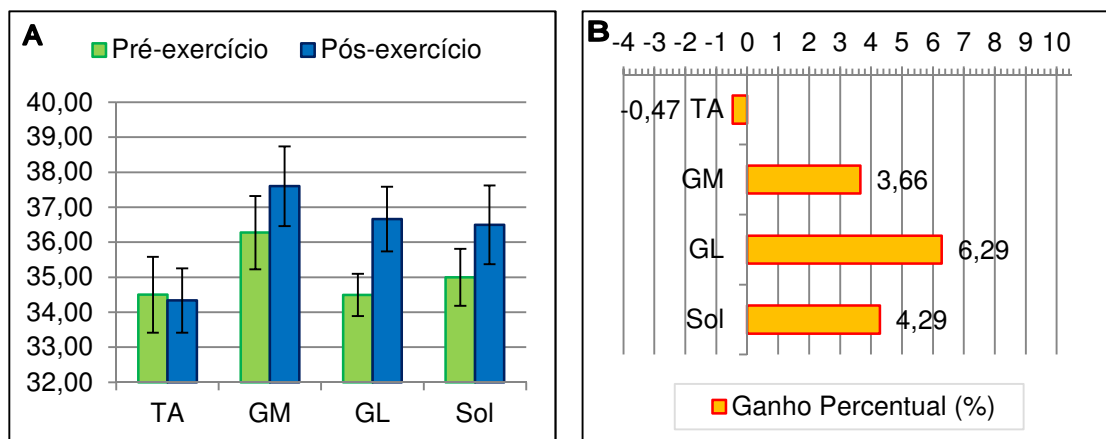


Figura 5.31: Valores de T₂ (ms) médio calculados para os diferentes músculos avaliados antes e depois do exercício (A) e correspondente variação percentual (B).

Na figura anterior (Figura 5.31) pode se verificado que o GM é aquele que apresenta um maior valor de T_2 pré e pós-exercício, sendo que o valor aumenta 3,7% entre as duas fases do exercício, subindo de um valor médio de $36,3 \pm 1,05$ ms para $37,6 \pm 1,14$ ms ($p < 0,008$). No entanto, o ganho percentual mais elevado é verificado no caso do GL (6,3%), em que o valor médio do T_2 aumenta de $34,5 \pm 0,60$ ms para $36,7 \pm 0,92$ ms ($p < 0,008$). O T_2 médio do SOL aumenta de $35,0 \pm 0,82$ ms para $36,5 \pm 1,13$ ms ($p < 0,008$), o que equivale a um ganho percentual de 5,4%. O TA apresenta um valor médio de T_2 que decresce com a execução do protocolo de exercício, diminuindo 0,5% de um valor médio de $34,5 \pm 1,08$ ms para um valor de $34,3 \pm 0,92$ ms ($p > 0,05$).

Desta forma, as diferenças encontradas são estaticamente significativas nos três músculos que constituem o *triceps surae*, não sendo significativas no caso do músculo TA.

5.7.4. Dados Arquitectónicos

Neste subcapítulo encontram-se os resultados relativos aos valores médios dos vários parâmetros arquitectónicos obtidos para os quatro músculos dos 6 sujeitos estudados.

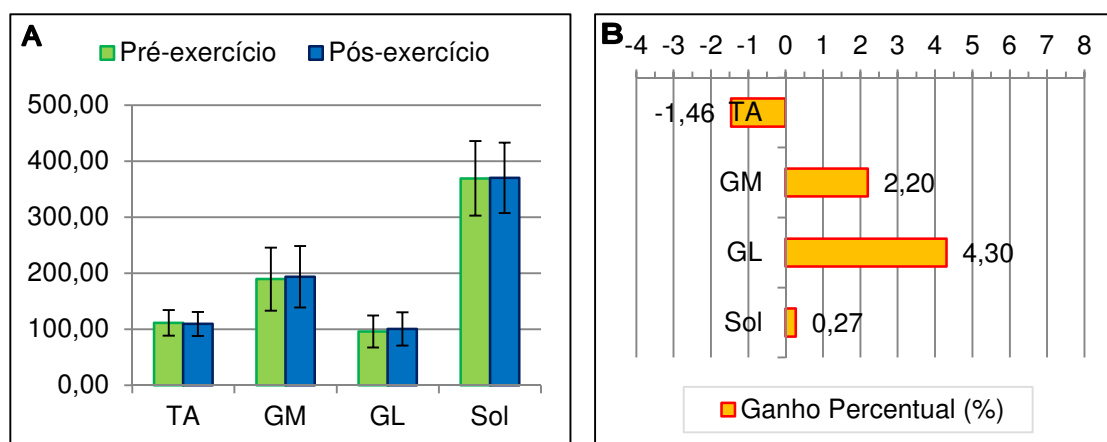


Figura 5.32: Volume muscular médio (cm^3) dos músculos pré e pós-exercício (A) e respectivo ganho percentual (B).

Começando pelo volume muscular (Figura 5.32), os músculos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) no que respeita a variação dos seus respectivos volumes entre as duas fases distintas do estudo. O músculo mais volumoso – o SOL – aumentou em média o seu volume de $369,2 \pm 22,86$ cm^3 para $370,2 \pm 62,99$ cm^3 (variação de 0,3%). O GM, segundo mais volumoso, passou de $189,4 \pm 56,34$ cm^3 para $193,6 \pm 56,34$ cm^3 (ganho percentual de 2,2%). O GL foi o músculo que viu o seu volume muscular médio aumentar de forma mais pronunciada (4,3%), apesar de somente aumentar de um valor de $96,1 \pm 28,55$ cm^3 para um de $100,2 \pm$

29,70 cm³. O TA foi o único músculo que em média perdeu volume muscular, diminuindo de 111,0 ± 22,86 cm³ para 109,4 ± 21,45 cm³, o que correspondeu a um variação negativa de 1,9%.

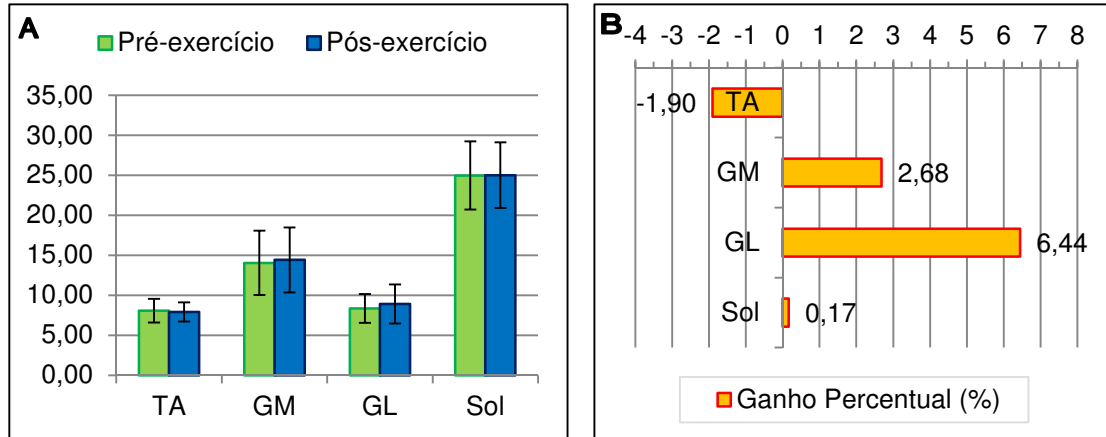


Figura 5.33: O CSA médio (cm²) dos quatro músculos (A) e ganho percentual respectivo (B).

Na figura anterior (Figura 5.33), encontram-se os valores médio de CSA máximo para os quatro músculos nas fases pré e pós-exercício. Somente o o GM apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre a fase pré-esforço e a fase consequente à realização do exercício. Este músculo apresentou um CSA máximo pré-esforço de 14,0 ± 4,02 cm² e um valor pós-exercício de 14,4 ± 4,1 cm² (variação de 2,7%). O músculo com maior CSA máximo passou de um CSA médio com 24,9 ± 4,26 cm² para um de 25,0 ± 4,09 cm² (ganho percentual de 0,2%). O maior ganho percentual (6,4%) foi sentido pelo GL que subiu de um CSA máximo médio de 8,4 ± 1,80 cm² par um de 8,9 ± 2,45 cm². O TA demonstrou de novo um “comportamento” negativo com a execução do exercício, sendo que o CSA decresceu de 8,0 ± 1,48 cm² para 7,9 ± 1,20 cm² (variação percentual -1,9%).

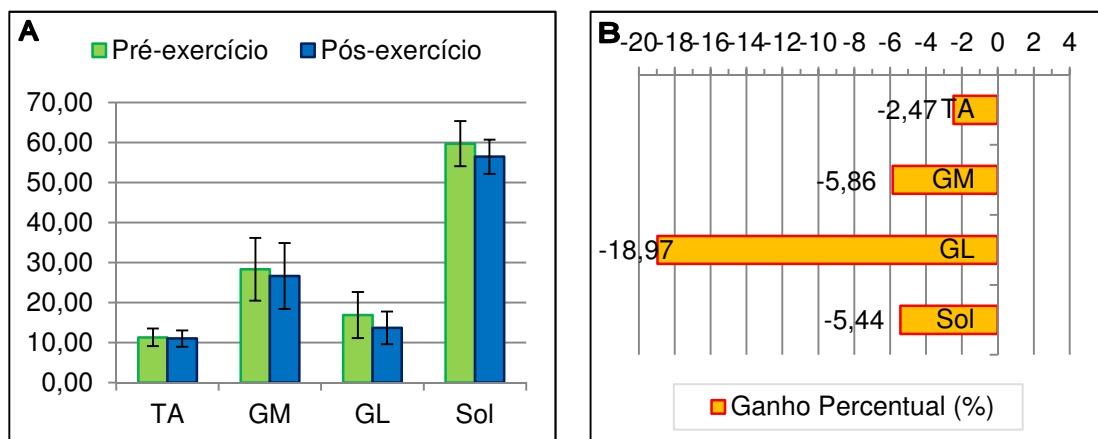


Figura 5.34: Valores de PCSA médio (cm) para os diferentes músculos nas duas aquisições distintas (A) e correspondente variação percentual (B).

Em cima, encontra-se uma figura com os valores médios de PCSA registados antes e depois do exercício, bem como a respectiva variação percentual (Figura 5.34). Verifica-se que todos os valores do PCSA médios para todos os músculos decrescem com o exercício. No entanto, nenhuma destas variações é estatisticamente significativa ($p > 0,05$). O PCSA do GL é aquele que decresce de forma mais marcante (-19,0%), passando de um valor de $16,6 \pm 5,76 \text{ cm}^2$ para um de $13,7 \pm 4,06 \text{ cm}^2$. O músculo SOL que apresenta valores médios de PCSA mais elevados nas duas fases, decresce de $59,7 \pm 5,64 \text{ cm}^2$ para $56,4 \pm 4,27 \text{ cm}^2$ (-5,44%). O PCSA do GM passa de um valor de $28,3 \pm 7,78 \text{ cm}^2$ para um valor de $26,6 \pm 8,23 \text{ cm}^2$, correspondendo a um decréscimo de -5,9%. O TA apresentou os valores de PCSA médios pré e pós-exercício mais baixos ($11,3 \pm 2,21 \text{ cm}^2$ e $11,0 \pm 2,06 \text{ cm}^2$ respectivamente), equivalente a uma variação percentual de -2,5%.

Os gráficos correspondentes ao ganho percentual médio do comprimentos das fibras entre as duas fases, bem como os valores absolutos, encontram-se na figura 5.35.

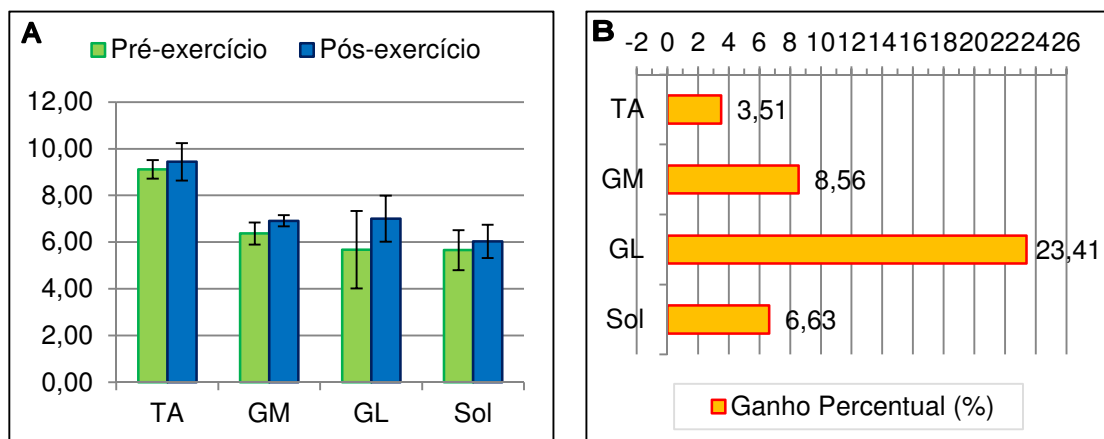


Figura 5.35: Comprimento médio (cm) das Fibras Musculares antes e depois do exercício (A) e ganho percentual respectivo (B).

O comprimento médio das fibras musculares aumenta para todos os músculos em estudo quando estes são submetidos a exercício físico intenso. O TA, detentor das fibras de maior comprimento médio, vê as suas fibras aumentarem de um valor médio de $9,12 \pm 0,40 \text{ cm}$ para um valor de $9,44 \pm 0,80 \text{ cm}$, o que corresponde a uma variação de 3,5%. As fibras do GL são aquelas cujo comprimento médio aumenta de forma percentual mais intensamente (23,4%), passando de um valor médio de $5,68 \pm 1,66 \text{ cm}$ para outro de $7,00 \pm 0,99 \text{ cm}$. O comprimento médio das fibras do GM sobe de $6,37 \pm 0,47 \text{ cm}$ para $6,91 \pm 0,24 \text{ cm}$ (ganho percentual de 8,6%). Por último, as fibras do SOL aumentam o seu comprimento médio em 6,6%, isto é, aumentam de um valor de $5,66 \pm 0,86 \text{ cm}$ para um valor pós-exercício de $6,03 \pm 0,72 \text{ cm}$.

Todas estas variações relativas ao comprimento médio das fibras foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$), exceptuando no caso do SOL ($p > 0,05$).

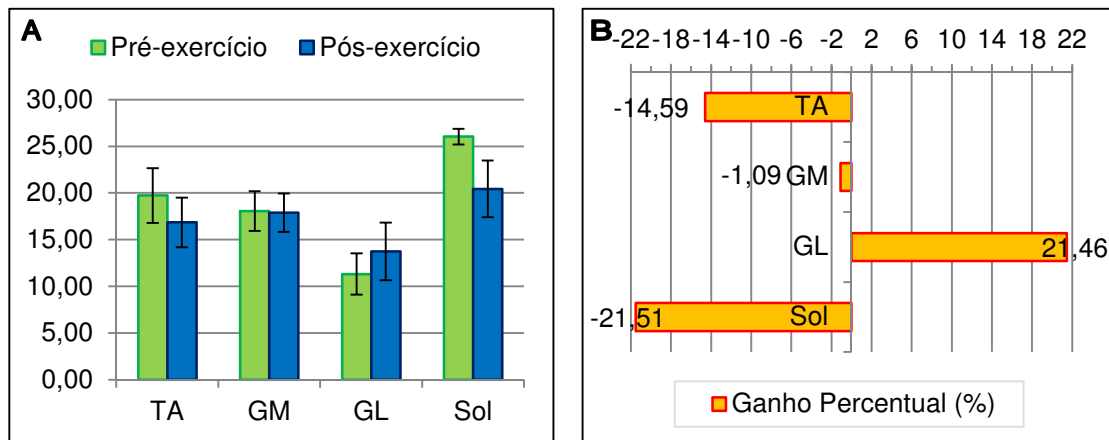


Figura 5.36: Ângulo de Penação médio (°) para os quatro músculos em estudo (A) e ganho percentual correspondente (B).

No que respeita o ângulo de penação, encontraram-se resultados muito variados. É preciso voltar a referir que para cada músculo estudado, este representava um valor médio calculado a partir de 2/3 valores de penação predominantes. Desta forma, verificou-se que o ângulo de penação médio do TA passou de $19,7 \pm 2,93^\circ$ para $16,8 \pm 2,67^\circ$ (variação percentual de -14,6%). No GM, o ângulo de penação médio desce de um valor de $18,1 \pm 2,13^\circ$ para um valor médio de $17,9 \pm 2,06^\circ$ (variação de -1,1%). O ângulo de penação médio do GL é aquele que têm uma variação positiva mais marcante (21,5%), subindo de $11,3 \pm 2,21^\circ$ para $13,7 \pm 3,09^\circ$. As fibras musculares presentes no SOL possuíam um ângulo de penação médio de $26,0 \pm 0,84^\circ$ antes do exercício e de $20,4 \pm 3,03^\circ$ numa fase posterior ao esforço (variação percentual de -21,5%).

No que respeita o ângulo de penação, só o SOL revelou alterações significativas após a execução do protocolo de exercício ($p < 0,05$).

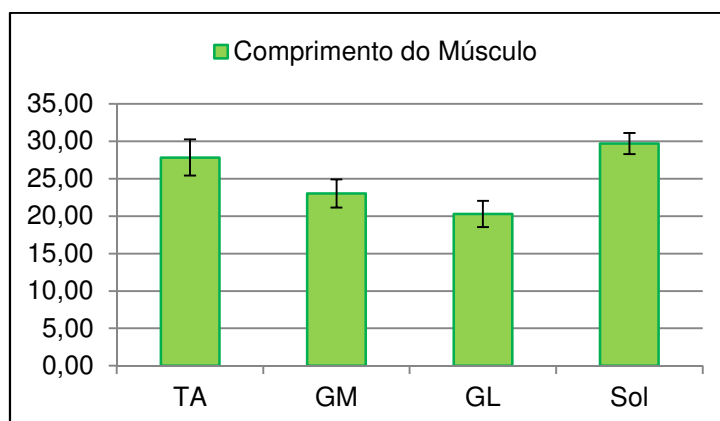


Figura 5.37: Comprimento do Músculo médio dos quatro músculos em estudo.

Tal como observável na figura anterior (Figura 5.37), o músculo com maior comprimento médio foi o SOL ($29,7 \pm 1,40$ cm), seguido do TA ($27,8 \pm 2,43$ cm), GM ($23,0 \pm 1,89$ cm) e finalmente pelo GL ($20,3 \pm 1,76$ cm).

5.7.5. Comparação entre as três técnicas de IRM

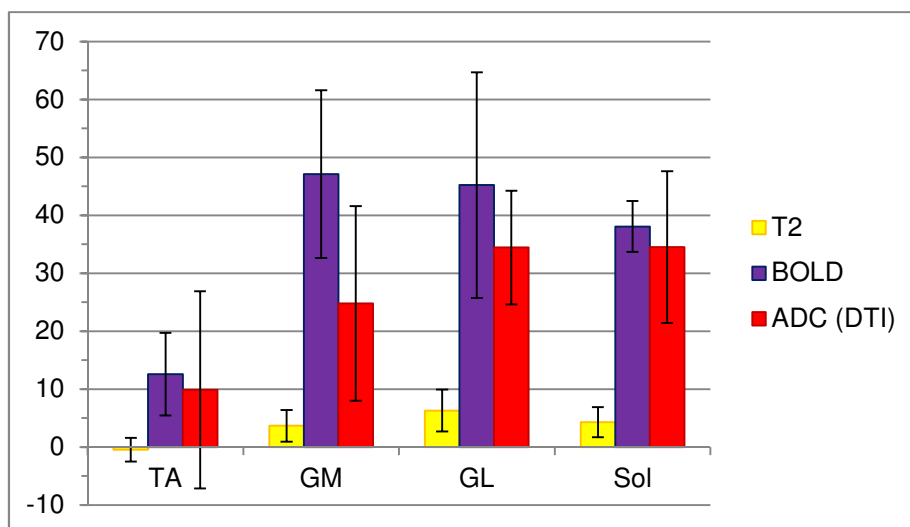


Figura 5.38: Comparação entre os ganhos percentuais das três diferentes técnicas de imagem (T₂, BOLD e o ADC proveniente do estudo DTI) para os quatro músculos estudados.

Neste gráfico final e geral (Figura 5.38) que junta os resultados sob a forma do ganho percentual médio das três técnicas de imagem, sendo o DTI aqui representado pelo parâmetro ADC. Desta forma, com base nos padrões expostos conseguimos de uma forma qualitativa verificar a concordância existente entre os resultados encontrados para as três técnicas nos quatro músculos em estudo.

Conseguem-se tirar algumas elações e conclusões óbvias tais como a baixa variação dos valores de T₂ quando comparados com os outros parâmetros (possíveis justificações para este facto podem ser encontradas no capítulo relativo à discussão) e a grande variação relativa da intensidade do sinal BOLD.

Podemos também verificar que nas três técnicas de imagem, as variações mais pequenas ocorrem no músculo TA, que apresenta inclusive uma variação média negativa no que respeita o T₂. O GL é de uma forma aproximada, o músculo que sofre uma variação dos seus valores mais pronunciada. Apesar do GM apresentar a maior variação no que respeita o BOLD, no que respeita as variações do ADC e do T₂ estas só são as terceiras mais importantes. O SOL apresenta uma variação média do ADC muito próxima da do GL, para além de possuir a segunda maior variação do valor médio de T₂ e a terceira maior do valor médio do sinal BOLD.

Estes resultados estão em concordância com a activação dos músculos constituintes do *triceps surae* aquando da execução do protocolo de exercício utilizado neste estudo.

6. Discussão dos resultados

Neste capítulo são discutidos os resultados obtidos e apresentados anteriormente. Em primeiro lugar são analisados os resultados obtidos para as diferentes técnicas de imagem por ressonância magnética de uma forma individual e mais à frente será feita uma análise geral e comparativa destas mesmas técnicas.

No fim, são referidas as limitações encontradas durante a realização deste estudo, bem como possíveis propostas para a solução destas em futuras investigações do género.

6.1. DTI

O DTI fornece-nos informação sobre a difusão da água nos tecidos, sondando dessa forma a arquitectura das células. Nos músculos, esta difusão é anisotrópica, *i.e.*, possui uma direcção preferencial de difusão

Nas células musculares, os principais candidatos a barreiras estruturais que possam induzir difusão anisotrópica são: (1) a rede constituída pelos miofilamentos (principalmente as proteínas actina e a miosina); (2) membranas subcelulares tais como as das mitocôndrias ou retículo sarcoplasmático; (3) o sarcolema (122).

Actualmente, o consenso é que o λ_1 e o seu respectivo *eigenvector* representam a difusão paralela ao eixo longo das fibras musculares (60, 79). Galban *et al.* propuseram que o λ_2 representa a difusão no interior do endomísio perpendicularmente ao longo eixo das fibras e o λ_3 a difusão da água dentro da secção transversal da própria fibra muscular (79, 82, 86), no entanto a fundamentação estrutural específica para estes dois últimos *eigenvalues* ainda permanece sem esclarecimento definido.

Uma possível explicação é a de que a destruição do retículo sarcoplasmático pode permitir um aumento da difusão transversal, condicionando uma diminuição do valor de FA e aumento do λ_2 e λ_3 (122).

Um aumento do ADC em músculos esqueléticos exercitados é presumidamente reflexão do aumento da movimentação da água, predominantemente no compartimento extracelular, mas efeitos da movimentação do citoplasma permanecem por esclarecer. (141)

Dado que os tecidos musculares possuem um tempo T_2 curto, é necessária a utilização de TE mais pequenos, o que por sua vez condiciona a gama de valores “b” que podem ser aplicados. A junção destes dois factores implica conseqüentemente níveis de SNR baixos. (38, 80, 88, 89, 90, 95, 119, 124). Para além dos problemas que podem surgir durante a execução de tractografias (que necessitam de um bom SNR para que a propagação dos tractos seja feita com base na informação dada pelos *eigenvectors/eigenvalues* e não sofra “desvios” em áreas com excesso de ruído), também os parâmetros do tensor de difusão podem ser prejudicados, sendo estes sobrestimados (95).

A utilização de ROI's com 67 voxéis como é o caso da presente investigação estão acima do tamanho utilizado e recomendado por Heemskerk *et al.* (74), o que se traduz num menor ruído do que o ruído presente em outros ROI's de menor tamanho.

A escolha de um valor “b” adequado ao estudo em causa é muito importante. Um valor “b” mais alto ($\sim 500 \text{ s/mm}^2$) diminui a contribuição da perfusão na atenuação do sinal (90, 122). No entanto, o uso de um valor “b” mais reduzido permite o estudo da difusão rápida da água nos tecidos musculares e o uso de TE's menores, para além de proporcionar uma diminuição dos efeitos de correntes *eddy* (119). Para este estudo optou-se por um valor “b” de 400 s/mm^2 .

É preciso ter cuidado para que o valor do TE não seja demasiado curto, por este estar associado a artefactos de susceptibilidade magnética e também poder por vezes impossibilitar ou limitar a utilização do EPI (38).

Os estudos DTI que analisem músculos exercitados estão sujeitos a outro tipo de problema. Estudos anteriores mostraram que o ADC aumentava com o exercício muscular (116, 141), mas este aumento não seria somente devido as alterações morfológicas provocadas pelo exercício, mas também pelo próprio aumento de temperatura local após o exercício. Este factor influencia o valor do ADC na ordem dos $2,4\% / ^\circ\text{C}$ (141). A eficiência da actividade muscular, é, na melhor das hipóteses de 20-25%, sendo que o resto da energia é convertida em calor (75-80%) (23).

