



Patrícia Andreia Alves da Mota

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

Avaliação do grau de demência de doentes com Síndrome de Down com base na volumetria do hipocampo

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientador: Prof. Dra. Carla Quintão
Co-orientador: Dr. Paulo Saraiva
Co-orientador: Prof. Dr. Mário Secca

Júri:

Presidente: Doutora Maria Adelaide de Almeida Pedro de Jesus
Arguente(s): Doutor Pedro Manuel Cardoso Vieira
Vogal(ais): Doutor Mário António Basto Forjaz Secca
Dr. Paulo Eduardo Felipe Gomes Saraiva

Avaliação do grau de demência de doentes com Síndrome de Down com base na volumetria do hipocampo

Orientador: Prof. Dra. Carla Quintão
Co-orientador: Dr. Paulo Saraiva
Co-orientador: Prof. Dr. Mário Secca

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Departamento de Física

Faculdade de Ciências e Tecnologia,
Universidade Nova de Lisboa

Março de 2013

Direitos de Cópia

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

Aos meus Pais e ao Henrique.

Agradecimentos

O trabalho que com bastante apreço apresento foi realizado na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa em parceria com o Hospital Garcia de Orta de Almada. Tenho que atribuir um especial agradecimento ao Dr. Paulo Saraiva, por ter proposto este aliciente e entusiasmante projeto que me levou a aprofundar conhecimentos nesta área que tanto me fascina, a Neurociência.

À Prof. Dr.^a Carla Quintão, minha orientadora, tenho que agradecer toda a sua disponibilidade, partilha de conhecimentos/experiências e toda a sua amizade! É sem dúvida uma pessoa com um carácter extraordinário, Muito Obrigada!

Ao Prof. Dr. Mário Secca, meu co-orientador, quero endereçar-lhe o meu sincero agradecimento, não só por toda a disponibilidade prestada neste projeto, como também por toda a ajuda e apoio desde a minha chegada a esta Instituição.

Não posso deixar de endereçar e expressar um enorme agradecimento à minha colega e amiga Rita Martins, que teve sem dúvida um papel muito importante na realização deste projeto, mesmo nas alturas em que estávamos mais apertadas com trabalho, "Vá vamos lá fazer mais um caso, e depois vamos comer Sushi!", dizíamos uma à outra! Quero também agradecer-lhe por toda a sua amizade e humildade que faz com que seja esta pessoa tão especial!

A todos os meus amigos FCTenses : Filipa Ferreira, Ricardo Ribeiro, Sara Ferreira, Ana Catarina Franco, Ana Carolina Pádua, Vanessa Cunha, Margarida Félix, Inês Santos, Joana Lobato, Mauro Ribeiro, Marcelo Santos, Ana Margarida Aires e Carlos Santos. Não tenho palavras para agradecer a vossa hospitalidade e amizade! Ao Carlos Santos, quero endereçar ainda um agradecimento por toda a disponibilidade e ajuda com o LateX.

À Ana e ao Nuno por sempre me terem apoiado nesta etapa da minha vida em Lisboa! Um obrigado por toda a amizade e companheirismo!

Às minhas pimposas: Daniela Silva, Daniela Rocha e Cátia Pereira, que sempre me

apoiaram em todas as etapas da minha vivência académica e pessoal! Um muito obrigada!

Quero também agradecer aos meus familiares: Madrinha, Padrinho, Tios, Primos e à macaquinha da minha afilhada Beatriz, que sempre me receberam calorosamente com o seu carinho e palavras de incentivo!

Aos meus Avós Américo e Arménia, um agradecimento por todo o apoio, valores transmitidos, amor e carinho dedicado em toda a minha vida!

À minha guerreira: Avó Mota, que me fez acreditar com a sua coragem e história de vida, que sempre conseguimos alcançar os nossos objectivos lutando por eles!

Um especial agradecimento ao meu "sogro", Júlio Fernandes por todas as palavras de apoio e carinho transmitidas ao longo destes anos! Obrigada por me motivar sempre para atingir todos os meus objectivos!

Ao meu noivo, Henrique Fernandes, por sempre me fazer acreditar nas minhas capacidades! E por continuar a acreditar que consigo ir mais longe do que penso! Agradeço-lhe toda a disponibilidade, carinho, apoio, e amor incondicional...

Por último: aos meus Pais, José Luís e Maria Aurora, que sempre lutaram para que eu fosse o que hoje sou: uma pessoa realizada e com princípios! Obrigada por toda a luta, compreensão, esforço, dedicação, carinho e amor!

Resumo

A neurociência é uma área com uma elevada margem de exploração, existindo atualmente uma crescente necessidade em investigar e compreender as patologias associadas a disfunções cerebrais.

Esta dissertação pretende estabelecer, com base na volumetria do hipocampo a partir de imagens por Ressonância Magnética (IRM), as diferenças entre populações com e sem demência na patologia *Síndrome de Down* (SD). A SD tem sido proposta como modelo para estudar as fases de pré-demência na doença de *Alzheimer* (DA).