O aumento da circulação sanguínea local após a realização de exercício é um factor a ter em conta e cuja influência no valor do ADC obtido já foi reportado (83, 119).

Para além disso, o ADC reflecte a limitação de que a difusão in vivo não pode ser separada de outras fontes de mobilidade da água, tais como o transporte activo, circulação entre meios com diferentes gradientes de pressão, alterações na permeabilidade das membranas e fluxo lento do sangue nos capilares (73).

É assim um desafio conseguir-se analisar o efeito do exercício no ADC dos vários músculos. Apesar disso, os valores obtidos para o FA, o ADC e os três *eigenvalues* encontram-se semelhantes aos valores reportados por Sinha *et. al.* (90), Hatakenaka *et. al.* (83) e Deux *et. al.* (86).

6.2. BOLD

Fora algumas excepções, de uma forma geral, todos os músculos dos sujeitos em estudo demonstraram um comportamento do sinal BOLD ao longo do tempo semelhante.

As aquisições pré-exercício demonstraram em todos os músculos valores de intensidade do sinal BOLD estáveis e consistentes. O TA foi o músculo que em média apresentava um sinal BOLD de base mais elevado, seguido do GL, SOL e GM. Com a execução do protocolo de exercício notou-se outro comportamento similar para todos os sinais BOLD. Estes aumentaram de uma forma marcante e significativa (GM, GL e SOL) e menos pronunciada no caso do TA. O GL passou em média a ser o músculo a apresentar maior sinal BOLD, seguido do TA, SOL e GM.

Este comportamento encontra-se em conformidade com o tipo de esforço executado, já que este consiste numa série de flexões plantares da articulação da tibiotársica, da responsabilidade dos músculos GM, GL e SOL, que assim foram activados e recrutados para o exercício.

Após o exercício e ao longo do tempo verificou-se que de uma forma mais ou menos rápida (consoante músculo em causa), os valores do sinal BOLD iniciavam um retorno aos valores de base e de referência pré-exercício. Inclusive, as primeiras imagens da fase pós-esforço foram obtidas tão rapidamente e o exercício foi tão intenso que em alguns músculos (especialmente no GM e GL) se conseguiu identificar a vertente ascendente do sinal BOLD. Tal fenómeno pode dever-se ao facto de que o aumento do fluxo sanguíneo para os músculos exercitados não pára simultaneamente com a cessação do exercício, existindo sim, ainda um período de elevado aporte de sangue para o tecido muscular e oxigenação tecidual local, que acaba assim por ser visível em IRM/BOLD.

Devido ao fenómeno descrito atrás e ao facto do BOLD ser utilizado para verificar a activação muscular (e intensidade respectiva), optou-se por se considerar o valor pós-exercício para efeitos estatísticos e de análise como sendo o valor máximo registado nos 60 volumes de

aquisição pós-esforço e não propriamente o primeiro valor registado (apesar de em muitos casos os dois serem coincidentes).

O TA apresenta nesta medida um comportamento pós-esforço muito peculiar. Este surge em alguns dos sujeitos com um sinal BOLD em crescimento progressivo e sem aparente estabilização e retorno a valores de base. Especula-se que o pico máximo seja atingido num período posterior não abrangido pelos volumes temporais da sequência de estudo.

O sujeito E apresentou valores de sinal BOLD significativamente superiores aos restantes sujeitos em estudo, indicando um aumento muito elevado do fluxo sanguíneo e do volume de sangue nos tecidos musculares. Isto pode ser devido a alguma característica anatómica e/ou fisiológica própria do sujeito a requerer um estudo mais aprofundado. Não se pode no entanto eliminar a possibilidade de ter ocorrido algum erro a nível do equipamento, calibração ou manipulação e tratamento das imagens em causa. Qualquer uma destas últimas hipóteses poderia ser eliminada com a repetição das aquisições de imagens BOLD neste sujeito e comparação dos resultados obtidos.

6.3. Relaxometria T_2

Após a realização do protocolo de exercício, verificamos que os valores T_2 dos músculos que constituem o trícipite sural aumentaram de forma significativa. Tal comportamento não foi identificado no TA que inclusive viu em alguns casos os seus valores de T_2 decrescerem.

Estes resultados estão de novo em conformidade com o tipo de exercício aplicado e com os resultados do BOLD retratados anteriormente. A participação do TA nesta actividade física é desprezável.

Tal como foi verificado pelo autor desta dissertação num dos estudos preliminares e reportado em estudos anteriores, durante a realização de uma actividade unilateral intensa, verifica-se um centralização e concentração do fluxo sanguíneo para a perna exercitada, ao mesmo tempo que se verifica um aumento do volume de água extracelular e intracelular. Desta forma, podemos também inferir uma situação semelhante para o TA que continuando em repouso relativo durante o salto unipedal, vê os recursos que lhe estavam alocados a serem desviados para os músculos vizinhos necessitados. Esta perda reflecte-se sob forma de um decréscimo de valor T_2 .

É necessário frisar novamente que os mecanismos que interferem no tempo de relaxação T_2 não serem ainda totalmente compreendidos.

O T_2 da água extracelular foi reportado em estudos anteriores como sendo quatro vezes mais longo do que o do fluido intracelular (111). Dado que, durante o exercício, o rácio de água nestes dois compartimentos é alterado, então o T_2 registado após a execução do protocolo de

exercício deveria sofrer alterações. No entanto, os estudos ainda não conseguiram confirmar essa hipótese (84, 111).

Outros autores reforçam a importância da água intracelular e que aspectos funcionais e fenómenos que ocorrem durante a contracção muscular tem influência directa no T_2 (141, 142).

Outro factor importante e já mencionando anteriormente é o impacto da temperatura nos dados obtidos. Tal como no caso do ADC, também o T_2 é afectado pelo aumento da temperatura nos músculos devido ao exercício.

6.4. Dados arquitectónicos

As características principais da arquitectura muscular são: O PCSA que está directamente relacionado com a quantidade de força que um músculo pode produzir; o comprimento das fibras musculares que influencia a velocidade máxima de contracção muscular (quanto mais comprida for, maior é a velocidade de encurtamento da fibra); e o ângulo de penação que influencia a potencial tensão e velocidade de encurtamento muscular. (4, 121, 139.)

Os dados arquitectónicos foram neste estudo obtidos com recurso a diferentes técnicas e metodologias. O volume muscular, comprimento muscular e CSA foi calculado com recurso às imagens DP, o comprimento médio das fibras e ângulo de penação médio foi obtido através do estudo DTI e o PCSA através de equação matemática.

O volume muscular e o CSA não se alteraram de forma significativa com o exercício, apesar de estar descrito que a água extra e intracelular aumenta nestas condições (112). Tal facto pode ser devido a uma limitação do presente estudo, explicado mais à frente.

O PCSA calculado para os diferentes músculos está de acordo com o reportado no estudo de Wickiewicz *et al.* (4). Calculou-se um PCSA pré-exercício de $11,3 \pm 2,2 \text{ cm}^2$ para o TA, $28,3 \pm 7,8 \text{ cm}^2$ para o GM e $59,7 \pm 5,6 \text{ cm}^2$ para o SOL. No estudo referenciado atrás, os respectivos valores foram de 7,9-12,7 cm^2 para o TA, 29,3-38,7 cm^2 para o GM e de 58,0 cm^2 para o SOL.

Para a obtenção do valor de ângulo de penação médio de dado músculo, o volume 3D foi manipulado de modo a ser visualizado a maior ângulo entre a fibra muscular e o eixo longitudinal (z). Mas este método fornece-nos um valor aproximado, já que reflecte uma linha de actuação de força completamente longitudinal. Ora, em termos gerais e tal como acontece em vários estudos (82, 90), este valor é suficiente para a modelação biomecânica macroscópica. No entanto, não deve ser descurado o facto de que o ângulo de penação é o ângulo existente entre a fibra muscular e a respectiva aponeurose – estrutura que nem sempre coincide com o eixo longitudinal da perna. Idealmente, novas metodologias devem ser desenvolvidas que consigam avaliar múltiplos ângulos de penação, de modo a permitir uma caracterização dos músculos com mais do que uma linha de força.

Apesar disso, o ângulo de penação é o factor menos importante e que menos altera o valor do PCSA e consequente máxima força muscular (142).

Os ângulos médios encontrados no presente estudo encontram-se concordantes com os ângulos encontrados em outros estudos arquitectónicos. Os valores médios do ângulo de penação em “repouso” no presente estudo foram de $19,7 \pm 2,93^\circ$ (TA), $18,1 \pm 2,13^\circ$ (GM), $11,3 \pm 2,21^\circ$ (GL) e $26,0 \pm 0,84^\circ$ (SOL). Steidle *et al.* (124) reportaram ângulos de penação de $11 \pm 2^\circ$ (TA), $22 \pm 3^\circ$ (GM), $12 \pm 4^\circ$ (GL) e $37 \pm 1^\circ$ (SOL). Schwenzer *et al.* determinaram os seguintes ângulos penação: (82): $10 \pm 3^\circ$ (TA); $13 \pm 4^\circ$ (GM); $17 \pm 3^\circ$ (GL) e $36 \pm 3^\circ$ (SOL). Sinha *et al.* (90) também identificaram valores semelhantes no seu estudo: $14.78 \pm 6.3^\circ$ (TA); $24.86 \pm 4.6^\circ$ (GM); $13.42 \pm 3.1^\circ$ (GL); $42.14 \pm 19.5^\circ$ (SOL).

Para o cálculo do PCSA é necessário também conhecer-se o comprimento médio das fibras. Este foi obtido de forma automática pelo *software* de visualização de manipulação de tractografias (TrackVis), com base na assunção que existe uma direcção preferencial para a difusão da água através das células musculares, permitindo assim estimar o comprimento das fibras.

O comprimento de fibras médio encontrado foi superior ao reportado em alguns estudos anteriores tais como o de Wickiewicz *et al.* (4), no entanto este último baseia-se no estudo de cadáveres e portanto em tecido muscular que sofreu tratamento químico de fixação e efeitos do *rigor mortis*. Ward *et al.* (145), por outro lado, apresentaram já mais próximos dos reportados no presente estudo. Este grupo de investigação calculou os seguintes comprimentos médios de fibras musculares: TA: $6,83 \pm 0,79$ cm; GM: $5,10 \pm 0,98$ cm; GL: $5,88 \pm 0,95$ cm; SOL: $4,40 \pm 0,99$ cm. O comprimento médio das fibras musculares no presente estudo foi de $9,12 \pm 0,40$ cm para o TA, de $6,37 \pm 0,47$ cm para o GM, $5,68 \pm 1,68$ cm para o GL e de $5,66 \pm 0,86$ cm para o SOL.

É preciso também ter em conta que com o exercício, este comprimento médio das fibras ainda é mais elevado, chegando a aumentar em média 23,4% como no caso do GL.

Por outro lado, o comprimento muscular encontrado no presente estudo foi ligeiramente inferior (< 1 cm) à base de dados de cadáveres (4) e estudos por US (143, 144) realizados anteriormente. É no entanto importante referir que a amostra deste estudo é exclusivamente constituído por jovens atletas mulheres com características antropométricas específicas e que por isso são esperadas ligeiras diferenças em algumas variáveis.

6.5. Discussão geral dos resultados

A realização desta investigação permitiu a aplicação de diversas técnicas de imagem sobre a mesma amostra de voluntários. Cada técnica possui características deferentes e contribui com informação específica para o estudo.

O DTI permitiu-nos através da difusão preferencial da água nos tecidos avaliar a estrutura e arquitectura do músculo, bem como as alterações que ocorrem nessa estrutura aquando da realização de exercício intenso. O BOLD mostrou-nos quais os músculos activados e qual o grau/intensidade desta mesma activação, associada a uma escala temporal. A análise do tempo de relaxamento T_2 forneceu-nos informação sobre as características intrínsecas do tecido, bem como do comportamento da água nesse mesmo tecido.

Após a realização do exercício, esperava-se que os músculos mais activados fossem aqueles que funcionassem como agonistas para a acção motora realizada durante o protocolo de exercício (flexores plantares da tibiotársica). Tal foi confirmado com a técnica BOLD onde se verificou que o maior aumento do valor de intensidade do sinal BOLD se deu nos músculos constituintes do *triceps surae* (SOL, GM e GL), músculos responsáveis por esse mesmo movimento.

Da mesma forma, estimou-se que os músculos do *triceps surae* seriam – com este tipo de exercício – aqueles que apresentariam maior variação no conteúdo de água intra- e extracelular. A relaxometria T_2 confirmou tal suposição, mesmo tendo em conta algumas limitações na realização desta técnica tal como descrito no próximo subcapítulo.

Quanto aos aspectos mais estruturais e arquitectónicos, esperava-se que os músculos agonistas da flexão plantar da tibiotársica aumentassem de volume e de CSA com o exercício devido ao aumento do aporte de sangue e acumulação de água nos tecidos. De acordo e ajustando-se com estas alterações, seria de prever que o PCSA e o ângulo de penetração também aumentassem.

Tal suposição foi confirmada no que respeita o volume muscular e o CSA, que aumentaram após o exercício nos músculos GL, GM e SOL. Estes aumentos foram determinados directamente a partir da análise das imagens DP e reforçados com pelos dados DTI. O ADC e o valor dos *eigenvalues* aumentaram em todos os músculos, fenómeno mais predominante e estatisticamente significativo nos músculos do *triceps surae*. Não podemos no entanto esquecer que o ADC não é somente condicionado pelos aspectos estruturais dos tecidos, mas tem no seu valor uma pequena contribuição do fluxo sanguíneo dos capilares locais que também aumenta após o exercício (tal como confirmado pelo BOLD). Mesmo assim, estes dados demonstram que a restrição à difusão da água diminuiu em todas as direcções, sinal indirecto de que o espaço entre os organitos e outras estruturas que actuam como barreiras à difusão aumentou. Este distanciamento pode ser justificado pelo aumento de água intracelular (como visto pelo T_2).

Para além disso, o λ_3 foi em estudos anteriores relacionado como a secção transversal das fibras musculares. No presente estudo, este *eigenvalue* aumenta de forma extremamente significativa nos músculos GL, GM e SOL, implicando que as fibras destes músculos aumentaram de calibre de forma intensa.

Estes factores explicam e estão concordantes com um aumento de volume muscular e CSA nos músculos mais activados.

No entanto, ao contrário do esperado, o PCSA médio encontrado em todos os músculos decresceu, apesar de ser de forma estatisticamente não significativa. Tal achado pode ser possivelmente explicado pela metodologia utilizada. A utilização de uma fórmula para o cálculo deste valor de PCSA em vez de um cálculo directo deste valor através da manipulação e tratamento computacional dos volumes de aquisição DP pode ter condicionado os resultados obtidos, através do facto de utilizar dados obtidos em fases pós-esforço distintas. O comprimento das fibras e o ângulo de penação é obtido através do DTI adquirido logo após o exercício, enquanto que o volume muscular é calculado a partir dos volumes de aquisição DP obtidos numa fase mais tardia em que os músculos já se encontram em estados mais próximos daqueles em que se encontravam antes do exercício. Assim, o nominador da equação poderá possuir um valor inferior ao devido, resultando em valores de PCSA pós-exercício menores.

No que respeita o ângulo de penação médio, este subiu após o exercício para os músculos SOL, GM e TA, mas desceu de forma significativa para o GL. Tal resultado não era esperado, mas pode no entanto prender-se à dificuldade prática de se encontrar um valor que represente todas as fibras musculares existentes em dado músculo, não esquecendo que alguns destes músculos apresentam compartimentos com penações muito diferentes.

Em suma, os ganhos percentuais obtidos nas diversas técnicas demonstraram graus de intensidade proporcionais entre si, destacando-se o GL, o GM e o SOL como sendo os músculos onde mais variações ocorreram.

6.6. Limitações do estudo

Todos os sujeitos em estudo foram do sexo feminino, com estruturas musculares e características arquitectónicas e funcionais diferentes dos indivíduos do sexo masculino (23). Galban *et al.* reportou que as mulheres tinham uma concentração de fibras musculares menor (120). Este autor detectou diferenças significativas para os *eigenvalues* em todos os músculos analisados excepto para o λ_1 do SOL e λ_3 do TA. Os valores nas mulheres foram no geral bastante superiores aos encontrados nos homens. Quanto ao FA, este era significativamente inferior ao apresentado pelos sujeitos do sexo masculino. Para além disso, os homens são regra geral detentores de músculos mais volumosos e com maior massa muscular (140).

A influência do sexo do sujeito nos resultados obtidos por BOLD e relaxometria T_2 nunca foi devidamente estudada, mas dada relação próxima entre algumas das variáveis em estudo e dos mecanismos subjacentes que as influenciam, é de supor que uma amostra exclusivamente feminina também impacte os resultados dessas técnicas.

O tamanho da amostra foi também mais pequeno do que o pretendido devido a factores de tempo, situação que deve ser colmatada com a aplicação desta metodologia a uma amostra de maiores dimensões e de características mais variadas (especialmente no que respeita ao sexo do sujeito).

Uma outra limitação destes estudos relaciona-se com a relaxometria T_2 e justifica parcialmente a baixa variação entre os valores registados por esta técnica para as duas fases de aquisição. De forma a dar prioridade aos estudos DTI e BOLD e para reduzir o número de sessões de IRM, cada sujeito estudado realizou duas sessões, sendo que uma sessão teria que ser partilhada por duas técnicas de imagens. Desta forma, o estudo da relaxometria T_2 ficou prejudicado tendo sido realizado após as sequências BOLD. Se tal facto não era importante numa fase pré-exercício, o mesmo não se pode dizer da 2ª fase em que ocorria uma rápida recuperação dos músculos regresso dos parâmetros analisados a valores de “repouso”.

Supõe-se que a dedicação de uma sessão exclusiva a esta técnica traria resultados mais precisos e com diferenças mais pronunciadas entre os valores das duas fases. Estas diferenças ficaram assim minimizadas e os valores pós-exercício subvalorizados. No entanto, sugere-se que um estudo do comportamento temporal do valor de T_2 aquando da realização de exercício seja efectuado, de modo a ser verificada a importância e velocidade de retorno dos valores pós-exercício aos valores iniciais de repouso.

Algo semelhante acontece em alguns dos valores arquitectónicos obtidos. Dado que o volume muscular, o comprimento muscular e o CSA máximos foram calculados a partir das imagens DP e de que estas imagens foram adquiridas numa fase pós-esforço a seguir as imagens DTI, então as alterações arquitectónicas presentes nos músculos e determináveis em DP já se encontravam numa fase adiantada de retorno para valores de “repouso”. Estima-se assim que as diferenças de valores para estas variáveis entre as fases pré e pós-exercício foram também subvalorizadas.

Outro problema neste tipo de estudos são os artefactos provocados pela presença de correntes *eddy* que nestes casos são muito comuns. Nos últimos tempos já foram aplicados diversos métodos que podem reduzir a presença deste tipo de distorções (92, 95, 137, 138) que consistem na manipulação dos pulsos de calibração previamente à aplicação das sequências de aquisição de imagens ou na utilização de gradientes bipolares. No entanto, estes procedimentos podem aumentar o TE da sequência, levando a uma diminuição do SNR (95). Para além disso, também aumentam o tempo total do exame e a aplicação destas ou outras técnicas de redução da presença deste tipo de artefactos no presente estudo, condicionariam atrasos na aquisição das imagens pós-exercício e perda de informação sobre o efeito do exercício na arquitectura muscular.

Devido a importância do factor “tempo” no presente estudo, tais técnicas não foram aplicadas, recorrendo-se em alternativa a métodos de pós-processamento que corrigem as imagens depois de estas serem adquiridas. Estes procedimentos são já bastante rotineiros neste tipo de estudos, possibilitando a obtenção de imagens processadas de elevada qualidade e livre de distorções, sendo inclusivamente associados a outros processos que corrigem distorções provocadas pelo movimento involuntário do sujeito estudado ou ainda que façam o co-registo das imagens necessário.

Outro aspecto importante de ser referido é relativo ao *software* utilizado. Como exemplo, o FSL (que foi usado em várias fases do pós-processamento) foi inicialmente criado com o objectivo de ser aplicado a estudos do cérebro e por isso a sua fiabilidade em processamento de imagens musculares não pode ser totalmente garantida, apesar de aparentemente ter tido sucesso em todos os tratamentos de imagem e ser utilizado por rotina por muitos investigadores.

7. Conclusões

Este estudo de investigação permitiu verificar que é possível avaliar quantitativamente e qualitativamente as características estruturais e arquitectónicas dos músculos da perna e verificar as suas alterações após a realização de exercício físico intenso com recurso à IRM.

As alterações e ajustamentos arquitectónicos sofridos pelos músculos podem ser verificados nos capítulos dos Resultados e da Discussão destes Resultados, sendo que a maior parte das variáveis em análise sofreram variações significativas após realização de exercício intenso e subsequente instalação do processo de fadiga.

A utilização das técnicas avançadas de IRM podem assim substituir ou complementar outras técnicas laboratoriais ou técnicas tais como a US, a electromiografia ou o estudo de músculos em cadáveres, ultrapassando-se desta forma diversas limitações e problemas associados a estas últimas técnicas.

A utilização de uma análise multimodal através da associação de várias técnicas de imagem tais como o DTI, BOLD e relaxometria T_2 permite que variados dados consigam ser obtidos e usados para caracterizar os músculos, sejam elas investigações do tipo exploratórias, biomecânicas ou clínicas.

Os estudos preliminares realizados no início e decurso desta investigação permitiram otimizar e standardizar todo o processo de estudo, desde a obtenção das imagens à obtenção dos resultados, passando pela correcção e processamento dessas mesmas imagens.

Destes estudos é necessário destacarem-se dois. A criação e desenvolvimento do suporte para a perna foi essencial na estabilização e fixação da perna e em particular da posição da tibiotársica, permitindo a obtenção de forma rápida e reproduzível dos volumes de imagens pós-exercício. A definição de um ROI de fácil delimitação mas que permitisse a obtenção de dados representativos do tecido em estudo foi de extrema importância no tratamento das imagens e cálculo de vários parâmetros. Um estudo que verificasse o impacto do tipo de ROI utilizado na qualidade dos dados obtidos não foi encontrado em nenhuma da literatura analisada.

O rápido desenvolvimento da IRM, das suas sequências e compreensão dos mecanismos e fenómenos subjacentes detectados por esta técnica, permitirá no futuro uma análise mais aprofundada e rápida dos tecidos musculares, permitindo a criação de modelos biomecânicos computadorizados personalizados, capazes de prever as forças máximas passíveis de serem originadas em cada músculo e prevenir potenciais danos ligados ao exercício e à fadiga.

Bibliografia

- [1] R. L. Lieber and J. Friden, “*Functional and clinical significance of skeletal muscle architecture*”. *Muscle Nerve*, vol. 23, no. 3, pp 1647–1666, 2000. doi:10.1002/1097-4598(200011)23:11<1647::AID-MUS1>3.0.CO;2-M [pii]
- [2] R. Lieber, “*Skeletal muscle adaptability, I: review of basic properties*”. *Development Medicine & Child Neurology*, vol. 28, pp 390-397, 1986.
- [3] T. Fukunaga, Y. Ichinose, M. Ito, Y. Kawakami, and S. Fukashiro, “*Determination of fascicle length and pennation in a contracting human muscle in vivo*”. *J Appl Physiol*, vol. 82, no. 1, pp 358-358, 1997.
- [4] T. L. Wickiewicz, R. R. Roy, P. L. Powell, J. J. Perrine, and V. R. Edgerton, “*Muscle architecture and force-velocity relationships in humans*”. *J Appl Physiol*, vol. 57, no. 2, pp 435–443, 1984.
- [5] P. A. Huijing, “*Architecture of the human gastrocnemius muscle and some functional considerations*”, *Acta Anatomica*, vol. 123, pp 101-107, 1985.
- [6] S. H. Scott, C. M. Engstrom, and G. E. Loeb, “*Morphometry of human thigh muscles. Determination of fascicle architecture by magnetic resonance imaging*”, *J Anat*, vol. 182, pp 249-257, 1993.
- [7] J. A. Friedrich and R. A. Brand, “*Muscle fiber architecture in the human lower limb*”, *J Biomech*, vol. 23, pp 91-95, 1990.
- [8] R. S. Chow, M. K. Medri, D. C. Martin, R. N. Leekam, A. M. Agur, and N. H. McKee, “*Sonographic studies of human soleus and gastrocnemius muscle architecture: gender variability*”, *Eur J Appl Physiol*, vol. 82, pp 236-244, 2000.
- [9] C. N. Maganaris, “*Force-length characteristics of in vivo human skeletal muscle*”, *Clin Anat*, vol. 172, pp 279-285, 2000.
- [10] T. Fukunaga, Y. Ichinose, M. Ito, Y. Kawakami, and S. Fukashiro, “*Determination of fascicle length and pennation in a contracting human muscle in vivo*”. *J Appl Physiol*, vol. 82, no. 1, pp 354–358, 1997.
- [11] T. Kurihara, T. Oda, K. Chino, H. Kanehisa, T. Fukunaga and Y. Kawakami, “*Three-dimensional analysis of the fascicle architecture of human gastrocnemius muscle during contractions*”, *International Journal of Sport and Health Science*, in press, 2005.
- [12] M. V. Narici, T. Binzoni, E. Hiltbrand, J. Fasel, F. Terrier and P. Cerretelli, “*In vivo human gastrocnemius architecture with changing joint angle at rest and during graded isometric contraction*”. *J Physiol*, vol. 496(Pt 1), pp 287-297, 1996.
- [13] M. F. Secca, S. Alves, M. Noseworthy, F. João and A. Veloso, “*Recovery of Leg Muscle ADC and FA after Fatigue (Work in Progress)*”, *J Biomech*, vol. 45, pp S457, 2012.
- [14] M. F. Secca, S. S. Alves, A. R. Pereira, J. N. Alves, F. João, A. P., Veloso, M. Noseworthy, N. J. Tavares, and C. Meneses, “*Multimodal MRI Evaluation of Physiological Changes on Leg Muscles due to Fatigue after Intense Exercise*”. XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, *IFMBE Proceedings*, vol. 41, pp 157-158, 2014.
- [15] M. K. Van de Graff, “*Human Anatomy*”, Sixth Edition, The McGraw-Hill Companies, 2001, USA.
- [16] A. Despopoulos and S. Silbernagl, “*Color Atlas of Physiology*”, 5th Edition, Thieme, 2003, New York, USA.

- [17] K. S. Saladin, "*Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function*", The McGraw-Hill Companies, 2003, USA.
- [18] S. I. Fox, "*Human Physiology*", 8th Edition, The McGraw-Hill Companies, 2003, New York, USA.
- [19] A. J. Vander, J. H. Sherman, and D. S. Luciano, "*Human Physiology: The Mechanism of Body Function*", Eight Edition, The McGraw-Hill Companies, 2001, New York, USA.
- [20] J. Rae-Dupree and P. Dupree, "*Anatomy & Physiology Workbook for Dummies*", Wiley Publishing Inc., 2007, Indianapolis, USA.
- [21] F. H. Martini, J. L. Nath, and E. F. Bartholomew, "*Fundamentals of Anatomy & Physiology*", 9th Edition, Benjamin Cummings, 2011, USA.
- [22] A. Faller, M. Schunke, and G. Schunke, "*The Human Body: An Introduction to Structure and Function*", Thieme, 2004, New York, USA.
- [23] D. J. Schneck and J. D. Bronzino, "*Biomechanics – Principles and Applications*", CRC Press, 2003, Florida, USA.
- [24] J. Stone and R. Stone, "*Atlas of Skeletal Muscle*", 7th Edition, McGraw Hill Education, 2011, USA.
- [25] C. Westbrook, "*MRI at a Glance*", Blackwell Science, 2002, UK.
- [26] M. Reiser, W. Semmler, and H. Hricak, "*Magnetic Resonance Tomography*", Springer, 2008, Berlin, Germany.
- [27] D. Weishaupt, V. Kochli, and B. Marincek, "*How Does MRI Work? An Introduction to the Physics and Function of Magnetic Resonance Imaging*", Second Edition, Springer, 2006, Germany.
- [28] M. A. Brown and R. C. Senelka, "*MRI – Basic Principles and Applications*", Third Edition, Wiley-Liss, 2003, New Jersey, USA.
- [29] P. V. Prasad, "*Magnetic Resonance Imaging – Methods and Biological Applications*", Humana Press, 2006, New Jersey, USA.
- [30] P. Reimer, P. M. Parizel, and F.-A. Stichnoth, "*Clinical MR Imaging – A Practical Approach*", Second Edition, Springer, 2006, New York, USA.
- [31] H. S. Chrysikopoulos, "*Clinical MR Imaging and Physics – A Tutorial*", Springer, 2009, Berlin, Germany.
- [32] V. Kuperman, "*Magnetic Resonance Imaging – Physical Principles and Applications*", Academic Press, 2000, San Diego, CA, USA.
- [33] D. W. McRobbie, E. A. Moore, M. J. Graves, and M. R. Prince, "*MRI – From Picture to Proton*", Second Edition, Cambridge University Press, 2006, Cambridge, UK.
- [34] M. Filipi, N. de Stefano, V. Doussel, and J. C. McGrown, "*MR Imaging in White Matter Diseases of the Brain and Spinal Cord*", Springer, 2005, Germany.
- [35] P. Tofts, "*Quantitative MRI of the Brain – Measuring Changes caused by Disease*", John Wiley & Sons, 2003, UK.
- [36] C. Westbrook and C. Kaut, "*Ressonância Magnética Prática*", Segunda Edição, Guanabara Koogan, 2000, Brasil.
- [37] P. Hagmann, L. Jonasson, P. Maeder, J. P. Thiran, V. J. Wedeen and R. Meuli, "*Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond*". *Radiographics*, vol. 26, Suppl 1, pp S205–23, 2006. doi:26/suppl_1/S205 [pii] 10.1148/rg.26si065510
- [38] D. Le Bihan, C. Poupon, A. Amadon and F. Lethimonnier. "*Artifacts and pitfalls in diffusion MRI*". *J Magn Reson Imaging*, vol. 24, no. 3, pp 478–488, 2006. doi:10.1002/jmri.20683
- [39] U. Salvolini and T. Scarabino, "*High Field Brain MRI – Use in Clinical Practice*", Springer, 2006, Germany.
- [40] D. Le Bihan, J. F. Mangin, C. Poupon, C. A. Clark, S. Pappata, N. Molko, and H. Chabriat, "*Diffusion tensor imaging: concepts and applications*", *J Magn Reson Imaging*, vol. 13, no. 4, pp 534–546, 2001. doi:10.1002/jmri.1076 [pii]
- [41] P. Mansfield, "*Real-time echo-planar imaging by NMR*", *Br Med Bull*, vol. 40, pp 187–190, 1984.
- [42] T. Ichikawa, H. Haradome, J. Hachiya, T. Nitatori and T. Araki, "*Diffusion-weighted MR imaging with a single-shot echoplanar sequence: detection and characterization of focal hepatic lesions*", *AJR*, vol. 170, pp 397-402, 1998.
- [43] E. Stejskal, and J. Tanner, "*Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of a time-dependent field gradient*". *J Chem Phys*, vol. 42, no. 1, pp 288–292, 1965.

- [44] N. Saupe, L. M. White, J. Stainsby, G. Tomlinson and M. S. Sussman, "Diffusion tensor imaging and fiber tractography of skeletal muscle: optimization of B value for imaging at 1.5 T". *AJR Am J Roentgenol*, vol. 192, no. 6, pp 282–90, 2009. doi:10.2214/AJR.08.1340
- [45] R. R. Edelman, J. Hesselink, M. Zlatkin, and J. P. Mugler III, "Clinical Magnetic Resonance Imaging", 3rd ed., vol 1, 3 vols. Saunders, 2006.
- [46] M. A. Brown and R. C. Senelka, "MRI – Basic Principles and Applications", Third Edition, Wiley-Liss, 2003, New Jersey, USA.
- [47] R. Hashemi, Jr. W. Bradley, "MRI the basics". Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1997.
- [48] R. Brown, "A brief account of microscopical observations made in the months of June, July, and August 1827 on the particles contained in the pollen of plants; and on the general existence of active molecules in organic and inorganic bodies", *Philosoph Mag*, vol. 4, pp 161, 1828.
- [49] A. Einstein, "Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen", *Ann Physik*, vol. 4, pp 549–560, 1905.
- [50] A. Einstein, "Sue Theorie der Brownschen Bewegung", *Ann Physik*, vol.19, pp 371–381, 1906.
- [51] M. R. Smoluchowski, "Zur kinetischen Theorie der Brownschen Molekularbewegung und der Suspensionen", *Ann Phys*, 21:756–780, 1906.
- [52] J. B. Perrin, "Mouvement brownien et realite moléculaire", *Annales de chimie et de physique*, vol. VIII, no. 18, pp 4–114, 1909.
- [53] F. Bloch, "Nuclear induction", *Phys Rev*, vol. 70, pp 460–474, 1946.
- [54] F. Bloch, W. Hansen, and M. Packard, "Nuclear induction", *Phys Rev*, vol. 69, pp 127, 1946.
- [55] E. M. Purcell, H. C. Torrey, and R. V. Pound, "Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid", *Phys Rev*, vol. 69, pp 37, 1946.
- [56] E. L. Hahn, "Spin echoes", *Phys Rev*, vol. 80, pp 580–594, 1950.
- [57] H. Y. Carr, E. M. Purcell, "Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments", *Phys Rev*, vol. 94, pp 630–638, 1954.
- [58] H. C. Torrey, "Bloch equations with diffusion terms", *Phys Rev*, vol. 104, pp 563–565, 1956.
- [59] R. L. Cooper, B. Chang, A. C. Young, C. J. Martin, and B. Ancker-Johnson, "Restricted diffusion in biophysical systems", *Biophys J*, vol. 14, pp 161–1771, 1974.
- [60] G. G. Cleveland, D. C. Chang, C. F. Hazlewood and H. E. Rorschach, "Nuclear magnetic resonance measurement of skeletal muscle: anisotropy of the diffusion coefficient of the intracellular water". *Biophys J*, vol. 16, no. 9, pp 1043–1053, 1976. doi:S0006-3495(76)85754-2 [pii] 10.1016/S0006-3495(76)85754-2
- [61] J. E. Tanner, "Transient diffusion in a system partitioned by permeable barriers. Application to NMR measurements with a pulsed field gradient", *J Chem Phys*, vol. 69, pp 1748–1754, 1978.
- [62] J. E. Tanner, "Self diffusion of water in frog muscle", *Biophys J*, vol. 28, pp 107–116, 1979.
- [63] K. R. Brownstein, and C. E. Tarr, "Importance of classical diffusion in NMR studies of water in biological cells", *Phys Rev A*, vol. 19, pp 2446–2453, 1979.
- [64] J. E. Tanner, "Intracellular diffusion of water", *Arch Biochem Biophys*, vol. 224, pp 416–428, 1983.
- [65] D. G. Taylor, and M. C. Buschell, "The spatial mapping of translational diffusion coefficients by the NMR imaging technique", *Phys Med Biol*, vol. 30, pp 345–349, 1985.
- [66] D. LeBihan, E. Breton, D. Lallemand, P. Grenier, E. Cabanis, and M. Laval-Jeantet, "MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders", *Radiology*, vol. 161, pp 401–407, 1986.
- [67] D. LeBihan, E. Breton, D. Lallemand, M-L., Aubin, and M. Laval-Jeantet, M. (1988) "Separation of diffusion and perfusion in intravoxel incoherent motion MR imaging", *Radiology*, vol. 168, pp 497–505.
- [68] M. E. Moseley, Y. Cohen, J. Mintorovitch, L. Chileuittand, H. Shimizu, J. Kucharczyk, M. F. Wendland, and P. R. Weinstein, "Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy", *Magn Reson Med*, vol. 14, pp 330–346, 1990.

- [69] C. Beaulieu, "The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system", *NMR Biomed*, vol. 15, pp 435–455, 2002.
- [70] P. J. Basser, J. Mattiello and D. LeBihan, "MR diffusion tensor spectroscopy and imaging". *Biophys J*, vol. 66, no. 1, pp 259–267, 1994. doi:S0006-3495(94)80775-1 [pii] 10.1016/S0006-3495(94)80775-1
- [71] P. J. Basser and C. Pierpaoli, "Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI". *J Magn Reson B*, vol. 111, no. 3, pp 209–219, 1996.
- [72] C. Pierpaoli, I. Linfante, J. Mattiello, G. Di Chiro, D. Le Bihan and P. J. Basser, "Diffusion tensor imaging of brain white matter anisotropy", *Proceedings of 2nd Meeting of the International Society Magnetic Resonance Medicine*, no. 2, pp 1038, 1994.
- [73] P. Mukherjee, J. I. Berman, S. W. Chung, C. P. Hess and R. G. Henry, "Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: theoretic underpinnings". *AJNR Am J Neuroradiol*, vol. 29, no. 4, pp 632–641, 2008. doi:ajnr.A1051 [pii] 10.3174/ajnr.A1051
- [74] A. M. Heemskerk, T. K. Sinha, K. J. Wilson, Z. Ding, and B. M. Damon, "Repeatability of DTI-based skeletal muscle fiber tracking", *NMR Biomed*, vol 23, no. 3, pp 294–303, 2010. doi:10.1002/nbm.1463
- [75] E. O. Stejskal, "Use of spin echoes in a pulsed magnetic-field gradient to study anisotropic, restricted diffusion and flow", *J Chem Phys*, vol. 43, pp 3597–3603, 1965.
- [76] D. G. Cory and A. N. Garroway, "Measurement of translational displacement probabilities by NMR: an indicator of compartmentation", *Magn Reson Med*, vol. 14, pp 435–444, 1990.
- [77] C. C. Van Donkelaar, L. J. Kretzers, P. H. Bovendeerd, L. M. Lataster, K. Nicolay, J. D. Janssen and M. R. Drost. (1999). "Diffusion tensor imaging in biomechanical studies of skeletal muscle function", *J Anat*, vol. 194, no. 1, pp 79–88, 1999.
- [78] B. M. Damon, Z. Ding, A. W. Anderson, A. S. Freyer, and J. C. Gore, "Validation of diffusion tensor MRI-based muscle fiber tracking", *Magn Reson Med*, vol. 48, no. 1, pp 97–104, 2002. doi:10.1002/mrm.10198
- [79] C. J. Galban, S. Maderwald, K. Uffmann, A. de Greiff and M. E. Ladd, "Diffusive sensitivity to muscle architecture: a magnetic resonance diffusion tensor imaging study of the human calf". *Eur J Appl Physiol*, vol. 93, no. 3, pp 253–262, 2004. doi:10.1007/s00421-004-1186-2
- [80] T. Zaraiskaya, D. Kumbhare, and M. D. Noseworthy, "Diffusion tensor imaging in evaluation of human skeletal muscle injury", *J Magn Reson Imaging*, vol 24, no. 2, pp 402–408, 2006. doi:10.1002/jmri.20651
- [81] A. M. Heemskerk, G. J. Strijkers, M. R. Drost, M. R., G. S. van Bochove, and K. Nicolay, "Skeletal muscle degeneration and regeneration after femoral artery ligation in mice: monitoring with diffusion MR imaging". *Radiology*, vol. 243, pp 413–421, 2007.
- [82] N. F. Schwenzer, G. Steidle, P. Martirosian, C. Schrami, F. Springer, C. D. Claussen, and F. Schick, "Diffusion tensor imaging of the human calf muscle: distinct changes in fractional anisotropy and mean diffusion due to passive muscle shortening and stretching", *NMR Biomed*, vol. 22, no. 10, pp 1047–1053, 2009. doi:10.1002/nbm.1409
- [83] M. Hatakenaka, Y. Matsuo, T. Setoguchi, H. Yabuuchi, T. Okafuji, T. Kamitani, R. T. Nishikawa, and H. Honda, "Alteration of proton diffusivity associated with passive muscle extension and contraction", *J Magn Reson Imaging*, vol 27, no. 4, pp 932–937, 2008. doi:10.1002/jmri.21302
- [84] M. Hatakenaka, H. Yabuuchi, Y. Matsuo, T. Okafuji, T. Kamitani, T. Setoguchi, and H. Honda, "Effect of passive muscle length change on apparent diffusion coefficient: detection with clinical MR imaging", *Magn Reson Med Sci*, vol. 7, no. 2, pp 59–63, 2008. doi:JST.JSTAGE/mrms/7.59 [pii]
- [85] A. M. Heemskerk, G. J. Strijkers, M. R. Drost, and K. Nicolay, "Diffusion tensor MRI for the in vivo determination of skeletal muscle architecture in two ankle angles". *Proc. Intl. Soc. Magn. Reson Med*, vol. 14, pp 1729, 2006.
- [86] J. F. Deux, P. Malzy, N. Paragios, G. Bassez, A. Luciani, P. Zerbib, and A. Rahmouni, "Assessment of calf muscle contraction by diffusion tensor imaging", *Eur Radiol*, vol. 18, no.10, pp 2303–2310, 2008. doi:10.1007/s00330-008-1012-z
- [87] D. Morvan, "In vivo measurement of diffusion and pseudo-diffusion in skeletal muscle at rest and after exercise". *Magn Reson Imaging*, vol. 13, no. 2, pp 193–199, 1995. doi:0730-725X(94)00096-L [pii]

- [88] A. M. Heemskerk, and B. M. Damon, "Diffusion tensor MRI assessment of skeletal muscle architecture". *Current Medical Imaging Reviews*, vol. 3, no. 3, pp 152–160, 2007.
- [89] D. A. Lansdown, Z. Ding, M. Wadington, J. L. Hornberger and B. M. Damon. "Quantitative diffusion tensor MRI-based fiber tracking of human skeletal muscle". *J Appl Physiol*, vol. 103, no. 2, pp 673–681, 2007. doi:00290.2007 [pii] 10.1152/jappphysiol.00290.2007
- [90] S. Sinha, U. Sinha, and V. R. Edgerton, "In vivo diffusion tensor imaging of the human calf muscle", *J Magn Reson Imaging*, vol. 24, no. 1, pp 182-190, 2006. doi:10.1002/jmri.20593
- [91] D. Le Bihan, E. Breton, "Imagerie de diffusion in vivo par résonance magnétique nucléaire". *CR Acad Sci Paris*, vol. 301, pp 1109-1112, 1985.
- [92] G. K. Rohde, A. S. Barnett, P. J. Basser, S. Marengo and C. Pierpaoli, "Comprehensive approach for correction of motion and distortion in diffusion-weighted MRI". *Magn Reson Med*, vol. 51, pp 103-114, 1999.
- [93] P. J. Basser, S. Pajevic, C. Pierpaoli, J. Duda, and A. Aldroubi, "In vivo fiber tractography using DT-MRI data", *Magn Reson Med*, vol. 44, no. 4, pp 625–632, 2000. doi:10.1002/1522-2594(200010)44:4<625::AID-MRM17>3.0.CO;2-O [pii]
- [94] S. Mori and P. C. van Zijl, "Fiber tracking: principles and strategies - a technical review", *NMR Biomed*, vol. 15, no. 7-8, pp 468–480, 2002. doi:10.1002/nbm.781
- [95] P. Mukherjee, S. W. Chung, J. I. Berman, C. P. Hess, and R. G. Henry, "Diffusion tensor MR imaging and fiber tractography: technical considerations". *AJNR Am J Neuroradiol*, col. 29, no. 5, pp 843–852, 2008. doi:ajnr.A1052 [pii] 10.3174/ajnr.A1052
- [96] 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", *Magn Reson Med*, vol. 16, no. 7, pp 68-78, 1990.
- [97] V. Lebon, P. G. Carlier, C. Brillault-Salvat, and A. Leroy-Willig, "Simultaneous measurement of perfusion and oxygenation changes using a multiple gradient-echo sequence: application to human muscle study", *Magn Reson Imaging*, vol. 16, no. 7, pp 721-729, 1998.
- [98] H. P. Ledermann, H. G. Heidecker, A. C. Schulte, et al., "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, 2006.
- [99] H. P. Lederman, A. C. Schulte, H. G. Heidecker, et al., "Blood oxygenation level-dependant magnetic resonance imaging of the skeletal muscle in patients with peripheral arterial occlusive disease", *Circulation*, vol. 113, no. 25, pp 2929-2935, 2006.
- [100] A. C. Schulte, M. Aschwanden and D. Bilecen, "Calf muscles at blood oxygen level-dependant MR imaging: aging effects at postocclusive reactive hyperemia", *Radiology*, vol. 274, no. 2, pp 482-489, 2008.
- [101] R. A. Meyer and B. M. Prior, "Functional magnetic resonance imaging of muscle", *Exerc Sport Sci Rev*, vol. 28, no. 2, pp 89-92, 2000.
- [102] M. D. Noseworthy, D. P. Bulte, and J. Alfonsi, "BOLD magnetic resonance imaging of skeletal muscle", *Semin Musculoskel Radiol*, vol. 7, no. 4, pp 307-315, 2003.
- [103] D. P. Bulte, J. Alfonsi, S. Bells, and M. D. Noseworthy, "Vaso-modulation of skeletal muscle BOLD signal", *J Magn Reson*, vol. 24, no. 4, pp 886-890, 2003.
- [104] T. F. Towse, J. M. Slade, J. A. Ambrose, M. C. DeLano, and R. A. Meyer, "Quantitative analysis of the post-contractile BOLD effect in human skeletal muscle", *International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM)*, vol. 22(suppl 1), pp 241-242, 2009.
- [105] I. Pauling, and C. D. Coryell, "The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbomonoxyhemoglobin", *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 22, no. 4, pp 210-216, 1936.
- [106] 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, 1998.
- [107] B. M. Damon, J. L. Hornberger, M. C. Wadington, D. A. Lansdown, and J. A. Kent-Braun, "Dual gradient-echo MRI of post-contraction changes in skeletal muscle blood volume and oxygenation", *Magn Reson Med*, vol. 57, no. 4, pp 670-679, 2007.
- [108] C. B. Bratton, A. L. Hopkins, and J. W. Weinberg, "Nuclear magnetic resonance studies of living muscle", *Science*, vol. 147, pp 738-739, 1965.

- [109] R. Cooke, R. Wein, "The state of water in muscle tissue as determined by proton nuclear magnetic resonance". *Biophys J.*, vol. 11, pp 1002, 1973.
- [110] P. S. Belton, R. R. Jackson, and K. J. Packer, "Pulsed NMR studies of water in striated muscle. Transverse nuclear spin relaxation times and freezing effects". *Biochim Biophys Acta*. Vol. 286, pp 16-25, 1972.
- [111] C. F. Hazlewood, D. C. Chang, B. K. Nichols and D. E. Woessner, "Nuclear magnetic resonance transverse relaxation times of water protons in skeletal muscle". *Biophys J.*, vol. 14, pp 583-606, 1974.
- [112] M. J. Fisher, R. A. Meyer, G. R. Adams, J. M. Foley and E. J. Potchen, "Direct relationship between proton T2 and exercise intensity in skeletal muscle MR images", *Invest Radiol*, vol. 25, pp 480-485, 1990.
- [113] B. M. Fung, and P. S. Puon, "Nuclear magnetic resonance transverse relaxation in muscle water". *Biophys J*, vol. 33, pp 27-37, 1981.
- [114] G. Saab, R. T. Thompson and G. D. Marsh, "Multicomponent T₂ relaxation of in vivo skeletal muscle". *Magn Reson Med*, vol. 42, pp 150-157, 1990.
- [115] G. Saab, R. T. Thompson and G. D. Marsh, "Effects of exercise on muscle transverse relaxation determined by MR imaging and in vivo relaxometry", *J Appl Physiol*, vol. 88, no. 1, pp 226-233, 2000.
- [116] A. T. Nygren and L. Kaijser, "Water exchange induced by unilateral exercise in active and inactive skeletal muscles", *J Appl Physiol*, vol 93, no. 5, pp 1716-1722, 2002. doi:10.1152/jappphysiol.01117.2001
- [117] O. Yanagisawa, T. Kurihara, N. Kobayashi and T. Fukubayashi, "Strenuous resistance exercise effects on magnetic resonance diffusion parameters and muscle-tendon function in human skeletal muscle", *J Magn Reson Imaging*, vol. 34, no. 4, pp 887-894, 2011.
- [118] O. Yanagisawa, D. Shimao, K. Maruyama and M. Nelson, "Evaluation of exercised or cooled skeletal muscle on the basis of diffusion-weighted magnetic resonance imaging. [Evaluation Studies]", *Eur J Appl Physiol*, vol. 105, no. 5, pp 723-729, 2009.
- [119] S. Sinha and U. Sinha, "Reproducibility Analysis of Diffusion Tensor Indices and Fiber Architecture of Human Calf Muscles in vivo at 1.5 Tesla in Neutral and Plantarflexed Ankle Positions at Rest", *J Magn Reson Imaging*, vol. 41, no. 1, pp 107-119, 2011.
- [120] C. J. Galban, S. Maderwald, K. Uffmann and M. E. Ladd, "A diffusion tensor imaging analysis of gender differences in water diffusivity within human skeletal muscle". *NMR Biomed*, vol. 18, no. 8, pp 489-498, 2005. doi:10.1002/nbm.975
- [121] J. H. Kan, A. M. Heemskerk, Z. Ding, A. Gregory, G. Mencio, K. Spindler and B. Damon, "DTI-based muscle fiber tracking of the quadriceps mechanism in lateral patellar dislocation", *J Magn Reson Imaging*, vol. 29, no. 3, pp 663-670, 2009.
- [122] Y. Okamoto, A. Kunimatsu, S. Miki, M. Shindo, M. Niitsu, and M. Minami, "Fractional anisotropy values of calf muscles in normative state after exercise: preliminary results", *Magn Reson Med Sci*, vol. 7, no. 3, pp 157-162, 2008. doi:JST.JSTAGE/mrms/7.157 [pii]
- [123] A. M. Heemskerk, T. K. Sinha, K. J. Wilson, Z. Ding and B. M. Damon, "Quantitative assessment of DTI-based muscle fiber tracking and optimal tracking parameters". *Magn Reson Med*, vol. 61, no. 2, pp 467-472, 2009. doi:10.1002/mrm.21819
- [124] G. Steidle and F. Schick, "Echoplanar diffusion tensor imaging of the lower leg musculature using eddy current nulled stimulated echo preparation". *Magn Reson Med*, vol. 55, no. 3, pp 541-548, 2006. doi:10.1002/mrm.20780
- [125] A. T. Nygren, D. Greitz, and L. Kaijser, "Changes in cross-sectional area in human exercising and non-exercising muscles", *Eur J Appl Physiol*, vol. 81, pp 210-213, 2000.
- [126] C. A. Ray, and A. L. Mark, "Sympathetic nerve activity to nonactive muscle of the exercising and non-exercising limb", *Med Sci Sports Exerc*, vol. 27, pp 183-187, 1994.
- [127] K. Rosler, H. Hoppeler, K. E. Conley, H. Claassen, P. Gehr, and H. Howald, "Transfer effects in endurance exercise. Adaptations in trained and untrained muscles", *Eur J Appl Physiol*, vol. 54, pp 355-362, 1985.
- [128] N. F. Lori, E. Akbudak, J. S. Shimony, T. S. Cull, A. Z. Snyder, R. K. Guillory, and T. E. Conturo, "Diffusion tensor fiber tracking of human brain connectivity: acquisition methods, reliability, analysis and biological results", *NMR Biomed*, vol. 15, no. 7-8, pp 494-515, 2002.

- [129] S. Wakana, A. Caprihan, M. M. Panzenboeck, J. H. Fallon, M. Perry, R. L. Gollub, K. Hua, J. Zhang, H. Jiang, P. Dubey, A. Blitz, P. van Zijl, and S. Mori, "Reproducibility of quantitative tractography methods applied to cerebral white matter", *Neuroimage*, vol. 36, no. 3, pp 630-644, 2007.
- [130] D. Bonekamp, L. M. Nagae, M. Degaonkar, M. Matson, W. M. Abdall, P. B. Barker, S. Mori, and A. Horska, "Diffusion tensor imaging in children and adolescents: reproducibility, hemispheric, and age-related differences", *Neuroimage*, vol. 34, no. 2, pp 733-742, 2007.
- [131] C. N. Maganaris, V. Baltzopoulos, and A. J. Sargeant, "In vivo measurements of the triceps surae complex architecture in man: implications for muscle function", *J Physiol*, vol. 512(Pt 2), pp 603-614, 1998.
- [132] A. D. Davis, B. Falk, and M. D. Noseworthy, "Comparison of EPI and two-shot spiral in/out for muscle BOLD imaging during exercise", *Magma*, vol. 22(suppl 1), pp 241-242, 2009.
- [133] D. K. Jones, M. Cercignani, "Twenty-five pitfalls in the analysis of diffusion MR data". *NMR in Biomedicine*, vol. 23, pp 803-820, 2010.
- [134] D. K. Jones, "The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI", *Magn Reson Med*, vol. 51, pp 807-815, 2004.
- [135] 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.
- [136] C. Gans, and W. J. Bock, "The functional significance of muscle architecture – a theoretical analysis", *Ergeb Anat Entwicklungsgesch*, vol. 38, pp 115-142, 1965.
- [137] T. G. Reese, O. Heid, R. M. Weisskoff, and V. J. Wedeen, "Reduction of eddy-current-induced distortion in diffusion MRI using a twice-refocused spin echo", *Magn Reson Med*, vol. 49, pp 177-182, 1997.
- [138] N. G. Papadakis, K. M. Martin, J. D. Pickard, L. D. Hall, T. A. Carpenter and CL-H. Huang, "Gradient preemphasis calibration in diffusion-weighted echo-planar imaging", *Magn Reson Med*, vol. 44, pp 616-624, 2000.
- [139] Y. Kawakami, "The Effects of Strength Training on Muscle Architecture in Humans", *International Journal of Sport and Health Science*, Vol. 3, pp 208-217, 2005.
- [140] I. Janssen, S. B. Heymsfield, Z. M. Wang and R. Ross, "Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 years", *J Appl Physiol*, vol. 89, pp 81-88, 2000.
- [140] D. Morvan, A. Leroy-Willig, A. Malgouyres, C. A. Cuenod, P. Jehenson and A. Syrota, "Simultaneous temperature and regional blood volume measurements in human muscle using an MRI fast diffusion technique", *Magn Reson Med*, vol. 29, pp 371-377, 1993.
- [141] L. L. Ploutz-Snyder, S. Nyren, T. G. Cooper, E. J. Potchen, and R. A. Meyer, "Different effects of exercise and edema on T2 relaxation in skeletal muscle," *Magn Reson Med*, vol. 37, no. 5, pp 676-682, 1997.
- [142] J. Rump, J. Braun, S. Papazoglou, M. Taupitz, and I. Sack, "Alterations of the proton-T₂ time in relaxed skeletal muscle induced by passive extremity flexions", *J Magn Reson Imaging*, vol. 23, no. 4, pp 541-546, 2006.
- [143] R. L. Lieber, "Skeletal muscle structure, function & plasticity – The physiological basis of rehabilitation", (2nd ed.), Lippincott Williams & Wilkins, 2002, Baltimore, USA.
- [144] K. Albracht, A. Arampatzis and V. Baltzopoulos, "Assessment of muscle volume and physiological cross-sectional area of the human triceps surae muscle in vivo", *J Biomech*, vol. 41, no. 10, pp 2211-2218, 2008.
- [145] S. R. Ward, C. M. Eng, L. H. Smallwood, R. L. Lieber, "Are current measurements of lower extremity muscle architecture accurate?", *Clin Orthop Relat Res*, vol. 467, pp 1074-82, 2009.

Anexos

Anexo A

Artigo publicado nas “Actas do 4º Congresso Nacional de Biomecânica”

Neste anexo encontra-se o artigo publicado nas “Actas do 4º Congresso Nacional de Biomecânica” em resultado de *abstract* submetido e aceite neste congresso (CNB 2011) e que depois foi seleccionado para apresentação oral no mesmo.

RECUPERAÇÃO DA ANISOTROPIA FRACCIONAL E COEFICIENTE DE DIFUSÃO APARENTE DO SOLEAR E TIBIAL ANTERIOR APÓS O EXERCÍCIO (WORK IN PROGRESS)

*Sérgio Alves¹, Mário Secca¹, Filipa João², António Veloso,² Michael Noseworthy³,
Cristina Menezes⁴*

¹ Departamento de Física, Cefitec, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Portugal

² Laboratório de Biomecânica e Morfologia Funcional, Faculdade de Motricidade Humana, Universidade Técnica de Lisboa, Portugal;

³ Electrical and Computer Engineering, School of Biomedical Engineering, McMaster University, Canada

⁴ Ressonância Magnética – Caselas, Lisboa, Portugal

PALAVRAS CHAVE: Anisotropia fraccional, coeficiente de difusão aparente, fadiga muscular.

RESUMO: *A imagem do tensor de difusão permite determinar a anisotropia fraccional e o coeficiente de difusão aparente, parâmetros que medem a difusão da água num tecido biológico, fornecendo assim informação acerca da disposição e orientação das suas fibras. Neste estudo pretende-se avaliar o efeito de uma sequência de saltos unipedais nestes parâmetros, referentes aos músculos solear e tibial anterior, bem como a recuperação dos mesmos após o exercício. Os resultados mostram que quer o coeficiente de difusão aparente, quer a anisotropia funcional foram afectados pelo exercício mas após a cessação deste, rapidamente regressaram aos valores de base/repouso. Isto pode indicar que o processo de recuperação se inicia brevemente após o fim do exercício. Assim, os estudos focados em alterações de parâmetros de tensor de difusão associados ao exercício devem iniciar a aquisição da sequência de imagens imediatamente após o esforço ou então podem originar dados incorrectos.*

1 INTRODUÇÃO

As técnicas avançadas de imagem de ressonância magnética são cada vez mais utilizadas na análise detalhada da estrutura, função e metabolismo do músculo esquelético [1]. Uma das técnicas de ressonância magnética mais recentes e promissoras é a imagem do tensor de difusão (DTI). O DTI permite determinar a anisotropia fraccional (FA) e o coeficiente de difusão aparente (ADC), parâmetros que medem a difusão da água num tecido biológico, fornecendo assim informação acerca da disposição e orientação das suas fibras. No tecido muscular, este é um dado extremamente importante, não só em termos fisiológicos mas sobretudo no que diz respeito à

arquitectura do músculo. O tecido musculoesquelético possui um grande conteúdo de proteína e, conseqüentemente, um elevado grau de moléculas de água a estas associadas. Esta técnica tem sido recentemente utilizada na avaliação de parâmetros estruturais do músculo (comprimento de fibra, ângulo de penação, área de secção transversal fisiológica) [2,3], uma vez que associado ao DTI está a tractografia, técnica que permite visualizar as fibras com elevado detalhe. Contudo, ainda são escassas as referências ao efeito do exercício nestes parâmetros [4]. A compreensão do processo de difusão a três dimensões é feita através de cálculo matricial. Se considerarmos a difusão uma matriz 3×3 (X, Y e Z), os três principais

eixos do tensor podem ser calculados através de um processo de diagonalização envolvendo *eigenvalues* (λ) e *eigenvectors* (ε) (Fig.1) [1]. Os *eigenvalues* fornecem informação relativa à forma da difusividade e os *eigenvectors* determinam a direcção da difusão (Fig.2). λ_1 representa a maior magnitude da difusão (ao longo do comprimento da fibra) enquanto que λ_2 e λ_3 representam as componentes de difusão transversais à fibra.

$$D = \begin{bmatrix} DD_{xx} & DD_{xy} & DD_{xz} \\ DD_{yx} & DD_{yy} & DD_{yz} \\ DD_{zx} & DD_{zy} & DD_{zz} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \end{bmatrix}$$

Fig. 1 Matriz de difusão.

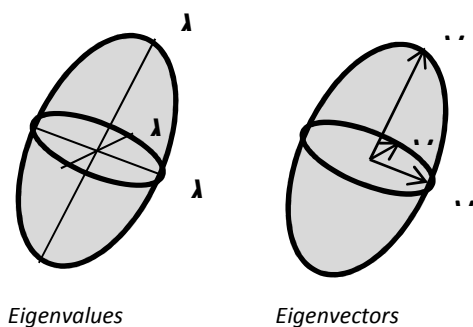


Fig. 2 Eigenvalues e Eigenvectors: exemplo de elipsóide de difusão para um voxel.

O FA deriva do DTI e é uma medida escalar de dependência direccional da difusão em cada voxel da imagem. Pode ser obtida através da seguinte formula:

$$FA = \frac{\sqrt{3}}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{(\lambda_1 - (D))^2 + (\lambda_2 - (D))^2 + (\lambda_3 - (D))^2}{(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}$$

Os valores de FA vão de 0 (perfeitamente isotrópico, difusão esférica) a 1 (quando $\lambda_1 \gg \lambda_2 = \lambda_3$, correspondendo a uma difusão cilíndrica).

O ADC é uma grandeza que caracteriza a difusão aparente nos tecidos. Este não deve ser confundido com a difusão verdadeira, já que

tem em conta os efeitos de barreiras celulares, tamanho e forma dos organitos celulares, etc.

O ADC pode ser obtido em cada voxel da imagem através da seguinte formula:

$$ADC = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3}$$

Assim, neste estudo pretende-se avaliar o efeito de uma sequência de saltos unipedais (ciclo muscular alongamento-encurtamento) no ADC e FA dos músculos solear e tibial anterior, bem como a recuperação destes mesmos parâmetros até aos valores iniciais.

2 MÉTODOS

O teste dividiu-se em três partes: 1) aquisição de uma sequência anatómica e uma DTI em situação de repouso (posição de decúbito dorsal; com as pernas apoiadas na zona posterior do joelho e no calcanhar, de forma a não comprimir os músculos; e com a articulação tálbio-társica fixa e estabilizada com cerca de 10° de flexão plantar), 2) realização do protocolo de exercício e 3) aquisição de várias sequências de DTIs durante cerca de 30 minutos e uma anatómica no fim. Todas as sequências DTI foram obtidas num sistema 1.5T Signa HDxt (GE) usando uma sequência axial EP padrão com 56 cortes, cobrindo as duas pernas através de uma bobine pélvica de 8 canais. Os parâmetros gerais utilizados foram os seguintes: b= 400, TE= 72.2ms, TR= 10000ms, número de excitações (NEX)= 1, campo de visão (FOV)= 40x40cm, matriz 64x64, SI Th= 4.0mm e Sp= 0, duração de cada aquisição= 1min 20s. Um jovem adulto (29 anos de idade e 1.65m de altura) foi avaliado. Após a aquisição do DTI pré-exercício, o sujeito realizou uma sequência de saltos unipedais até à exaustão. O controlo do salto foi feito com base numa altura mínima que o sujeito deveria alcançar em cada salto (80%

da altura máxima num “squat jump”). Após o exercício, o sujeito foi colocado novamente nas mesmas condições da primeira aquisição de dados e de seguida foram realizadas 11 seqüências de DTI, durante cerca de 30 minutos. O tratamento das imagens foi feito no software MedINRIA- Asclepios Research Project, France, onde se delimitaram regiões de interesse (ROIs) (Fig.3) contornando os músculos solear (SOL) e tibial anterior (TA) em ambas as pernas. Os parâmetros FA e ADC dessas regiões foram de seguida determinados. Foi ainda realizada a tractografia das fibras musculares da perna, dados esses que estão actualmente a ser analisados (Fig.4).

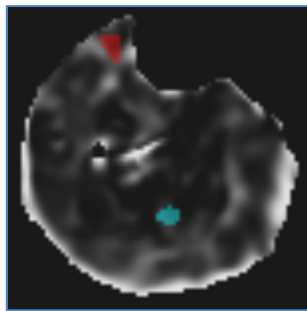


Fig. 3 DTI com as regiões de interesse (ROIs) delimitadas: a encarnado – porção do tibial anterior, a azul – porção do solear.

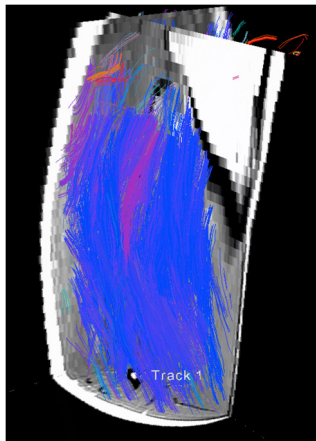


Fig. 4 Tractografia do volume em estudo (perna dta.).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a análise dos dados no MedINRIA obtiveram-se os seguintes resultados (Fig.4):

antes do exercício físico os valores de ADC para a perna direita eram 2.23×10^{-9} mm²/s (SOL) e 1.90×10^{-9} mm²/s (TA); e 2.57×10^{-9} mm²/s (SOL) e 2.01×10^{-9} mm²/s (TA) para a perna esquerda. No caso do FA os valores pré-exercício eram para a perna direita 0.24 (SOL) e 0.30 (TA) e para a perna esquerda 0.26 (SOL) e 0.33 (TA).

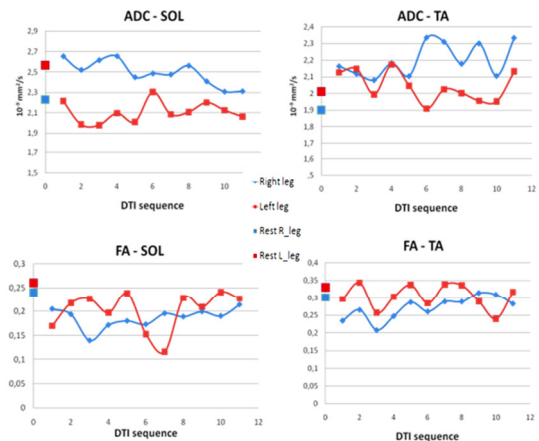


Fig. 4 ADC e FA dos músculos SOL e TA (perna direita – azul, perna esquerda – encarnado, valor de repouso da perna direita - Rest R_leg, valor de repouso da perna esquerda – Rest L_leg).

Após o exercício observou-se que o ADC do músculo solear da perna direita aumentou comparativamente com o ADC do solear esquerdo nas primeiras seqüências DTI. Posteriormente, ocorre um regresso aos valores iniciais, aproximando-se dos valores do solear esquerdo.

Os ADC's dos músculos TA têm um comportamento similar após a 5^a seqüência DTI. Antes disso, os valores de ADC de ambos os TA encontram-se sobreponíveis. Este acontecimento pode ser devido ao facto da perna esquerda encontrar-se suspensa durante o exercício, existindo numa pequena escala uma certa tensão no TA que acaba por ser solicitado na realização da tarefa. Este efeito não é, no entanto, tão acentuado como no TA direito.

Desta forma, os valores de ADC do TA esquerdo regressam aos seus valores de base mais rapidamente. Os primeiros valores de FA para o solear direito pós-exercício estão a decrescer ao contrário do que era esperado. Uma possível explicação para esse decréscimo inicial pode ser o facto de que o músculo nos primeiros momentos após a cessação de actividade ainda estar sujeito aos efeitos de instalação de fadiga, resultando num comportamento anormal do FA. Após esta descida, os valores iniciam uma subida progressiva, retornando aos valores de base pretendidos. Os valores de FA do TA direito também decrescem no início e depois retornam lentamente aos valores de base, facto que também pode ser explicado pela razão fornecida previamente.

4 CONCLUSÃO

Neste estudo, mediram-se os valores de ADC e FA nos músculos solear e tibial anterior de ambas as pernas simultaneamente. Pode-se observar uma tendência nos dois parâmetros DTI analisados após o exercício. O ADC e FA foram afectados pelo exercício, mas após a cessação deste, os valores rapidamente regressaram aos valores de base/repouso. Isto pode indicar que o processo de recuperação se inicia brevemente após o fim do exercício. Assim, os estudos que se foquem em alterações de parâmetros DTI associados ao exercício devem iniciar a aquisição de imagens logo após os testes de esforço ou então podem originar dados incorrectos. Encontraram-se algumas limitações e/ou sugestões para próximos estudo deste género: 1) Estes são dados preliminares e

mais casos devem ser estudados, 2) Alguns valores não regressaram aos valores de base nos tempos de exame usados, o que sugere que se deve aumentar o número de aquisições e cobrir uma escala temporal maior, 3) os ROI's poderiam cobrir a totalidade da área do músculo, 4) a posição da articulação tibi-társica não foi controlada (o que poderá ter influenciado alguns resultados).

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia através da bolsa do Projecto R&D: *Desenvolvimento de metodologias experimentais e de modelação para a avaliação da carga mecânica no sistema músculo-esquelético* com a referência PTDC/DES/103178/2008.

REFERÊNCIAS

- [1] M.D. Noseworthy, A.D. Davis, A.H. Elzibak "Advanced MR Imaging Techniques for Skeletal Muscle Evaluation", *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, 14(2), 257-268, 2010.
- [2] A. M. Heemskerk, B. Damon, "Diffusion Tensor MRI Assessment of Skeletal Muscle Architecture", *Current Medical Imaging Reviews*, 3, 152 – 160, 2007.
- [3] D. A. Lansdown, Z. Ding, M. Wadington, J. L. Hornberger, B. M. Damon "Quantitative diffusion tensor MRI-based fiber tracking of human skeletal muscle", *J Appl Physiol*, 103, 673 – 681, 2007.
- [4] Y. Okamoto, A. Kunimatsu, S. Miki, M. Shindo, M. Nitsu, M. Minami "Fractional Anisotropy values of calf muscles in normative state after exercise: preliminary results", *Magn Reson Med Sci*, 7, 3, 157 – 162, 2008.

Anexo B

Artigo publicado no Livro de Actas do CLAIB 2011

Encontra-se em anexo o artigo submetido para o *V Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica* que decorreu de 16 a 21 de Maio de 2011 em Havana, Cuba. Este publicado no Livro "*Actas do V Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica*" e selecionado para apresentação oral no mesmo congresso.

Recovery of leg muscle ADC and FA after fatigue – Preliminary results

S. Alves¹, F. João², M. Forjaz Secca^{1,3}, M. Noseworthy^{4,5}, A. Veloso², and C. Menezes³

¹Physics Department, Cefitec, Monte de Caparica, Portugal

²Faculdade de Motricidade Humana, UTL, Lisboa, Portugal

³Ressonancia Magnética – Caselas, Lisboa, Portugal

⁴Electrical and Computer Engineering, School of Biomed. Eng., McMaster University, Hamilton, Canada

⁵Medical Physics and Applied Radiation Sciences, McMaster University, Hamilton, Canada

Abstract— To include fatigue in DTI study of muscle in high level athletes we must know how quickly the parameters recover to rest state. We acquired DTI data at rest, and after a one-legged jump using the unused leg as reference, measuring ADC and FA on Soleus and Tibialis Anterior muscles in both legs simultaneously. ADC and FA values were affected by the exercise, but rapidly returned to rest values, suggesting the recovery process begins closely to the end of the exercise. Studies focused on DTI changes with exercise should start the acquisition right after effort tests, to produce correct data.

Keywords— Biomechanics, Exercise, Imaging.

INTRODUCTION

One of the most promising recent MR techniques is DTI with its several parameters, like ADC (Apparent Diffusion Coefficient) and FA (Fractional Anisotropy), which can give us interesting physiological data. Recently there has been an increased use of this technique in the assessment of skeletal muscle architecture, as well as the effect of exercise in the muscle tissue. [1]

We are interested in using MRI data to assess muscle fatigue in high level athletes, using a range of techniques that will give us different information on muscle anatomy and physiology throughout the different stages of exercise. Specifically we pretend to evaluate how quickly the muscle DTI parameters of ADC and FA recover after a strenuous exercise leading to fatigue, an aspect that to our knowledge hasn't been extensively studied to date. [2]

METHODS

All DTI images were obtained on a 1.5T Signa HDxt (GE) using a standard EP axial DTI sequence with 56 slices covering both legs by means of the use of a pelvic 8 channel coil.

The main acquisition parameters were as follows:

b = 400,
TE = 72.2 ms,
TR = 10000 ms;

NEX= 1;
FOV = 40x40 cm;
64x64 matrix;
SI Th = 4.0 mm and Sp = 0.0;
Scan time = 1:20.

We studied a female volunteer at rest and after she exercised the right leg through consecutive one-legged jumps. The reason for this was so that we could use the left leg that did not exercise as an internal reference for the baseline. The first DTI images were acquired while the volunteer was at rest, then she left the scanner and performed the exercise until complete exhaustion and could not jump anymore. After that she was quickly strapped in and scanning was started. The time between the end of the exercise and the beginning of the first DTI sequence, including localizers and prep sequences, was only 5 minutes. We then proceeded to acquire a series of 11 DTI sequences, for nearly 30 minutes as the leg recovered back to the resting state. ROI's were marked on areas of the Soleus (Sol) and Tibialis Anterior (TA) of both legs in similar locations and data was collected on all DTI sequences. [Fig. 1]

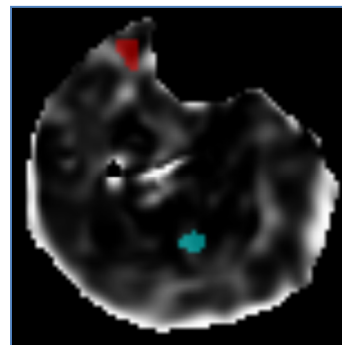


Fig. 1 – ROI's on a FA image (Sol– Blue, TA – Red) We also performed tractography of the muscle fibers of the leg, which are in the process of further analysis. [Fig. 2]

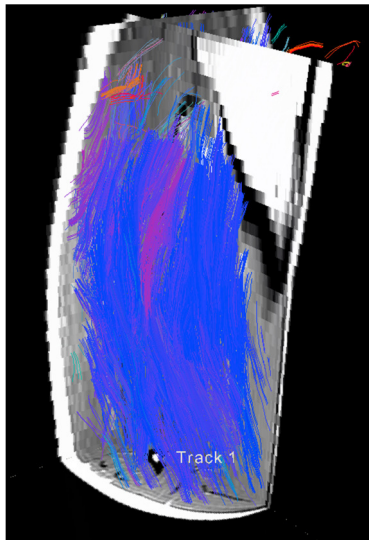


Fig. 2 – Tractography of the volume in study (Right leg)

RESULTS AND DISCUSSION

After analysis of the data in a dedicated Diffusion Tensor software (MedINRIA, Asclepios Research Project, France) we obtained the following results:

Before the exercise the value of the ADC of the right leg was 2.23×10^{-9} mm²/s (Sol) and 1.90×10^{-9} mm²/s (TA) and for the left leg 2.57×10^{-9} mm²/s (Sol) and 2.01×10^{-9} mm²/s (TA). The values of FA before exercise for the right leg were 0.24 (Sol) and 0.30 (TA) and for the left leg 0.26 (Sol) and 0.33 (TA).

After the stretching/shortening cycle exercise we can see that ADC of the right Soleus increases in comparison with the ADC of the left Soleus in the first DTI sequences. Afterwards it slowly returns to the baseline value, approximating to the values of the left Soleus. [Fig. 3]

The ADC's of the TA muscles have a similar behavior after the 5th DTI sequence. Before that, the ADC values of the right and left TA remain superimposable. This could be explained by the fact that during the exercise the left leg is suspended when jumping and there exists, on a lesser scale, a certain tension on the TA that consequently fatigues the muscle. So, the ADC value of the left TA returns to its baseline more rapidly. [Fig. 3] The first values of the FA for the right Soleus after exercise are decreasing contrarily of what expected. One of the possible reasons for this initial decrease could be the fact that the muscle on the first moments after ceasing activity remains suffering the effect of

fatigue, resulting in an abnormal behavior of the FA. After that it initiates a progressive climb returning to the baseline values. The FA of the right TA also decreases at first and then slowly returns to the initial values, fact that can also be explained by the reason presented before.

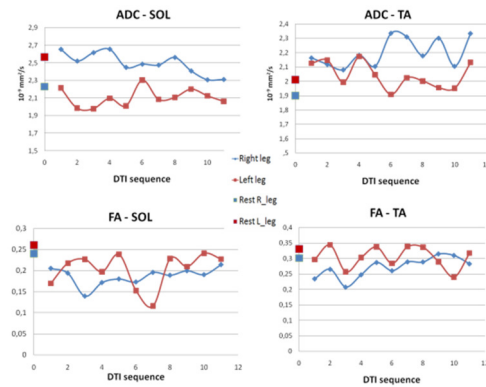


Fig. 3 ADC and FA of the right and left Sol and TA muscles.

CONCLUSIONS

In this study, we measured ADC and FA of the muscles in both legs simultaneously. It could be observed a trend on both DTI parameters after the exercise. The ADC and FA values were affected by the exercise, but after that the values rapidly returned to the baseline/rest values. This could suggest that the recovery process begins closely to the end of the exercise. Therefore, study's that are focused on the DTI changes with exercise should start the acquisition right after the effort tests, otherwise they can incur on loss of data. We have encountered some limitations and/or suggestions:

- 1) The sample size should be increased,
- 2) Some values didn't return to the baseline in the DTI time table used, which can be a good indicator for increasing the number of acquisitions,
- 3) the ROI's could cover the totality of the muscle area,
- 4) the ankle position was not controlled (which could have influenced the results).

REFERENCES

- Yanagisawa O., *et al.*, Eur J Appl Physiol (2009) 105:723–729
 Okamoto, Y., *et al.*, Magn Reson Med Sci (2008) 7(3):157–162

Anexo C

Artigo publicado no Journal of Biomechanics, Vol.45 (Elsevier, 2012)

O artigo presente neste anexo foi publicado no *Journal of Biomechanics, Volume 45, Supplement 1*, resultado de um *abstract* submetido e aceite para o *18th Congresso of the European Society of Biomechanics* que decorreu em Lisboa no período de 1 a 4 de Julho de 2012.

Referência:

Secca, M. F., Alves, S., Noseworthy, M., João, F., Veloso, A., *Recovery of Leg Muscle ADC and FA after Fatigue (Work in Progress)*, J Biomech 45 (S1), S457, Elsevier, 2012.

DOI: 10.11016/S0021-9290(12)70458-X

RECOVERY OF LEG MUSCLE ADC AND FA AFTER FATIGUE (WORK IN PROGRESS)

Mário Forjaz Secca (1,2), Sérgio Alves (1), Michael Noseworthy (3), Filipa João (4),
António Veloso (4)

1. Physics Department, Cefitec, Monte de Caparica, Portugal; 2. Ressonância Magnética - Caselas, Portugal; 3. Medical Physics and Applied Radiation Sciences, McMaster University, Canada; 4. Faculty of Human Kinetics, UTL, Portugal

Introduction

One of the most promising recent MR techniques is DTI with its several parameters, like ADC (Apparent Diffusion Coefficient) and FA (Fractional Anisotropy), which can give us interesting physiological data. Recently there has been an increased use of this technique in the assessment of skeletal muscle architecture, as well as the effect of exercise in the muscle tissue. [Yanagisawa, 2009]. We are interested in using MRI data to assess muscle fatigue in high level athletes, using a range of techniques that will give us different information on muscle anatomy and physiology throughout the different stages of exercise. Specifically we pretend to evaluate how quickly the muscle DTI parameters of ADC and FA recover after a strenuous exercise leading to fatigue, an aspect that to our knowledge hasn't been extensively studied to date [Okamoto, 2008].

Methods

All DTI images were obtained on a 1.5T Signa HDxt (GE) using a standard EP axial DTI sequence with 56 slices covering both legs by means of the use of a pelvic 8 channel coil. The main acquisition parameters were as follows: b = 400, TE = 72.2 ms, TR = 10000 ms; NEX= 1; FOV = 40x40 cm; 64x64 matrix; SI Th = 4.0 mm and Sp = 0.0; Scan time = 1:20. We studied a female volunteer at rest and after she exercised the right leg through consecutive one legged jumps. The first DTI images were acquired while the volunteer was at rest, then she left the scanner and performed the exercise until complete exhaustion. After that she was quickly strapped in and scanning was started. We then proceeded to acquire a series of 11 DTI sequences, for nearly 30 minutes as the leg recovered back to the resting state. ROI's were marked on areas of the Soleus (Sol) and Tibialis Anterior (TA) of both legs in similar locations and data was collected on all DTI sequences. (Fig. 1)

Results and Discussion

Before the exercise the ADC of the right leg was 2.23×10^{-9} mm²/s (Sol) and 1.90×10^{-9} mm²/s (TA) and for the left leg 2.57×10^{-9} mm²/s (Sol) and 2.01×10^{-9} mm²/s (TA). The FA before exercise for the right leg where 0.24 (Sol) and

0.30 (TA) and for the left leg 0.26 (Sol) and 0.33 (TA). After the stretching/shortening cycle exercise we can see that ADC of the right Soleus increases in comparison with the ADC of the left Soleus in the first DTI sequences. Afterwards it slowly returns to the baseline value, approximating to the values of the left Soleus. The ADC's of the TA muscles have a similar behavior after the 5th DTI sequence. Before that, the ADC values of the right and left TA remain superimposable. Perhaps during the exercise the left leg is suspended when jumping and there exists a certain tension on the TA that consequently fatigues the muscle. So, the ADC value of the left TA returns to its baseline more rapidly. The first values of the FA for the right Soleus after exercise are decreasing contrarily of what expected. One of the possible reasons for this initial decrease could be the fact that the muscle on the first moments after ceasing activity remains suffering the effect of fatigue, resulting in an abnormal behavior of the FA. After that it initiates a progressive climb returning to the baseline values. The FA of the right TA also decreases at first and then slowly returns to the initial values. This could suggest that the recovery process begins closely to the end of the exercise. Therefore, study's that are focused on the DTI changes with exercise should start the acquisition right after the exercise task.

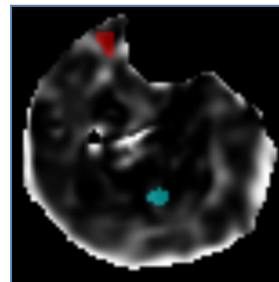


Figure 1: ROI's on a FA image (Sol-Blue, TA-Red)

References

- Yanagisawa *et al*, Eur J Appl Physiol, 105:723–729, 2009.
Okamoto *et al*, Magn Reson Med Sci, 7(3):157-162, 2008.

Anexo D

Poster apresentado no ESB 2012

Está presente neste anexo o poster intitulado de “*Recovery of leg muscle ADC and FA after fatigue (Work in Progress)*” apresentado no *18th Congresso of the European Society of Biomechanics* que decorreu em Lisboa no período de 1 a 4 de Julho de 2012.

RECOVERY OF LEG MUSCLE ADC AND FA AFTER FATIGUE (WORK IN PROGRESS)

SÉRGIO ALVES¹; MÁRIO FORJAZ SECCA^{1,2}; MICHAEL NOSEWORTHY³; FILIPA JOÃO⁴; ANTÓNIO VELOSO⁴.

¹Physics Department, Cefitec, Monte de Caparica, Portugal; ²Ressonância Magnética - Caselas, Portugal; ³Medical Physics and Applied Radiation Sciences, McMaster University, Canada; ⁴Faculty of Human Kinetics, UTL, Portugal.

Introduction

One of the most promising recent MR techniques is DTI with its several parameters, like ADC (Apparent Diffusion Coefficient) and FA (Fractional Anisotropy), which can give us interesting physiological data [Noseworthy, 2010]. Recently there has been an increased use of this technique in the assessment of skeletal muscle architecture [Heemskerck, 2007] as well as the effect of exercise in the muscle tissue. [Yanagisawa, 2009]. We are interested in using MRI data to assess muscle fatigue in high level athletes, using a range of techniques that will give us different information on muscle anatomy and physiology throughout the different stages of exercise. Specifically we pretend to evaluate how quickly the muscle DTI parameters of ADC and FA recover after a strenuous exercise leading to fatigue, an aspect that to our knowledge hasn't been extensively studied to date [Okamoto, 2008].

Methods

All DTI images were obtained on a 1.5T Signa HDxt (GE) using a standard EP axial DTI sequence with 56 slices covering both legs by means of the use of a pelvic 8 channel coil. The main acquisition parameters were as follows: b = 400, TE = 72.2 ms, TR = 10000 ms; NEX= 1; FOV = 40x40 cm; 64x64 matrix; SI Th = 4.0 mm and Sp = 0.0; Scan time = 1:20. We studied a female volunteer at rest and after she exercised the right leg through consecutive one legged jumps. The first DTI images were acquired while the volunteer was at rest, then she left the scanner and performed the exercise until complete exhaustion. After that she was quickly strapped in and scanning was started. We then proceeded to acquire a series of 11 DTI sequences, for nearly 30 minutes as the leg recovered back to the resting state. ROI's were marked on areas of the Soleus (Sol) and Tibialis Anterior (TA) of both legs in similar locations and data was collected on all DTI sequences. (Fig. 1)

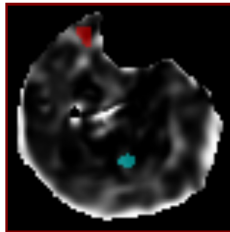


Figure 1: ROI's on a FA image (Sol-Blue, TA-Red)

Results and Discussion

After analysis of the data in a dedicated software (MedINRIA, Asclepios Research Project, France) we obtained the following results: Before the exercise the value of the ADC of the right leg was $2.23 \times 10^{-9} \text{ mm}^2/\text{s}$ (Sol) and $1.90 \times 10^{-9} \text{ mm}^2/\text{s}$ (TA) and for the left leg $2.57 \times 10^{-9} \text{ mm}^2/\text{s}$ (Sol) and $2.01 \times 10^{-9} \text{ mm}^2/\text{s}$ (TA). The values of FA before exercise for the right leg were 0.24 (Sol) and 0.30 (TA) and for the left leg 0.26 (Sol) and 0.33 (TA). After stretching and shortening cycle exercise we can see that ADC of the right Soleus increases in comparison with the ADC of the left Soleus in the first DTI sequences. Afterwards it slowly returns to the baseline values,

approaching the values of the left Soleus. (Fig. 2) The ADC's of the TA muscles have a similar behavior after the 5th DTI sequence. Before that, the ADC values of the right and left TA remain superimposable. This could be explained by the fact that during the exercise the left leg is suspended when jumping and there exists, on a lesser scale, a certain tension on the TA that consequently fatigues the muscle. So, the ADC value of the left TA returns to its baseline more rapidly. (Fig. 2) The first values of the FA for the right Soleus after exercise are decreasing contrarily of what expected. One of the possible reasons for this initial decrease could be the fact that the muscle on the first moments after ceasing activity remains suffering the effect of fatigue, resulting in an abnormal behavior of the FA. After that it initiates a progressive climb returning to the baseline values. The FA of the right TA also decreases at first and then slowly returns to the initial values, fact that can also be explained by the reason presented before.

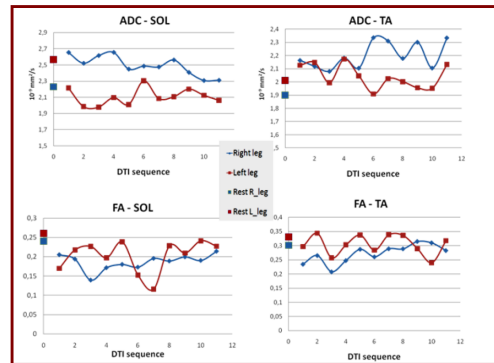


Figure 2: ADC and FA of the right and left Sol and TA muscles

Conclusion

In this study, we measured ADC and FA of the muscles in both legs simultaneously. A trend could be observed on both DTI parameters after the exercise. The ADC and FA values were affected by the exercise, but after that the values rapidly returned to the baseline/rest values. This could suggest that the recovery process begins closely to the end of the exercise. Therefore, study's that are focused on the DTI changes with exercise should start the acquisition right after the effort tests, otherwise they can incur on loss of data. We have encountered some limitations and/or suggestions for future investigations: 1) The sample size should be increased, 2) Some values didn't return to the baseline in the DTI time table used, which can be a good indicator for increasing the number of acquisitions, 3) the ROI's could cover the totality of the muscle area, 4) the ankle position was not controlled (which could have influenced the results).

Bibliography

Noseworthy, M., et al., *Seminars in Musculoskeletal Radiology* (2010) 14 (2):257-268
 Heemskerck, A., et al., *Current Medical Imaging Reviews* (2007) 3:152-160.
 Yanagisawa, O., et al., *Eur J Appl Physiol* (2009) 105:723-729.
 Okamoto, Y., et al., *Magn Reson Med Sci* (2008) 7(3):157-162.

Anexo E

Poster Eletrónico apresentado no ESMRMB 2012

O seguinte poster eletrónico foi apresentado no *29th Annual Scientific Meeting*, organizado pela *European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology* (ESMRMB) e que se realizou em Lisboa de 4 a 6 de Outubro de 2012. Este trabalho esteve disponível nos diversos expositores electrónicos e no "*Proceedings of the 29th Annual Scientific Meeting of the ESMRMB*". O título deste poster foi "*The assessment of the effect of fatigue on muscle architecture through Diffusion Tensor Imaging (DTI) parameters*".

ESMRMB 2012

European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology

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



The assessment of the effect of fatigue on muscle architecture through Diffusion Tensor Imaging (DTI) parameters

e-Poster: 49

Congress: ESMRMB 2012

Type: Scientific Poster

Topic: Preclinical Studies and Basic Science / Diffusion

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

MeSH:

Leg [A01.378.610.500]

Muscle Fibers [A02.633.565]

Muscle, Skeletal [A02.633.567]

Muscle Fatigue [G11.427.713.570]

Keywords: Muscle, DTI, Fatigue, Muscle architecture

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.esmrm.org

PURPOSE

The use of Diffusion Tensor Imaging (DTI) sequences in MRI studies other than the brain has been increasing regularly. DTI data gives us information on the diffusion of water in living tissues and can therefore provide us indirect help in the assessment of skeletal muscle architecture, as well as the effect of exercise on the muscle tissue.

In this study, we aim to evaluate the changes on DTI parameters (as functional anisotropy (FA), anisotropic diffusion coefficient (ADC) and the 3 eigenvalues) of different muscles of the lower leg when submitted to a short and intense exercise.

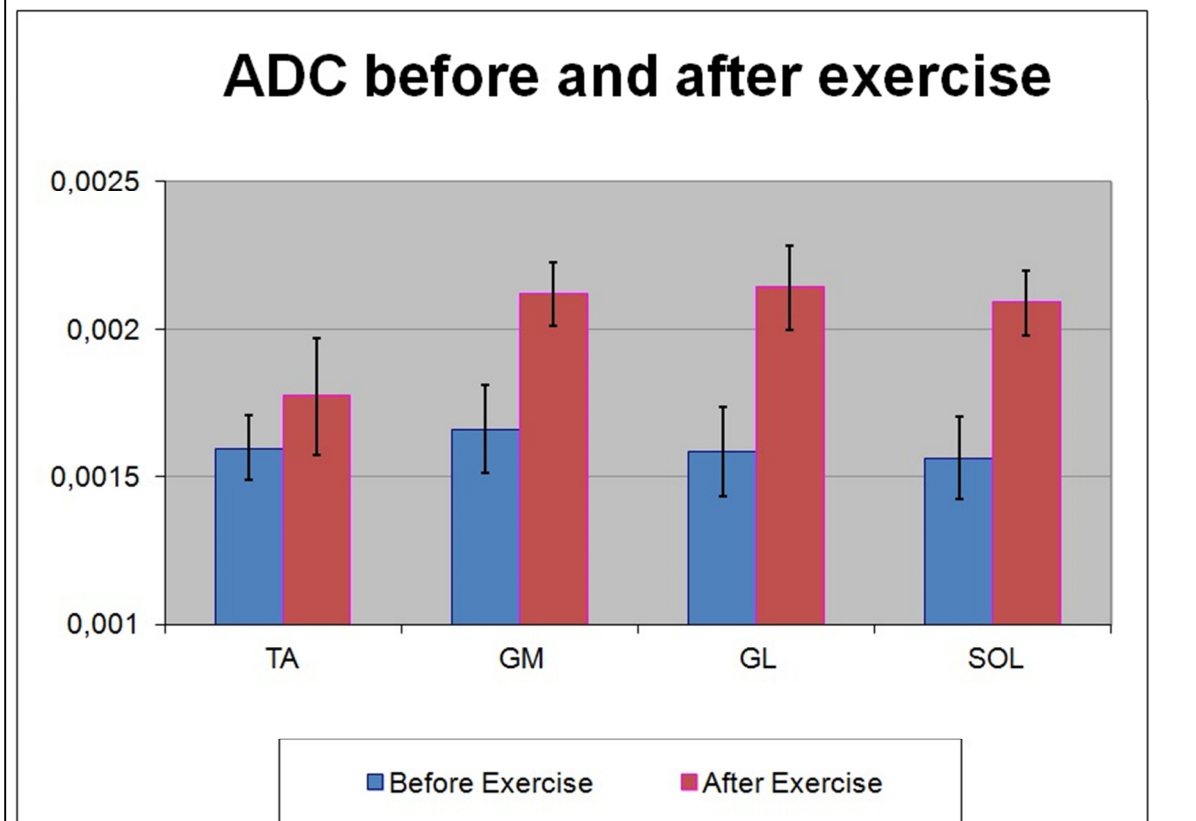
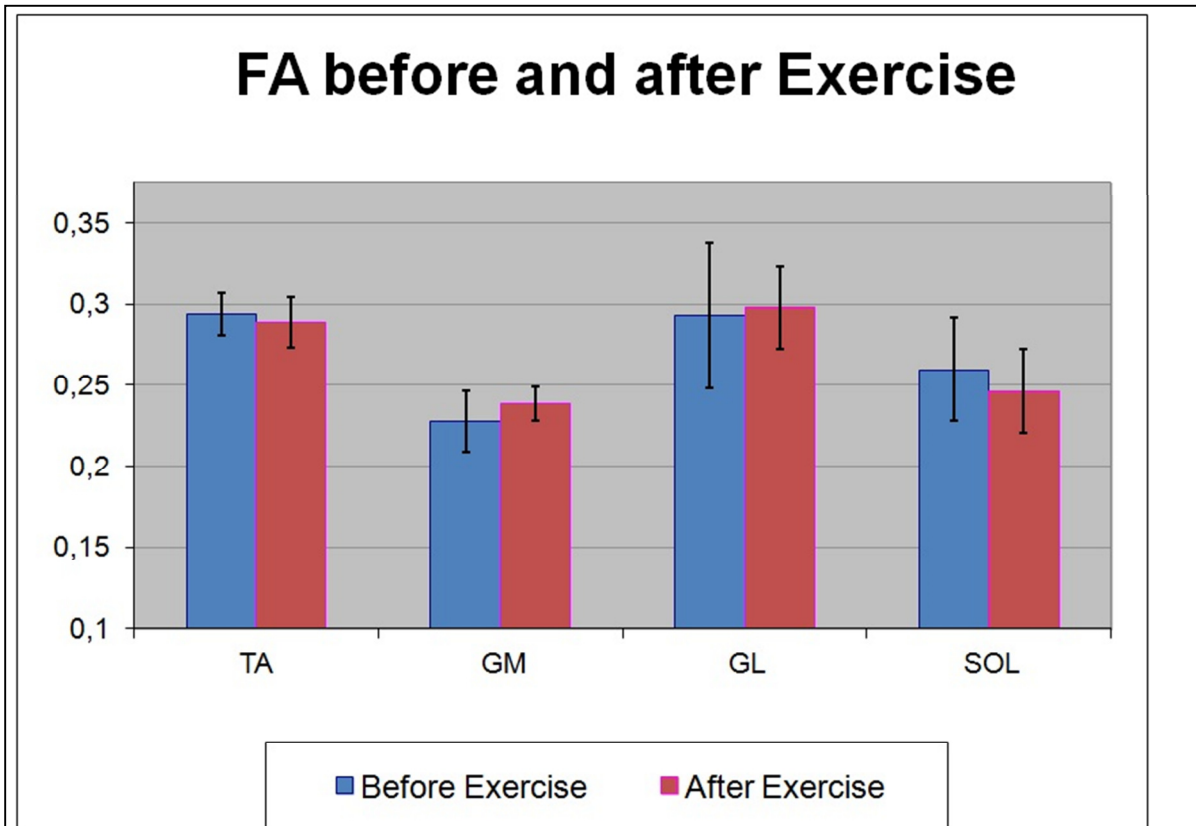
METHODOLOGY

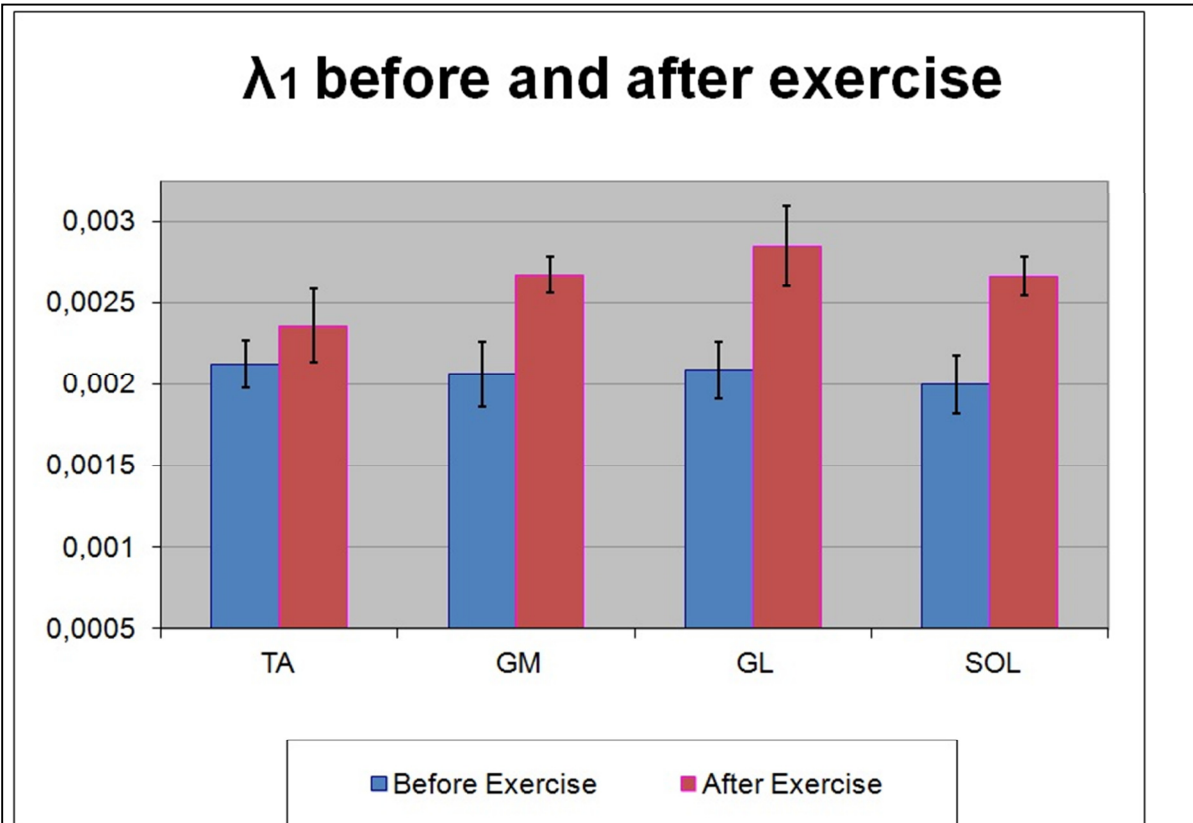
We studied the dominant leg of seven informed volunteers (all females, average age 24 ± 4 years) using the same protocol on a 1.5T Signa HDxt (GE): Anatomical Proton Density (PD) weighted sequences (56 slices; Thickness = 3,9mm; TE = 7,6ms; TR = 4140ms) covering the most voluminous part of the lower leg and standard echo-planar axial DTI sequences (56 slices; Thickness = 3,9mm; b = 400; TE = 72,2ms; TR = 10000ms; NEX = 4; 16 directions, matrix = 64x64) covering the same volume. This protocol was performed before and immediately after exercise. Fatigue was accomplished by consecutive one legged jumps until complete exhaustion. Immobilization of the leg and ankle position during image acquisitions was achieved using a “home-made” and “purpose-built” support. In this way movement artifacts and the influence of ankle position on the DTI parameters as reported on other studies were reduced or removed. Simultaneously, this support also allowed for the leg muscles not to be deformed against the examination table.

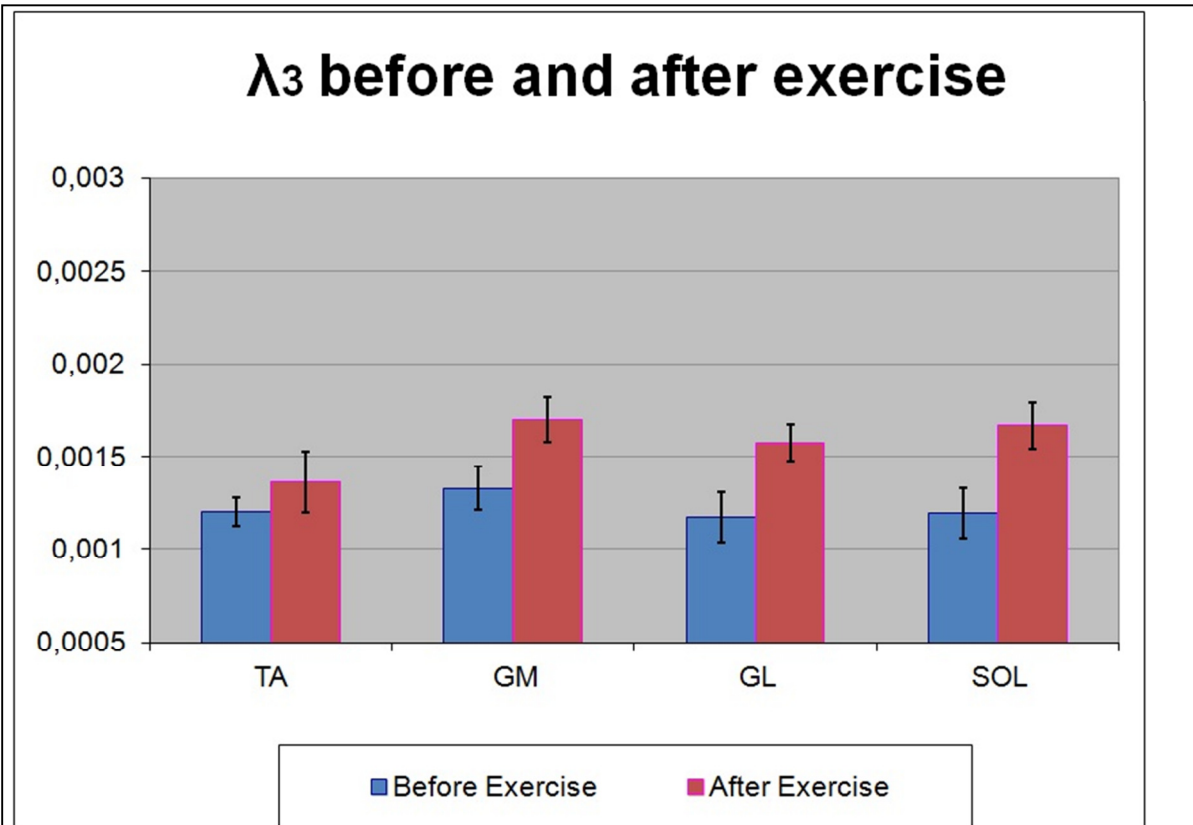
After processing of the images (eddy-current artifacts and movement correction, image registration, etc.), ROI's were traced on the Tibialis Anterior (TA), Gastrocnemius Medial (GM), Gastrocnemius Lateral (GL) and Soleus (Sol) on three different slices where muscles presented themselves more clearly defined and with a larger area, taking care that fascia, fat or blood vessels were not included. The same ROI's were used on the pre- and post-exercise for each subject. The DTI parameters of interest were then obtained using dedicated software (TrackVis, Martinos Center, USA) and analyzed statistically.

RESULTS

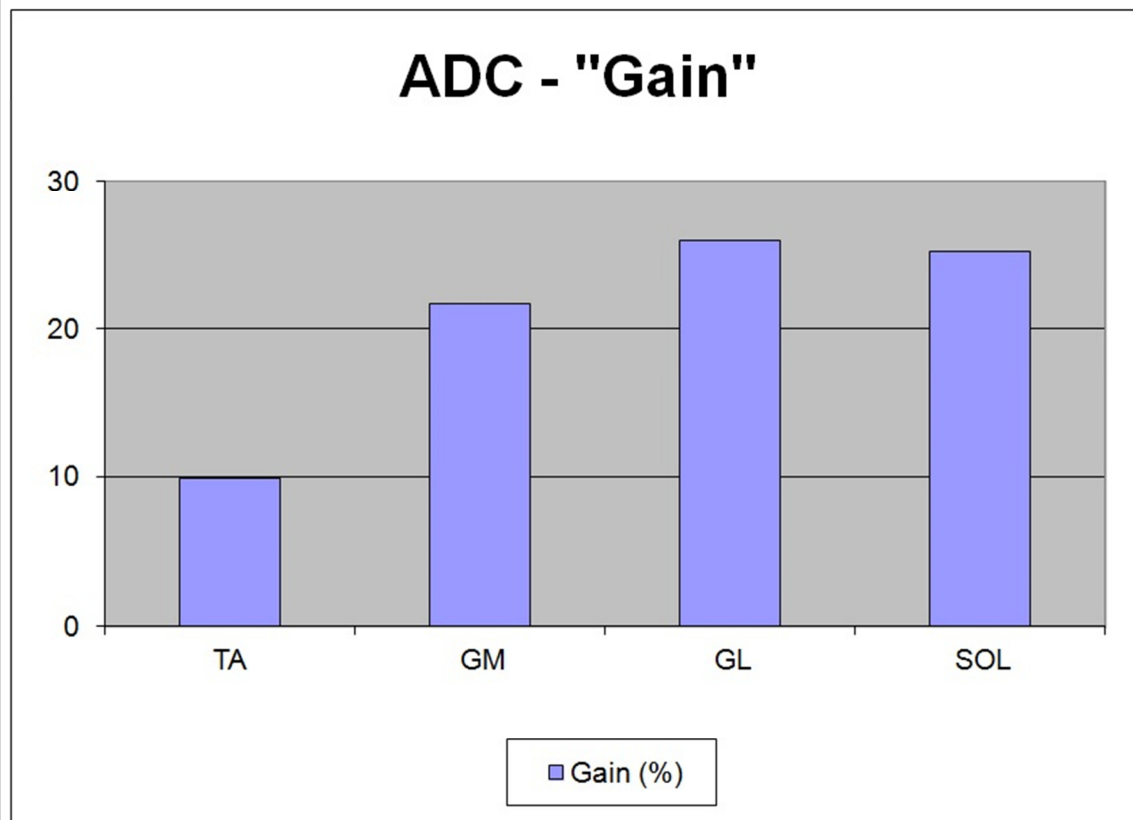
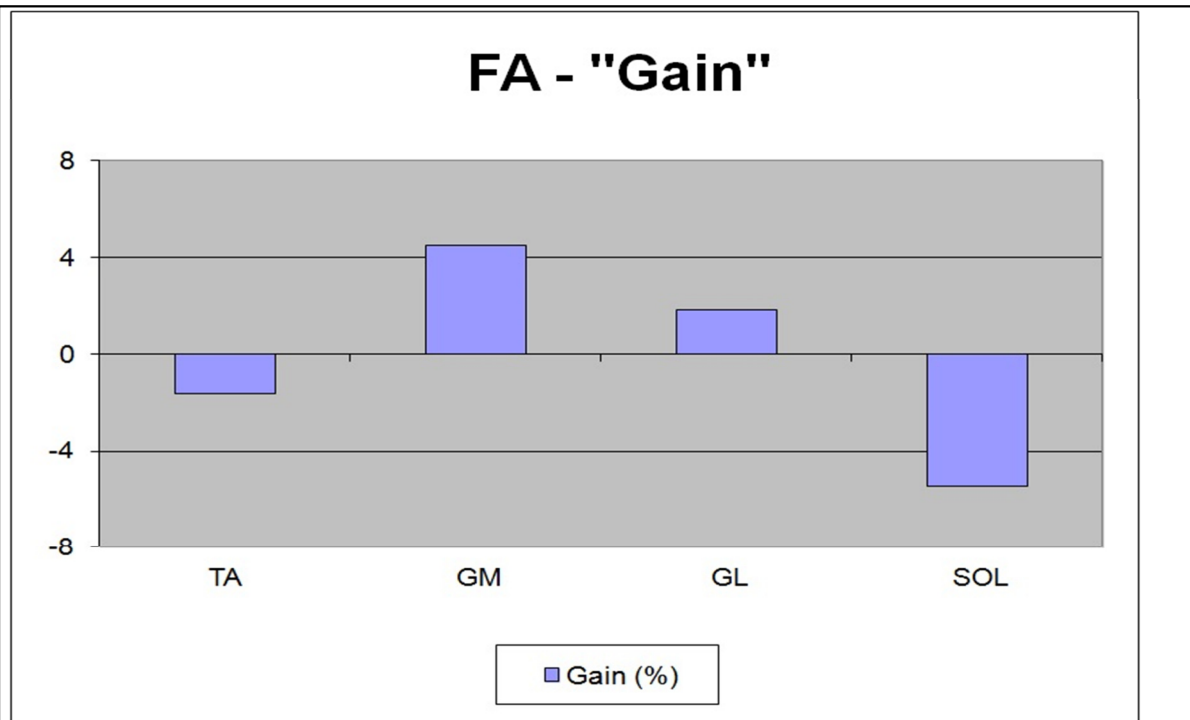
The FA values obtained after exercise were inferior to the values before exercise on the TA and SOL muscles and superior on the GM and GL muscles. The ADC increased with fatigue in all studied muscles. In the same way, all the eigenvalue values – λ_1 , λ_2 , λ_3 – also increased after intense exercise.

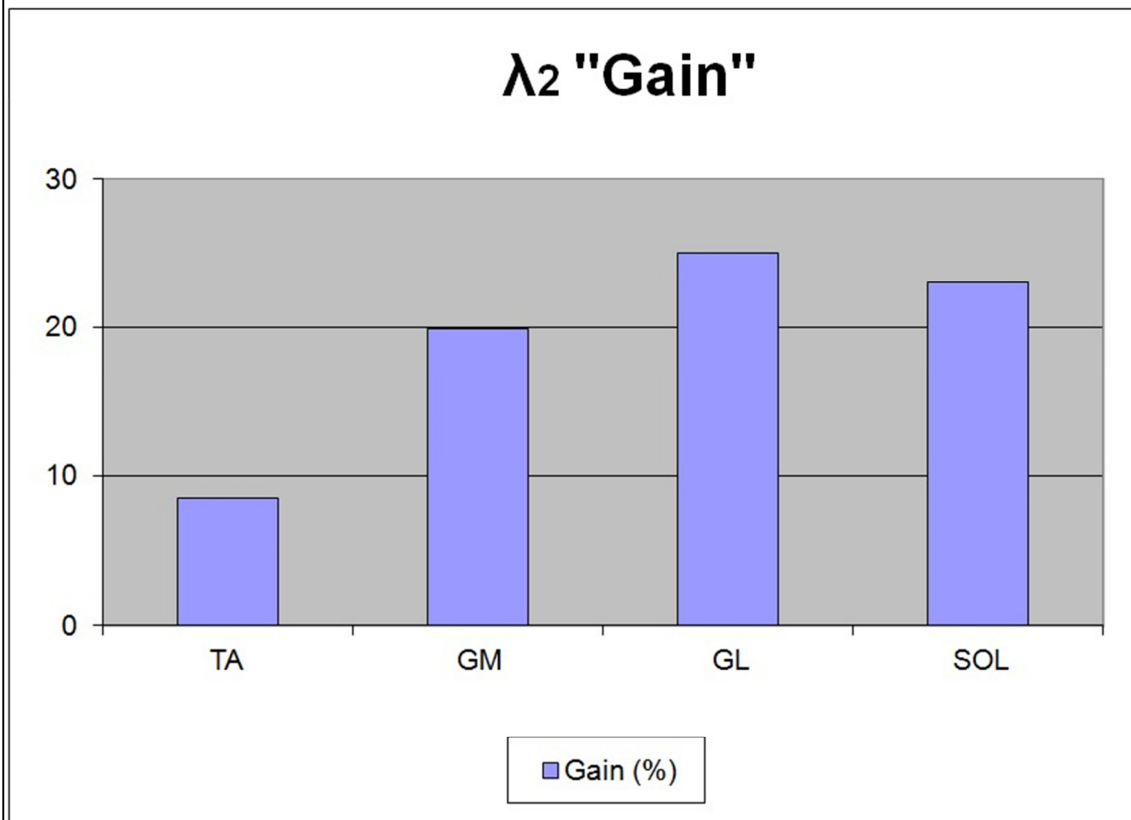
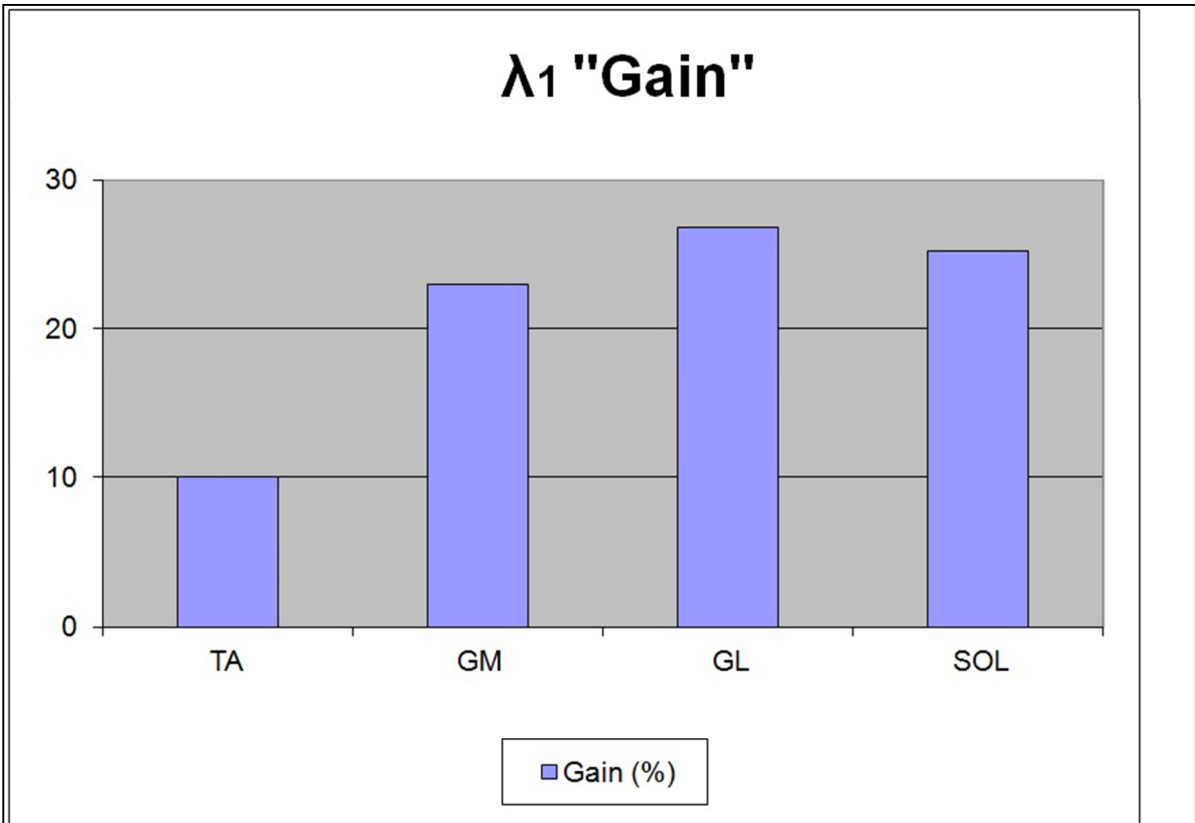


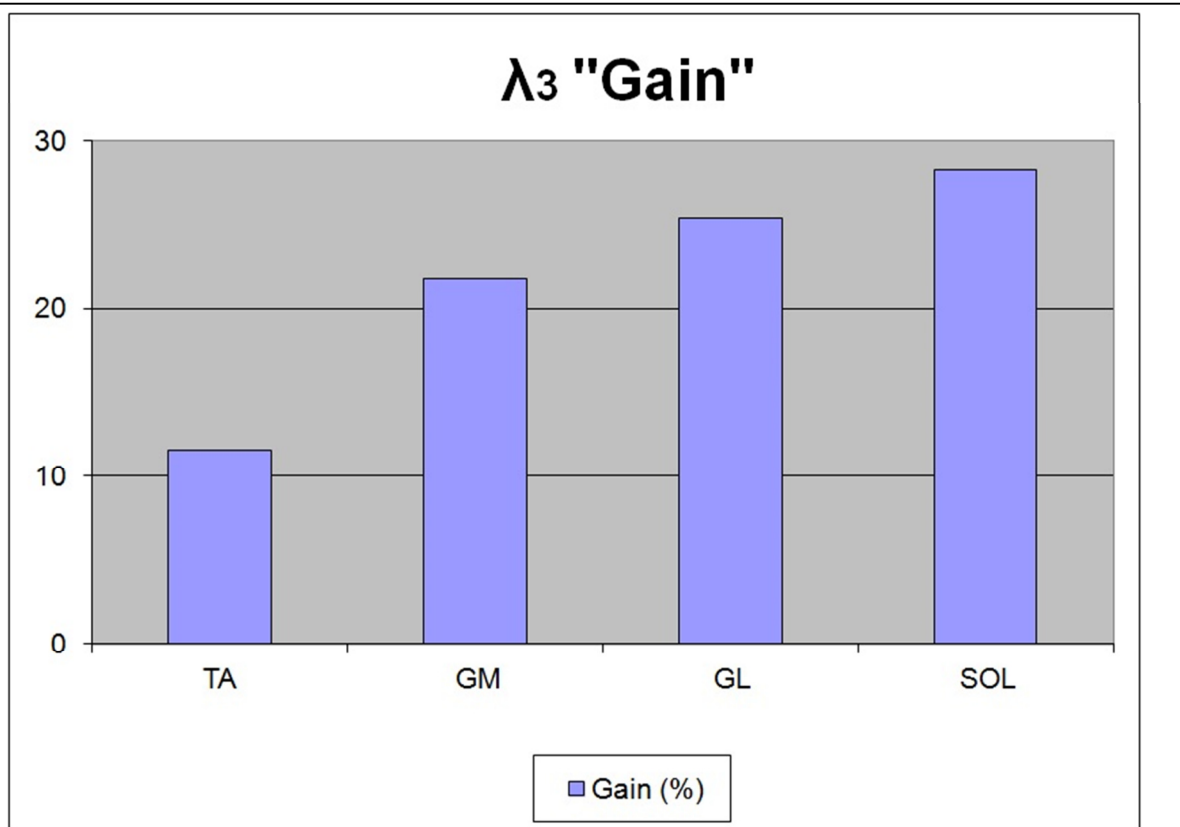




On average, FA values increased after exercise in the GM (4,47%) and GL (1,80%) and decreased in the TA (-1,67%) and Sol (-5,48%). The ADC measured increased in the TA (9,90%), but this effect was more intense on the GM (23,10%), GL (27,62%) and Sol (25,27%). All the eigenvalues for the different muscles increased with the same proportion: λ_1 (TA 10,02%; GM 24,08%; GL 27,82%; Sol 25,17%), λ_2 (TA 8,53%; GM 21,40%; GL 28,17%; Sol 22,99%), λ_3 (TA 11,54%; GM 23,36%; GL 26,35%; Sol 28,31%).







CONCLUSION

The obtained results were consistent with the expected architectural and physiological changes in the muscles. All the DTI parameters followed the same patterns for all the studied subjects using this type of exercise. The Tibialis Anterior was the muscle that presented less change on the DTI parameters. This could be explained because during one legged jumps this muscle suffers almost no activation and therefore it doesn't develop fatigue characteristics.

The increased ADC and eigenvalues after exercise shows us that restriction of water diffusion decreased on all directions. Previous studies already demonstrated the existence of correlation of the three eigenvalues with intrinsic fiber characteristics. In this way, we can say that the changes on the ADC and λ_3 values indicate an increase in the fiber caliber and consequently total muscles volumes. In the muscles where λ_3 increases more than the other eigenvalues (TA and SOL), FA also decreases, demonstrating a diminution of water diffusion on a preferred direction. The fibers of these two muscles thickened rather than elongated.

For a better study of muscle architecture, muscle pennation angles should also be evaluated. It's also important to repeat this type of study using different exercise protocols. In the present study the exercise was short but intense. Longer and slower fatigue build up, during running or bicycling for example could imply different muscle architecture adaptation and consequently conduce to a different behavior of DTI parameters.

MRI, although expensive, continues to be an excellent technique for the evaluation and assessment of anatomical and structural characteristics and changes, having the benefit of being non-invasive and providing "real-time" image sequences.

References

Heemskerk, A.M., Strijkers, G.J., Vilanova A., Drost M.R., Nicolay K., "Determination of mouse skeletal muscle architecture using three-dimensional diffusion tensor imaging". 2005 Magn Reson Med 53:1333-1340.

Elzibak, A.H., Noseworthy, M.D., Davis, A.D., "Advanced MR Imaging Techniques for Skeletal Muscle Evaluation". 2010 Seminars in Musculoskeletal Radiology, vol.14, nº2, 257-268

Galban, C.J., Maderwald S., Uffmann K., de Greiff, A., Ladd, M.E., "Diffusive sensitivity to muscle architecture: a magnetic resonance diffusion tensor imaging study of the human calf". 2004 Eur J Appl Physiol 93:253-262.

Lansdown, D.A., Ding, Z., Wadington M., Hornberger, J.L., Damon, B.M., "Quantitative diffusion tensor MRI-based fiber tracking of human skeletal muscle". 2007 J Appl Physiol 103:673-681.

Mori, S., Barker, P.B., "Diffusion magnetic resonance imaging: its principle and applications". 1999 Anat Rec vol. 257:102-109.

Schwenzer, N.F., Steidle, G., Martirosian, P., Schraml, C., Springer, F., Claussen, C.D., Schick, F., "Diffusion tensor imaging of the human calf muscle: distinct changes in fractional anisotropy and mean diffusion due to passive muscle shortening and stretching". 2009 NMR Biomed 22:1047-1053

Fitts R.H., McDonald K.S., Schluter J.M., "The determinants of skeletal muscle force and power: their adaptability with changes in activity pattern". 1991 J Biomech 24:111-122

Anexo F

E-Poster apresentado no ECR 2013

Este anexo dispõe do poster electrónico apresentado no European Congress of Radiology (ECR 2013) que foi realizado nos dias 7 a 11 de Março em Viena, Áustria. Este trabalho esteve exposto no local em formato electrónico e encontra-se disponível *online* em plataforma própria.

The assessment of the effect of fatigue on muscle architecture through Diffusion Tensor Imaging (DTI) parameters

1. Purpose

The use of Diffusion Tensor Imaging (DTI) sequences in MRI studies other than the brain has been increasing regularly [1 - 3]. In recent years, this technique has been used in the visualization of human skeletal muscles fibers [4, 5], analyzing different aspects as age [6], gender [7], presence of injuries [8], etc.

DTI data gives us information on the diffusion of water in living tissues [9]. Due to changes in muscle microstructures [10] and long-term training [10, 11] the water diffusion properties in the muscle tissues can vary on different conditions. DTI can therefore provide us indirect help in the assessment of skeletal muscle architecture [5] of athletes, as well as the effect of exercise on the muscle tissue.

In this study, we aim to evaluate the changes on DTI parameters (as functional anisotropy (FA), anisotropic diffusion coefficient (ADC) and the 3 eigenvalues) of different muscles of the lower leg on high level athletes when submitted to a short and intense exercise.

2. Material and Methods

We studied the dominant leg of seven informed volunteers (all females, average age 24 ± 4 years) using the same protocol on a 1.5T Signa HDxt (GE): Anatomical Proton Density (PD) weighted sequences (56 slices; Thickness = 3,9mm; TE = 7,6ms; TR = 4140ms) covering the most voluminous part of the lower leg and standard echo-planar axial DTI sequences (56 slices; Thickness = 3,9mm; b = 400; TE = 72,2ms; TR = 10000ms; NEX = 4; 16 directions, matrix = 64x64) covering the same volume.

This protocol was performed before and immediately after exercise. Fatigue was accomplished by consecutive one legged jumps until complete exhaustion. The time between the end of the exercise and initialization of the second scan session was reduced to the minimum time possible (42 ± 9 seconds), as to reduce the loss of signal differences due to muscle recuperation.

Immobilization of the leg and ankle position during image acquisitions was achieved using a “home-made” and “purpose-built” support (Fig. 1 and Fig. 2). In this way movement artifacts and the influence of ankle position on the DTI parameters as reported on other studies [12, 13] were reduced or totally removed. Simultaneously, this support also allowed for the leg muscles not to be deformed against the examination table.



Fig. 1: "Purpose-built" lower leg support.



Fig. 2: "Purpose-built" lower leg support.

After processing of the images (eddy-current artifacts and movement correction, image registration, etc.) using custom scripts associated to FSL Tools. Resulting images and data were then opened and analyzed with Diffusion Toolkit and TrackVis (Martins Center, EUA). ROI's were traced on the Tibialis Anterior (TA), Gastrocnemius Medial (GM), Gastrocnemius Lateral (GL) and Soleus (Sol) on three different slices where muscles presented themselves more clearly defined and with a larger area, taking care that fascia, fat or blood vessels were not included. The same ROI's were used on the pre- and post-exercise for each subject. The DTI parameters of interest were then obtained and analyzed statistically.

3. Results

The FA values obtained after exercise were inferior to the values before exercise on the TA and SOL muscles and superior on the GM and GL muscles (Fig. 3). The ADC increased with fatigue in all studied muscles (Fig. 4). In the same way, all the eigenvalue values – λ_1 , λ_2 , λ_3 – also increased after intense exercise (Fig. 5).

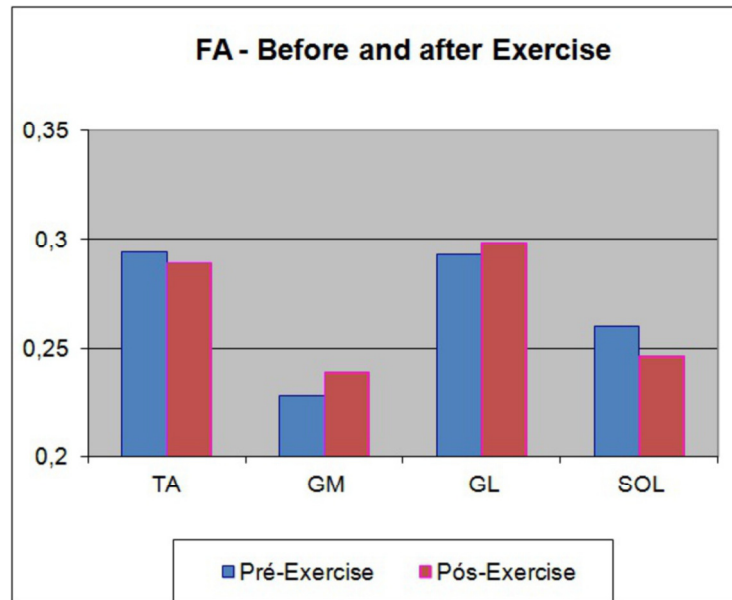


Fig. 3: FA before and after exercise on the right TA, GM, GL and SOL muscles.

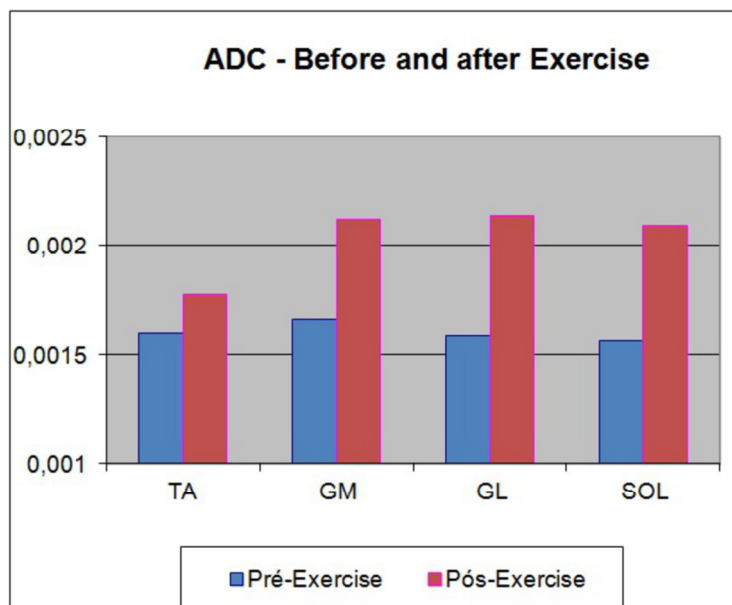


Fig. 4: ADC before and after exercise on the right TA, GM, GL and SOL muscles.

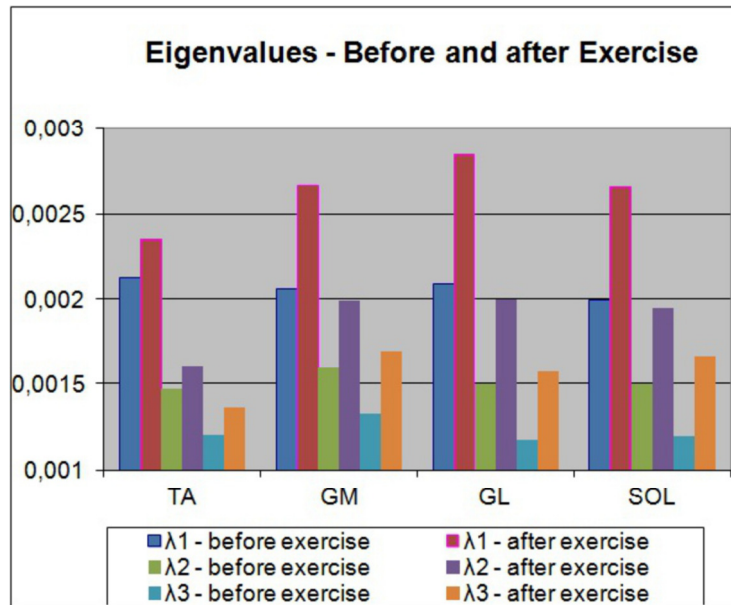


Fig. 5: The three eigenvalues before and after exercise on the right TA, GM, GL and SOL muscles.

On average, FA values increased after exercise in the GM (4,47%) and GL (1,80%) and decreased in the TA (-1,67%) and Sol (-5,48%) (Fig. 6). The ADC measured increased in the TA (9,90%), but this effect was more intense on the GM (23,10%), GL (27,62%) and Sol (25,27%) (Fig. 7). All the eigenvalues for the different muscles increased with the same proportion: λ_1 (TA 10,02%; GM 24,08%; GL 27,82%; Sol 25,17%), λ_2 (TA 8,53%; GM 21,40%; GL 28,17%; Sol 22,99%), λ_3 (TA 11,54%; GM 23,36%; GL 26,35%; Sol 28,31%) (Fig. 8).

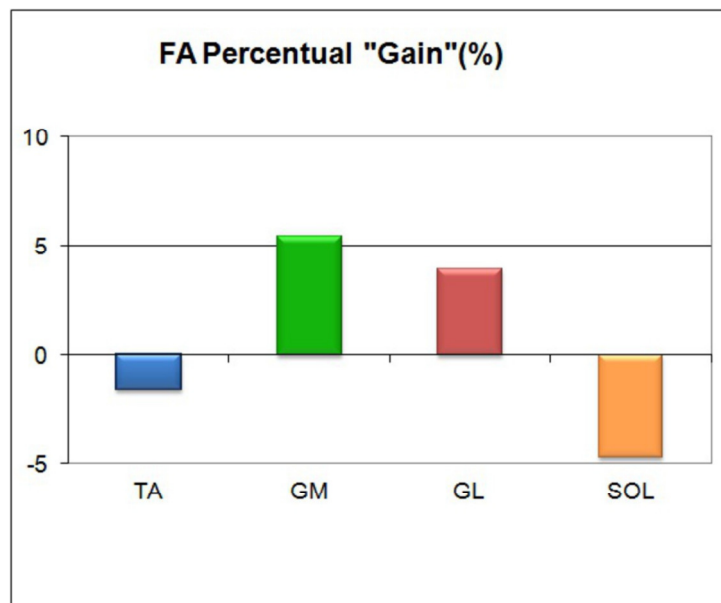


Fig. 6: FA percentual "gain" after exercise.

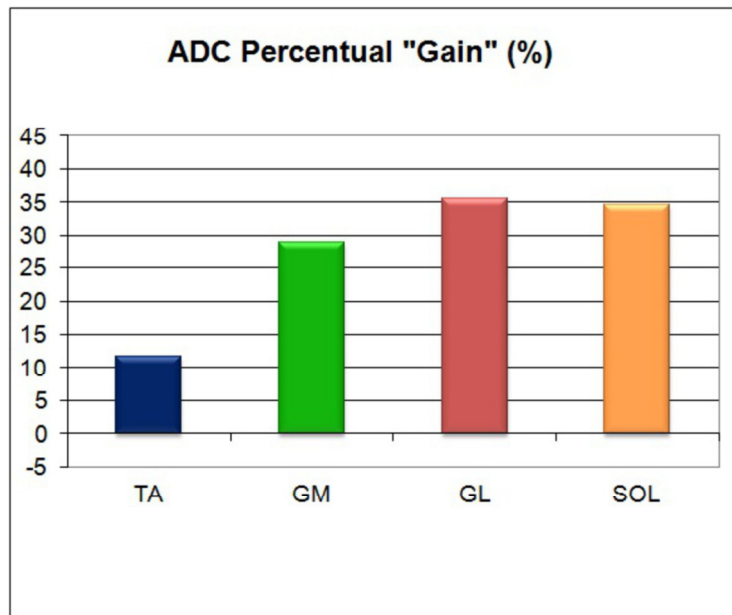


Fig. 7: ADC percentual "gain" after exercise.

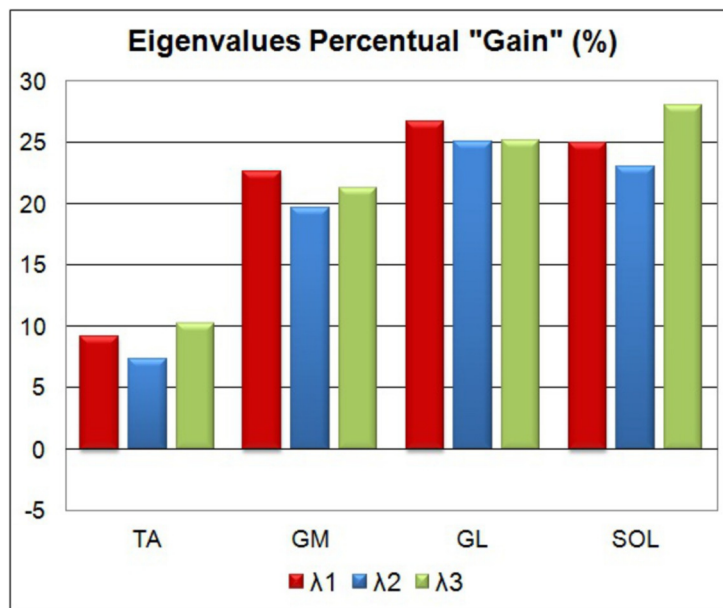


Fig. 8: Eigenvalues percentual "gain" after exercise.

4. Conclusion

The obtained results were consistent with the expected architectural and physiological changes in the muscles. All the DTI parameters followed the same patterns for all the studied subjects using this type of exercise.

The Tibialis Anterior was the muscle that presented less change on the DTI parameters.

This could be explained because during one legged jumps this muscle suffers almost no activation and therefore it doesn't develop fatigue characteristics.

The increased ADC and eigenvalues after exercise shows us that restriction of water diffusion decreased on all directions. Previous studies already demonstrated the existence of correlation of the three eigenvalues with intrinsic fiber characteristics [5]. λ_1 represents the direction of water diffusion parallel to the diffusion restricting factor, while λ_2 and λ_3 represent water diffusion orthogonal to the three-dimensional direction of λ_1 in the intracellular space. In this way, we can say that the changes on the ADC and λ_3 values indicate an increase in the fiber caliber and consequently total muscles volumes. In the muscles where λ_3 increases more than the other eigenvalues (TA and SOL), FA also decreases, demonstrating a diminution of water diffusion on a preferred direction. The fibers of these two muscles thickened rather than elongated.

For a better study of muscle architecture, muscle pennation angles should also be evaluated. It's also important to repeat this type of study using different exercise protocols. In the present study the exercise was short but intense. Longer and slower fatigue build up, during running or bicycling, for example, could imply different muscle architecture adaptation and consequently conduce to a different behaviour of the DTI parameters.

MRI, although expensive, continues to be an excellent technique for the evaluation and assessment of a plentitude of anatomical and structural characteristics and changes, having the benefit of being non-invasive and providing “real-time” image sequences.

References

1. Wu, Y., Wu, E. X., Wong, K. K., Tang, H., Tse, H. F., Lau, C. P., & Yang, E. S. (2005). Myocardial Fiber Length Mapping with MR Diffusion Tensor Imaging. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 7, 7004-7007. doi:10.1109/IEMBS.2005.1616118
2. Wedeen, V. J., Reese, T. G., Napadow, V. J., & Gilbert, R. J. (2001). Demonstration of primary and secondary muscle fiber architecture of the bovine tongue by diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Biophys J*, 80(2), 1024-1028.
3. Andreisek, G., White, L. M., Kassner, A., Tomlinson, G., & Sussman, M. S. (2009). Diffusion tensor imaging and fiber tractography of the median nerve at 1.5T: optimization of b value. *Skeletal Radiol*, 38(1), 51-59. doi:10.1007/s00256-008-0577-6
4. Heemskerk, A. M., & Damon, B. M. (2007). Diffusion tensor MRI assessment of skeletal muscle architecture. *Current Medical Imaging Reviews*, 3(3), 152-160.
5. Galban, C. J., Maderwald, S., Uffmann, K., de Greiff, A., & Ladd, M. E. (2004). Diffusive sensitivity to muscle architecture: a magnetic resonance diffusion tensor imaging study of the human calf. *Eur J Appl Physiol*, 93(3), 253-262.
6. Galban, C. J., Maderwald, S., Uffmann K., Ladd, M. E.. (2005) A diffusion tensor imaging analysis of gender differences in water diffusivity within human skeletal muscle. *NMR Biomed* 18:489-498.
7. Galban, C. J., Maderwald, S., Uffmann, K., & Ladd, M. E. (2005). A diffusion tensor imaging analysis of gender differences in water diffusivity within human skeletal muscle. *NMR Biomed*, 18(8), 489-498. doi:10.1002/nbm.975
8. Zaraiskaya, T., Kumbhare, D., & Noseworthy, M. D. (2006). Diffusion tensor imaging in evaluation of human skeletal muscle injury. *J Magn Reson Imaging*, 24(2), 402-408. doi:10.1002/jmri.20651
9. Le Bihan, D., & van Zijl, P. (2002). From the diffusion coefficient to the diffusion tensor. *NMR Biomed*, 15(7-8), 431-434.
10. Shoepe, T. C., Stelzer, J. E., Garner, D. P., Widrick, J. J. (2003). Functional adaptability of muscle fibers to long-term resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 35:944-951.
11. Jones, D. A., Rutherford, O. M., Parker, D. F. (1989). Physiological changes in skeletal muscle as a result of strength training. *Q J Exp Physiol* 74:233-256.
12. Schwenzer, N. F., Steidle, G., Martirosian, P., Schraml, C., Springer, F., Claussen, C. D., & Schick, F. (2009). Diffusion tensor imaging of the human calf muscle: distinct changes in fractional anisotropy and mean diffusion due to passive muscle shortening and stretching. *NMR Biomed*, 22(10), 1047-1053. doi:10.1002/nbm.1409
13. Deux, J. F., Malzy, P., Paragios, N., Bassez, G., Luciani, A., Zerbib, P., Roudot-Thoraval, F., *et al.* (2008). Assessment of calf muscle contraction by diffusion tensor imaging. *Eur Radiol*, 18(10), 2303-2310. doi:10.1007/s00330-008-1012-z

Anexo G

Tabelas com dados arquitectónicos pré-exercício

Neste anexo podem-se encontrar os valores arquitectónicos pré-exercício obtidos para os quatro músculos em estudo dos seis sujeitos voluntários.

Sujeito A	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	10.27	13.89	145.34	31.59	9.87	19.397
G. Medial	19.02	36.34	270.57	23.01	7.02	19.472
G. Lateral	9.95	15.80	131.15	23.40	8.01	15.201
Solear	25.47	53.34	407.79	30.42	8.68	26.207

Sujeito B	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	7.80	12.47	120.21	28.47	8.98	28.47
G. Medial	16.65	35.50	209.21	24.95	5.60	24.95
G. Lateral	9.84	25.88	106.75	19.88	4.06	19.88
Solear	32.64	65.36	461.36	28.47	6.29	28.47

Sujeito C	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	9.39	13.35	124.95	28.86	8.67	22.09
G. Medial	16.97	34.22	232.46	22.32	6.33	21.28
G. Lateral	8.88	17.54	108.65	21.06	6.08	10.97
Solear	25.67	65.46	406.92	31.59	5.65	24.65

Sujeito D	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	6.81	8.95	87.80	26.13	9.08	22.24
G. Medial	9.92	19.27	134.84	22.23	6.66	17.89
G. Lateral	6.62	9.35	66.78	19.50	7.14	12.15
Solear	20.24	58.71	285.88	30.03	4.35	26.70

Sujeito E	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	6.49	9.62	90.15	27.30	9.07	14.48
G. Medial	9.54	21.11	138.48	25.35	6.30	16.19
G. Lateral	5.64	12.67	56.13	18.33	4.38	8.70
Solear	22.55	52.97	318.45	30.03	5.40	26.09

Sujeito F	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	7.55	9.33	97.50	24.57	9.07	18.81
G. Medial	12.18	23.31	151.14	20.28	6.30	15.46
G. Lateral	9.21	19.88	107.03	19.50	4.38	10.65
Solear	23.24	62.32	334.60	27.69	5.40	25.59

Anexo H

Tabelas com dados arquitectónicos pós-exercício

Neste anexo podem ser observados os valores arquitectónico pós-exercício obtidos para os quatro músculos em estudo dos seis sujeitos voluntários.

Sujeito A	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	9.53	12.99	142.80	31.59	10.59	15.49
G. Medial	19.44	37.88	275.03	23.01	7.00	15.41
G. Lateral	10.67	16.17	140.51	23.40	8.48	12.61
Solear	25.72	55.96	401.93	30.42	6.79	19.04

Sujeito B	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	8.12	13.61	115.72	28.47	8.18	15.87
G. Medial	17.48	28.67	211.29	24.95	7.08	16.09
G. Lateral	11.66	18.79	118.28	19.88	5.97	18.53
Solear	31.89	64.28	454.65	28.47	6.49	23.43

Sujeito C	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	8.87	11.79	121.33	28.86	9.68	19.90
G. Medial	16.91	34.22	232.68	22.32	6.43	19.01
G. Lateral	9.38	16.20	110.08	21.06	6.71	9.14
Solear	25.82	56.26	405.24	31.59	6.70	21.54

Sujeito D	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	6.63	9.16	85.75	26.13	9.01	15.82
G. Medial	9.97	17.87	135.44	22.23	7.07	21.11
G. Lateral	6.58	8.67	69.02	19.50	7.96	13.83
Solear	19.46	52.33	277.15	30.03	5.08	16.42

Sujeito E	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	6.53	9.16	90.52	27.30	9.60	13.66
G. Medial	10.09	21.24	155.33	25.35	6.95	18.16
G. Lateral	5.32	9.50	62.94	18.33	6.45	13.13
Solear	23.27	56.91	333.65	30.03	5.57	18.19

Sujeito F	CSA (cm ²)	PCSA (cm ²)	Volume Muscular (cm ³)	Comprim. Muscular (cm)	Comprim. Fibras (cm)	Ângulo Penação
Tibial Anterior	7.71	9.23	100.11	24.57	9.60	20.35
G. Medial	12.65	19.93	151.91	20.28	6.95	17.48
G. Lateral	9.76	12.61	100.47	19.50	6.45	15.20
Solear	23.9	52.95	348.31	27.69	5.57	24.00

Anexo I

Dados estatísticos (*Output* SPSS) relativos aos parâmetros DTI pré e pós-exercício

Neste anexo encontram-se os outputs do SPSS relativos ao estudo DTI, onde podem ser observadas a existência de algumas diferenças significativas em algumas das variáveis estudadas para determinado músculo da perna.

Paired Samples Statistics					
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	TA_ROI1_FA	,27869867	6	,012864627	,005251962
	TA_ROI2_FA	,28241067	6	,013827768	,005645163
Pair 2	TA_ROI1_ADC	,0016349100	6	,00010220964	,00004172691
	TA_ROI2_ADC	,0017960600	6	,00011007991	,00004493994
Pair 3	TA_ROI1_EIG1	,0021406133	6	,00013054483	,00005329470
	TA_ROI2_EIG1	,0023557850	6	,00014079884	,00005748089
Pair 4	TA_ROI1_EIG2	,0015087333	6	,00008924476	,00003643402
	TA_ROI2_EIG2	,0016606617	6	,00010894898	,00004447824
Pair 5	TA_ROI1_EIG3	,0012553833	6	,00009256213	,00003778833
	TA_ROI2_EIG3	,0013717317	6	,00008597976	,00003510109
Pair 6	GM_ROI1_FA	,26818367	6	,023597010	,009633439
	GM_ROI2_FA	,27052500	6	,027564431	,011253132
Pair 7	GM_ROI1_ADC	,0016821783	6	,00017484780	,00007138131
	GM_ROI2_ADC	,0020992583	6	,00004376517	,00001786706
Pair 8	GM_ROI1_EIG1	,0021748983	6	,00024234605	,00009893736
	GM_ROI2_EIG1	,0027068533	6	,00007064728	,00002884163
Pair 9	GM_ROI1_EIG2	,0015814683	6	,00015918990	,00006498900
	GM_ROI2_EIG2	,0019635150	6	,00005061400	,00002066308
Pair 10	GM_ROI1_EIG3	,0012901650	6	,00013373898	,00005459871
	GM_ROI2_EIG3	,0016274067	6	,00006689450	,00002730956
Pair 11	GL_ROI1_FA	,28291567	6	,028542050	,011652243
	GL_ROI2_FA	,29274533	6	,020307817	,008290632
Pair 12	GL_ROI1_ADC	,0016359583	6	,00009310137	,00003800848
	GL_ROI2_ADC	,0021991700	6	,00006041225	,00002466320
Pair 13	GL_ROI1_EIG1	,0021317717	6	,00010058042	,00004106178
	GL_ROI2_EIG1	,0028774417	6	,00005638691	,00002301986
Pair 14	GL_ROI1_EIG2	,0015452433	6	,00009720071	,00003968202
	GL_ROI2_EIG2	,0019200683	6	,00035494636	,00014490625
Pair 15	GL_ROI1_EIG3	,0012308583	6	,00009853988	,00004022874
	GL_ROI2_EIG3	,0016678783	6	,00006646282	,00002713333
Pair 16	SOL_ROI1_FA	,27774100	6	,014917514	,006090050
	SOL_ROI2_FA	,27478800	6	,019495520	,007959013
Pair 17	SOL_ROI1_ADC	,0016136783	6	,00007327219	,00002991325
	SOL_ROI2_ADC	,0021703767	6	,00008278792	,00003379803
Pair 18	SOL_ROI1_EIG1	,0021035483	6	,00010811711	,00004413863
	SOL_ROI2_EIG1	,0028055617	6	,00009251243	,00003776804
Pair 19	SOL_ROI1_EIG2	,0015177150	6	,00006967504	,00002844472
	SOL_ROI2_EIG2	,0020342150	6	,00009464652	,00003863928
Pair 20	SOL_ROI1_EIG3	,0012197750	6	,00005299858	,00002163658
	SOL_ROI2_EIG3	,0016713667	6	,00008994923	,00003672162

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	TA_ROI1_FA - TA_ROI2_FA	-,003712000	,019166353	,007824631	-,023825854	,016401854	-,474	5	,655
Pair 2	TA_ROI1_ADC - TA_ROI2_ADC	-,00016115000	,00016714471	,00006823654	-,00033655761	,00001425761	-2,362	5	,065
Pair 3	TA_ROI1_EIG1 - TA_ROI2_EIG1	-,00021517167	,00020648894	,00008429876	-,00043186852	,00000152518	-2,552	5	,051
Pair 4	TA_ROI1_EIG2 - TA_ROI2_EIG2	-,00015192833	,00015604780	,00006370625	-,00031569045	,00001183379	-2,385	5	,063
Pair 5	TA_ROI1_EIG3 - TA_ROI2_EIG3	-,00011634833	,00014450023	,00005899197	-,00026799203	,00003529536	-1,972	5	,106
Pair 6	GM_ROI1_FA - GM_ROI2_FA	-,002341333	,025382939	,010362541	-,028979094	,024296427	-,226	5	,830
Pair 7	GM_ROI1_ADC - GM_ROI2_ADC	-,00041708000	,00020080344	,00008197766	-,00062781028	-,00020634972	-5,088	5	,004
Pair 8	GM_ROI1_EIG1 - GM_ROI2_EIG1	-,00053195500	,00026774932	,00010930820	-,00081294068	-,00025096932	-4,867	5	,005
Pair 9	GM_ROI1_EIG2 - GM_ROI2_EIG2	-,00038204667	,00017724827	,00007236130	-,00056805731	-,00019603602	-5,280	5	,003
Pair 10	GM_ROI1_EIG3 - GM_ROI2_EIG3	-,00033724167	,00017462542	,00007129053	-,00052049981	-,00015398353	-4,731	5	,005
Pair 11	GL_ROI1_FA - GL_ROI2_FA	-,009829667	,028622796	,011685207	-,039867448	,020208115	-,841	5	,439
Pair 12	GL_ROI1_ADC - GL_ROI2_ADC	-,00056321167	,00008384739	,00003423055	-,00065120410	-,00047521923	-16,453	5	,000
Pair 13	GL_ROI1_EIG1 - GL_ROI2_EIG1	-,00074567000	,00008283393	,00003381681	-,00083259888	-,00065874112	-22,050	5	,000
Pair 14	GL_ROI1_EIG2 - GL_ROI2_EIG2	-,00037482500	,00037477499	,00015300125	-,00076812723	,00001847723	-2,450	5	,058
Pair 15	GL_ROI1_EIG3 - GL_ROI2_EIG3	-,00043702000	,00009598099	,00003918407	-,00053774587	-,00033629413	-11,153	5	,000
Pair 16	SOL_ROI1_FA - SOL_ROI2_FA	,002953000	,013371586	,005458927	-,011079619	,016985619	,541	5	,612
Pair 17	SOL_ROI1_ADC - SOL_ROI2_ADC	-,00055669833	,00011481080	,00004687131	-,00067718488	-,00043621179	-11,877	5	,000
Pair 18	SOL_ROI1_EIG1 - SOL_ROI2_EIG1	-,00070201333	,00014256758	,00005820297	-,00085162884	-,00055239783	-12,061	5	,000
Pair 19	SOL_ROI1_EIG2 - SOL_ROI2_EIG2	-,00051650000	,00010781175	,00004401396	-,00062964150	-,00040335850	-11,735	5	,000
Pair 20	SOL_ROI1_EIG3 - SOL_ROI2_EIG3	-,00045159167	,00010609933	,00004331487	-,00056293609	-,00034024725	-10,426	5	,000

Anexo J

***Scripts* usados durante o processamento das imagens DTI**

Este anexo inclui os diferentes *scripts* desenvolvidos para este projecto e executados durante o processamento computadorizado das imagens funcionais DTI após a sua aquisição. Estes são baseados em linguagem MATLAB e recorrem em algumas etapas a *software* dedicado e especializado tal como explicado no capítulo dedicado ao processamento de imagem (capítulo 4.3).

Script A – Este *script* executa todas as etapas necessárias para a conversão das imagens em formato DICOM para o formato *nifti*. A etapa principal deste *script* é a execução do *software* “dicom2nifti” que é responsável pela conversão propriamente dita.

```
#!/bin/bash

printUsage () {
cat << EOF

    $(basename $0)
    -----

    This script parses directories containing dicoms and outputs NIFTI files

    Usage: $(basename $0) [options]
    -a   : process all subdirectories containing dicoms and raw files
    -b   : generate AFNI brik files as well as NIFTIs
    -i n : ignore the first n phases

EOF
}

if [ $# -eq 0 ]; then printUsage; exit 1; fi

if [ -f $HOME/.bash_script_messages ]; then    # scriptError, etc.
    source $HOME/.bash_script_messages
else
    alias scriptWarn='echo' && alias scriptErr='echo' && alias scriptMsg='echo' && alias
scriptMsgr='echo' && alias scriptEmph='echo' && alias scriptDebug='echo'
fi

# Parse arguments
while getopts "abhi:" flag; do
    case $flag in
        a) autoFlag=1;;
        b) brikFlag=1;;
        h) printUsage; exit 0;;
        i) numIgnore="$OPTARG";;
        ?) printUsage; exit 1;;
    esac
done
shift $((OPTIND-1))    # remove flags now that they're dealt with

if [ $autoFlag ]; then
    argString="-u"
    if [ $brikFlag ]; then argString="$argString -b"; fi
    if [ $numIgnore ]; then argString="$argString -i $numIgnore"; fi

    # Change internal field separator to prevent problem with spaces in directory names
    oldIFS=$IFS
    IFS=:

    # dcm2nii steps
    function run_dcm2nii {
        scriptMsg "calling dcm2nii..."
        dcm2nii -a N -d N -e Y -f N -g Y -i N -n Y -p N -x N ./*.dcm

        # name output files after current directory
        dirName="$(basename "$PWD" | tr -d '()[]{}*' | tr ' ' '_)"

        for newFile in $(find . -name '*.bvec' | tr '\n' ':'); do mv "$newFile"
"../${newFile%.bvec}-${dirName}.bvec"; done
        for newFile in $(find . -name '*.bval' | tr '\n' ':'); do mv "$newFile"
"../${newFile%.bval}-${dirName}.bval"; done
        for newFile in $(find . -name '*.nii.gz' | tr '\n' ':'); do mv "$newFile"
"../${newFile%.nii.gz}-${dirName}.nii.gz"; done
    }

    dirCount=0
    dirs=$(find . -mindepth 1 -maxdepth 1 -type d -exec basename {\} \; | tr '\n' ':')

    for newDir in $dirs; do dirList[$dirCount]="$newDir"; ((dirCount++)); done
    #dirCount=$(echo $dirs | wc -l)

```

```

if [ $dirCount -gt 0 ]; then
  exeCount=0
  while [ $exeCount -lt $dirCount ]; do
    scriptEmph "Processing ${dirList[$exeCount]}..."
    cd "${dirList[$exeCount]}"
    dicomList=$(find . -name '*dcm' -type f -exec echo \{\} + | sed 's:\./::g')
    if [ "$dicomList" ]; then
      #firstDicom=$(printf $dicomList | sed 's:\([^a-zA-Z0-9\]*\) .*:\1:')
      firstDicom=$(echo ${dicomList%% *})
      #scriptDebug "firstDicom=$firstDicom"
      #lastDicom=$(echo $dicomList | sed 's|.* \([^a-zA-Z0-9\]*\)|\1|')
      #numDicoms=$(echo $dicomList | wc -w)
      Mfr=$(dicom_hdr "${firstDicom}" | grep '0008 0070' | sed 's:.*ID
Manufacturer/\(.*\):\1:')
      if [ ! "$Mfr" ]; then
        scriptErr "problem with dicom_hdr..."
        exit 9
      fi
      TE=$(dicom_hdr "${firstDicom}" | grep 'ACQ Echo Time' | sed 's|.*ACQ Echo
Time/\(.*\)|\1|')
      seqName=$(dicom_hdr "${firstDicom}" | grep 'ACQ Scanning Sequence' | sed
's|.*ACQ Scanning Sequence/\(.*\)|\1|')
      seqName=${seqName% *}
      #bval=$(dicom_hdr $lastDicom | grep "0043 1039" | sed 's|.*//\([0-
9]*\) .*|\1|')
      #scriptDebug "TE=$TE, seqName=$seqName"
      if [ ! "$Mfr" = "GE MEDICAL SYSTEMS" ]; then scriptWarn "Manufacturer is
'$Mfr' -- untested"; fi # check for GE scanner
      if [[ $(echo "$TE > 49.0" | bc) -eq 1 ]] && [[ "$seqName" = "EP\SE" ]];
then
# DTI sequence
        scriptMsg "Header indicates a DTI sequence"
        run_dcm2nii
      else
        if which dicom2nifti >/dev/null && grep bash_script_messages $(which
dicom2nifti) >/dev/null; then # prefer my script if present
          scriptMsg "calling 'dicom2nifti $argString'..."
          dicom2nifti $argString
        else
          scriptWarn "dicom2nifti not available"
          run_dcm2nii
        fi
      fi
      elif [ "$(ls -l P[0-9][0-9][0-9][0-9][0-9].7 2>/dev/null)" ]; then
        scriptMsg "calling 'raw2nifti $argString'"
        raw2nifti $argString
      elif [ "$(ls -l P[0-9][0-9][0-9][0-9][0-9].7_selected_magnitudes 2>/dev/null)"
]; then
        scriptMsg "calling 'raw2nifti $argString'"
        raw2nifti $argString
      else
        scriptMsg "No dicoms or P-files found, skipping $(basename "$PWD")"
      fi

      # Check for successful run
      exitCode=$?
      if [ $exitCode -ne 0 ]; then scriptErr "exit code $exitCode from script"; exit
$exitCode; fi

      cd ../
      echo ""
      ((exeCount++))
    done
  else
    scriptErr "No subdirectories found"
    exit 2
  fi
  IFS=$oldIFS
fi

scriptMsg "To delete the directories, issue:"
scriptEmph "find . -type d -name '[^.]*' -exec rm -r '{}'+

```

Script B – Transcreve a tabela dos gradientes do ficheiro *.bvec resultante da conversão para *nifti* das imagens DICOM de um formato “por linhas” para um formato “por colunas”, formato necessário para a etapa seguinte do processamento de imagem.

```
#!/bin/bash

printUsage ()
{cat << EOF
    Usage: $(basename $0) -i file

    Options:
    -i file : 3 row file
    -neg    : negate middle row (for MRIConvert files)
EOF}

if [ $# -eq 0 ]; then printUsage; exit 1; fi

if [ -f $HOME/.bash_script_messages ]; then
    source $HOME/.bash_script_messages
else
    alias scriptWarn='echo' && alias scriptErr='echo' && alias scriptMsg='echo' && alias
scriptMsgr='echo' && alias scriptEmph='echo' && alias scriptDebug='echo'
fi

# Parse arguments
while [ $# -gt 0 ]; do
    case $1 in
        -i ) inFile="$2"; shift;;
        -neg ) negFlag=1;;
        -h ) printUsage; exit 0;;
        * ) scriptErr "unrecognized option '$1'"; printUsage; exit 1;;
    esac
    shift
done

if [ -e "$inFile" ]; then
    file_noext=${inFile%. *}
    outFile="${file_noext}-nx3.bvec"
    if [ -e "$outFile" ]; then
        scriptErr "file exists: $outFile"
        exit 1
    fi

    # define arrays
    line1=$(head -1 "${inFile}")
    line2=$(head -2 "${inFile}" | tail -1)
    line3=$(head -3 "${inFile}" | tail -1)

    # loop through to reorder
    numElements=${#line1[*]}
    count=1 # strip first row of zeroes
    while [ $count -lt $numElements ]; do
        echo -n "${line1[$count]} " >> "$outFile"

        # negate middle values if necessary
        if [ $negFlag ]; then
            nextVal=${line2[$count]}
            if [ ${nextVal:0:1} = '-' ]; then
                nextVal=${nextVal#-}
            else
                nextVal="-${nextVal}"
            fi
            echo -n "${nextVal} " >> "$outFile"
        else
            echo -n "${line2[$count]} " >> "$outFile"
        fi

        echo "${line3[$count]}" >> "$outFile"
        ((count+=1))
    done
else
    echo "Error: specify an input file"
    printUsage
    exit 2
fi
```

Script C – Prepara os diferentes volumes (anatômicos e funcionais) para a próxima fase do processamento de imagem – a análise DTI. Através deste *script* são executadas diversas etapas fundamentais tais como a correção de artefactos de correntes de *eddy* e o co-registo das imagens DP e DTI.

```
#!/bin/bash

printUsage () {
cat << EOF
  This script runs the standard steps to prepare a volume for DTI analysis

  Usage: $(basename $0) [options] -bval bvalFile -bvec bvecfile dtFile1 [dtFile2 ...]

  -anat file : 3D anatomical nifti volume
  -bins num : flirt bins (default 64)
  -bval file : .bval file, single line
  -bvec file : file of DT b vectors, nx3 matrix
  -nex num : number of diffusion NEX (default 1)
  -noclean : do not remove temporary files
  dtFile1 ... : last arguments are a list of DT volumes, 1 for each NEX
EOF
}

if [ $# -eq 0 ]; then printUsage; exit 1; fi

if [ -f $HOME/.bash_script_messages ]; then # scriptErr, etc.
  source $HOME/.bash_script_messages
else
  alias scriptWarn='echo' && alias scriptErr='echo' && alias scriptMsg='echo' && alias
scriptMsgr='echo' && alias scriptEmph='echo' && alias scriptDebug='echo'
fi

# Defaults
numBins=64
nex=1
tmpDir="dtiprep-temp"

# Parse arguments
while [ $# -gt 0 ]; do
  case $1 in
    -anat ) anatFile="$2"; shift;;
    -bins ) numBins="$2"; shift;;
    -bval ) bvalFile="$2"; shift;;
    -bvec ) bvecFile="$2"; shift;;
    -nex ) nex="$2"; shift;;
    -noclean ) noClean=1;;
    -h ) printUsage; exit 0;;
    -* ) echo "unrecognized option '$1'"; printUsage; exit 1;;
    * ) break;;
  esac
  shift # remove flags now that they're dealt with
done

# Last arguments are dti volumes
if [ $nex -ne $# ]; then
  scriptErr "NEX=$nex, but $# filenames specified"
  exit 1
fi
nexCounter=0
while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
  dtFile[$nexCounter]=$1
  if [ ! -e "${dtFile[$nexCounter]}" ]; then
    scriptErr "file not found: ${dtFile[$nexCounter]}"
    exit 2
  fi
  shift
  ((nexCounter+=1))
done

# Check Arguments
if [ ! "${dtFile[*]}" ] || [ ! "$bvecFile" ] || [ ! "$bvalFile" ]; then
  printUsage

```

```

        exit 1
    elif [ "$anatFile" ] && [ ! -e "$anatFile" ]; then
        scriptErr "file not found: $anatFile"
        exit 1
    fi
    # set up temporary directory and be sure of relative file references
    scriptMsg "Setting up temp directory..."
    if [ -d "$tmpDir" ]; then rm -r "$tmpDir"; fi
    mkdir "$tmpDir"
    cp "$bvalFile" "$bvecFile" "$tmpDir"
    bvalFile=$(basename "$bvalFile")
    bvecFile=$(basename "$bvecFile")
    if [ "$anatFile" ]; then cp "$anatFile" "$tmpDir"; anatFile=$(basename "$anatFile");
    anatFile_noext=$(remove_ext "${anatFile}"); fi
    nexCounter=0
    while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
        cp "${dtFile[$nexCounter]}" "$tmpDir"
        dtFile[$nexCounter]=$(basename "${dtFile[$nexCounter]}")
        dtFile_noext[$nexCounter]=$(remove_ext "${dtFile[$nexCounter]}")
        ((nexCounter+=1))
    done
    cd "$tmpDir"

    # DT data
    if [ -e "$bvalFile" ]; then
        numDTDirs=$((cat "$bvalFile" | wc -w) - 1)
        bval=$(cat "$bvalFile" | sed 's/0 \([0-9]*\) .*/\1/')
    else
        scriptErr "File not found: $bvalFile"
        exit 2
    fi
    dirCheck=$(cat "$bvecFile" | wc -l)
    if [ $numDTDirs -eq $dirCheck ]; then
        scriptEmph "bval file reports $numDTDirs directions with b=$bval"
    else
        scriptErr "numDTDirs=$numDTDirs, but $dirCheck lines in bvecFile ($bvecFile)"
        exit 3
    fi
fi

# Deal with multiple NEX
if [ $nex -gt 1 ]; then
    # Split each nex into individual directions
    nexCounter=0
    while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
        scriptMsg "splitting NEX $nexCounter"
        fslsplit "${dtFile[$nexCounter]}" "${dtFile_noext[$nexCounter]}-dtDir" -t
        ((nexCounter+=1))
    done

    # Register b=0 files and recombine DT volumes
    3dcopy "${dtFile[0]}" "${dtFile_noext[0]}-b0reg.nii.gz"
    nexCounter=1
    while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
        scriptMsg "registering b=0 volume from NEX $nexCounter to NEX 0"
        flirt -cost normcorr -bins 64 -in "${dtFile_noext[$nexCounter]}-dtDir0000" -ref
        "${dtFile_noext[0]}-dtDir0000" -out "${dtFile_noext[$nexCounter]}-dtDir0000-reg" &
        ((nexCounter+=1))
    done

    wait # wait for child processes (flirt) to complete

    nexCounter=1
    while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
        fslmerge -t "${dtFile_noext[$nexCounter]}-b0reg" "${dtFile_noext[$nexCounter]}-
        dtDir0000-reg" $(dtDirCounter=1; while [ $dtDirCounter -le $numDTDirs ]; do if [
        $dtDirCounter -lt 10 ]; then echo -n "${dtFile_noext[$nexCounter]}-
        dtDir000${dtDirCounter} "; elif [ $dtDirCounter -lt 100 ]; then echo -n
        "${dtFile_noext[$nexCounter]}-dtDir00${dtDirCounter} "; else scriptErr "too many
        directions..."; exit 4; fi; ((dtDirCounter+=1)); done)
        ((nexCounter+=1))
    done
else
    3dcopy "${dtFile[0]}" "${dtFile_noext[0]}-b0reg.nii.gz"
fi
# Eddy correction
nexCounter=0

```

```

while [ $nexCounter -lt $nex ]; do
    scriptMsg "Eddy correcting NEX ${nexCounter}..."
    eddy_correct "${dtFile_noext[$nexCounter]}-b0reg" "${dtFile_noext[$nexCounter]}-
b0reg-edycor" 0 &
    ((nexCounter+=1))
done
wait # wait for child processes (eddy_correct) to complete
# add nex
if [ $nex -gt 1 ]; then
    scriptMsg "Adding $nex NEX..."
    fslmaths "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor" $(nexCounter=1; while [ $nexCounter -lt
$nex ]; do echo -n "-add ${dtFile_noext[$nexCounter]}-b0reg-edycor ";
    ((nexCounter+=1)); done) "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum"
else
    3dcopy "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor.nii.gz" "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-
${nex}NEX_sum.nii.gz"
fi

fslsplit "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum.nii.gz" "${dtFile_noext[0]}-
b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-dtDir" -t
if [ "$anatFile" ]; then
    scriptMsg "Registering anatomical to b=0 volume..."
    # use anat as ref for best results
    flirt -in "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-dtDir0000" -ref
"${anatFile}" -omat "${dtFile_noext[0]}.mat_to_${anatFile_noext}.mat" -bins $numBins -
cost normmi -dof 12
    convert_xfm -omat "${anatFile_noext}_to_${dtFile_noext[0]}.mat" -inverse
"${dtFile_noext[0]}.mat_to_${anatFile_noext}.mat"
    flirt -in "${anatFile}" -ref "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-
dtDir0000" -out "${anatFile_noext}_to_${dtFile_noext[0]}.nii.gz" -applyxfm -init
"${anatFile_noext}_to_${dtFile_noext[0]}.mat" -bins $numBins -cost normmi -dof 12 -
interp trilinear
fi

scriptMsg "Automasking..."
3dAutomask -clfrac 0.15 -dilata 2 -prefix "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-
${nex}NEX_sum-mask.nii.gz" "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-
dtDir0000.nii.gz"
fslmaths "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum.nii.gz" -mul
"${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-mask.nii.gz" "${dtFile_noext[0]}-b0reg-
edycor-${nex}NEX_sum-am.nii.gz"

# move needed files into parent directory
rm "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-dtDir"*
mv -i "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum"* ../
if [ "$anatFile" ]; then mv -i "${anatFile_noext}_to_${dtFile_noext[0]}"* ../; fi
cd ../

if [ -e "${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-am.nii.gz" ]; then
    scriptMsg "output file for eigs: ${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-
am.nii.gz"
else
    scriptErr "file not found: ${dtFile_noext[0]}-b0reg-edycor-${nex}NEX_sum-am.nii.gz"
    scriptErr "something went wrong..."
    exit 99
fi

# clean up
if [ ! $noClean ]; then
    rm -r "$tmpDir"
fi

```

Script D – Este último *script* executa a análise DTI através dos *softwares* “AFNI”, “FSL” e “Diffusion Toolkit”. No final, origina ficheiros “*.trk” e abre-os no *software* “Track-Vis” que permite a manipulação dos volumes em 3D, obtenção dos parâmetros DTI e visualização das fibras.

```
#!/bin/bash -e

printUsage () {
cat << EOF

    This script runs DTI analysis on the dtiprep output volume

    Usage: $(basename $0) [options] -bvec file -bval file -i dtFile

        -afni : run DT analysis with AFNI as well
        -angle int : threshold angle for tracking (default 30)
        -bval file : .bval file, single line
        -bvec file : .bvec file, nx3 matrix
        -bvecfsl file : .bvec file, 3xn matrix, with b=0 column (required for -fsl)
        -fsl : run DT analysis with FSL as well
        -i dtFile : DTI volume output from dtiprep
        -notv : Do not launch TrackVis when done

EOF
}

if [ $# -eq 0 ]; then printUsage; exit 1; fi

if [ -f $HOME/.bash_script_messages ]; then
    source $HOME/.bash_script_messages
else
    alias scriptWarn='echo' && alias scriptErr='echo' && alias scriptMsg='echo' && alias
scriptMsgr='echo' && alias scriptEmph='echo' && alias scriptDebug='echo'
fi

# Defaults
angleThresh=30

# Parse arguments
while [ $# -gt 0 ]; do
    case $1 in
        -afni ) afniFlag=1;;
        -angle ) angleThresh="$2"; shift;;
        -bval ) bvalFile="$2"; shift;;
        -bvec ) bvecFile="$2"; shift;;
        -bvecfsl ) bvecfslFile="$2"; shift;;
        -fsl ) fslFlag=1;;
        -i ) dtFile="$2"; shift;;
        -notv ) notvFlag=1;;
        -h ) printUsage; exit 0;;
        * ) scriptErr "unrecognized option '$1'"; printUsage; exit 1;;
    esac
    shift # remove flags now that they're dealt with
done

# Check Arguments
if [ ! "${bvecFile}" ] || [ ! "${bvalFile}" ] || [ ! "$dtFile" ]; then
    scriptErr "must specify -bvec, -bval, and -i"
    printUsage
    exit 1
elif [ $fslFlag ] && [ ! "${bvecfslFile}" ]; then
    scriptErr "must specify -bvecfsl with -fsl"
    printUsage
    exit 2
else
    if [ -e "$dtFile" ]; then
        dtFile_noext=$(remove_ext "$dtFile")
    else
        scriptErr "file not found: $dtFile"
        exit 3
    fi
fi

# Check b value and number of directions
if [ -e "$bvalFile" ]; then
    numDTDirs=$((cat "$bvalFile" | wc -w) - 1)
    bval=$(cat "$bvalFile" | sed 's/0 \([0-9]*\) .*/\1/')
else
    scriptErr "File not found: $bvalFile"
    exit 2
fi
```

```

if [ -e "$bvecFile" ]; then
    dirCheck=$(cat "$bvecFile" | wc -l)
else
    scriptErr "File not found: $bvecFile"
    exit 2
fi
if [ $numDTDirs -eq $dirCheck ]; then
    scriptEmph "bval file reports $numDTDirs directions with b=$bval"
else
    scriptErr "numDTDirs=$numDTDirs, but $dirCheck lines in bvecFile (${bvecFile})"
fi

# Generate DT data
if [ $afniFlag ]; then
    scriptMsg "Generating DTI parameters with AFNI..."
    3dDWItoDT -prefix "${dtFile_noext}-AFNI.nii.gz" -automask -eigs -sep_dsets
"$bvecFile" "$dtFile" &
    afniPID=$!
    sleep 2
    echo ""
fi

if [ $fslFlag ]; then
    scriptMsg "Generating DTI parameters with FSL..."
    dtifit --save_tensor -k "$dtFile" -m "${dtFile_noext%-am}-mask.nii.gz" -r
"${bvecfslFile}" -b "$bvalFile" -o "${dtFile_noext}-FSL"
    fslsplit "${dtFile_noext}-FSL_tensor.nii.gz" "${dtFile_noext}-FSL_DD" -t
    mv "${dtFile_noext}-FSL_tensor.nii.gz" "${dtFile_noext}-FSL_tensor-upper.nii.gz"
    fslmerge -t "${dtFile_noext}-FSL_tensor.nii.gz" "${dtFile_noext}-FSL_DD0000.nii.gz"
"${dtFile_noext}-FSL_DD0001.nii.gz" "${dtFile_noext}-FSL_DD0003.nii.gz"
"${dtFile_noext}-FSL_DD0002.nii.gz" "${dtFile_noext}-FSL_DD0004.nii.gz"
"${dtFile_noext}-FSL_DD0005.nii.gz"
    rm -f "${dtFile_noext}-FSL_DD"*

    scriptMsg "Generating FSL fibre tracks..."
    dti_tracker "${dtFile_noext}-FSL" "${dtFile_noext}-FSL-$angleThresh.trk" -it nii.gz
-at $angleThresh -m "${dtFile_noext}-FSL_S0.nii.gz"
    spline_filter "${dtFile_noext}-FSL-$angleThresh.trk" 1 "${dtFile_noext}-FSL-
$angleThresh-spline.trk"
    echo ""
fi

scriptMsg "Generating DTI parameters with Diffusion Toolkit..."
dti_recon "$dtFile" "${dtFile_noext}-DTK" -ot nii.gz -gm "$bvecFile" -b $bval -b0 1

scriptMsg "Generating Diffusion Toolkit fibre tracks..."
dti_tracker "${dtFile_noext}-DTK" "${dtFile_noext}-DTK-$angleThresh.trk" -it nii.gz -at
$angleThresh -m "${dtFile_noext}-DTK_dwi.nii.gz"
    spline_filter "${dtFile_noext}-DTK-$angleThresh.trk" 1 "${dtFile_noext}-DTK-
$angleThresh-spline.trk"
    echo ""

# Wait for the spawned processes to finish
if [ $afniFlag ]; then
    scriptMsg "Waiting for AFNI to finish processing..."
    wait $afniPID

    scriptMsg "Generating AFNI fibre tracks..."
    cp "${dtFile_noext}-AFNI_DT.nii.gz" "${dtFile_noext}-AFNI_tensor.nii.gz"
    dti_tracker "${dtFile_noext}-AFNI" "${dtFile_noext}-AFNI-$angleThresh.trk" -it
nii.gz -at $angleThresh -m "${dtFile_noext}-AFNI_MD.nii.gz"
    spline_filter "${dtFile_noext}-AFNI-$angleThresh.trk" 1 "${dtFile_noext}-AFNI-
$angleThresh-spline.trk"
    rm "${dtFile_noext}-AFNI_tensor.nii.gz"
fi
if [ ! $notvFlag ]; then
    scriptMsg "Launching TrackVis..."
    if [ $afniFlag ]; then
        TrackVis "${dtFile_noext}-AFNI-$angleThresh-spline.trk" &
    fi
    if [ $fslFlag ]; then
        TrackVis "${dtFile_noext}-FSL-$angleThresh-spline.trk" &
    fi
    TrackVis "${dtFile_noext}-DTK-$angleThresh-spline.trk" &
fi

```