O cálculo de volumes do hipocampo esquerdo e direito foi realizado com recurso a dois métodos distintos de segmentação - manual e automática (*FSL* e *FreeSurfer*). Com o intuito de obtermos uma aproximação o mais precisa e realista possível, realizou-se ainda uma correção individual dos volumes destas estruturas em função do volume total intracraniano (VTI).

Entre os principais contributos científicos deste projeto para o conhecimento atualmente existente sobre a DA, destacam-se: a avaliação de métodos automáticos de segmentação em estudos de volumetria do hipocampo em doentes com SD, por comparação com um método manual (com recurso a três planos anatómicos); e ainda o estudo da normalização do hipocampo com o volume de substância cinzenta (VSC).

Os resultados obtidos neste projeto indicam não só a existência de uma melhor analogia entre a segmentação manual e o *FSL*, como também a introdução da normalização com o VSC como solução válida neste tipo de estudos, tendo as limitações associadas ao projeto impossibilitado uma determinação precisa da relação entre o volume do hipocampo e estado de demência. No entanto, estes resultados revelam-se promissores, abrindo novas portas para a possibilidade de desenvolvimento de soluções integradas que permitirão contribuir para a exploração da DA com a precisão e rapidez desejadas.

Palavras-chave: *Síndrome de Down*, segmentação, hipocampo.

Abstract

Neuroscience is expanding rapidly due to the great need to better understand the impact of neuroanatomical differences in the dynamics underlying brain diseases.

This Master thesis aims to explore the difference between *Down Syndrome* (DS) patients with and without dementia, using Magnetic Resonance imaging (MRI) to produce an hippocampal volumetric quantitative comparison between populations. DS has been proposed as a model to study pre-dementia in *Alzheimer* disease (AD).

In this project different segmentation methods - manual and automatic (*FSL* and *FreeSurfer*) - were used to produce a volumetric analysis of both left and right hippocampus. Correction for normal variation of total intracranial volume (VIT) was performed individually to adjust for absolute intersubject differences.

Among the main scientific contributes that this projects aims to add to the existing knowledge on AD, we can highlight: the evaluation of the performance of automatic tissue segmentation algorithms in hippocampal volumetric studies on patients with DS, by comparison with a manual method (using 3 anatomical planes); and also the evaluation of the grey matter volume (GMV) as an alternative reference in the normalization of the hippocampal volume.

Our findings suggest not only that the best correlation is found between the *FSL* and the manual segmentation, but also the evidence of the GMV as a precise and reliable solution for the intersubject difference correction in this type of studies. The limitations associated to this project compromised the accuracy of any further conclusions on the relationship between the hippocampal volume and dementia. However, these results have shown to be very promising, opening new windows to the possibility of developing fast and accurate integrated solutions that will lead to a clinically efficient exploration of the AD.

Keywords: Down Syndrome, segmentation, hippocampus.

Índice

Índice	xv
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
Lista de Siglas	xxiii
1 Introdução geral	1
2 Fundamentos de Anatomia e Fisiologia Cerebral	3
2.1 Cérebro	3
2.1.1 Hipocampo	5
3 Síndrome de Down	7
3.1 Incidência	8
3.2 Genética	8
3.3 Causas	9
3.4 Diagnóstico	10
3.5 Tratamento	10
3.6 Hipocampo	10
3.7 Demência de Tipo Alzheimer	11
4 Imagem por Ressonância Magnética	13
4.1 Princípios Físicos	13
4.2 Processos de Relaxação	14
4.3 Formação de Imagem em IRM	15
4.4 Volume Parcial	17
4.5 Segmentação	18
4.5.1 <i>Softwares</i>	19
5 Metodologia	21
5.1 Casos Clínicos	21

5.2	Segmentação Manual	22
5.3	Segmentação Automática	23
5.3.1	<i>FSL</i>	23
5.3.2	<i>FreeSurfer</i>	24
5.4	Normalização	26
5.4.1	<i>SPM8</i>	26
5.4.2	<i>FSL</i>	28
5.4.3	<i>FreeSurfer</i>	29
5.5	Tratamento Estatístico	29
6	Apresentação e Discussão dos Resultados	31
6.1	Segmentação do Hipocampo	32
6.2	Comparação entre os <i>Softwares</i>	34
6.3	Normalização	40
6.4	Relação entre Idade e Volume Substância Cinzenta	47
6.5	Relação entre Idade e Volume Hipocampo	48
6.6	Relação entre Hipocampo Esquerdo e Direito	49
7	Conclusões	53
7.1	Conclusões	53
7.2	Condicionantes	55
7.3	Perspectivas Futuras	55
	Bibliografia	57
A	Caracterização da amostra	63
B	Etapas do processamento do <i>FreeSurfer</i>	65
C	Volumes Hipocampo Esquerdo e Direito	67
D	Volumes Tecidos	69
E	Volumes de hipocampo normalizados	71
F	Gráficos sem <i>outlier</i>	73
G	Resultados dos volumes de hipocampo total obtidos pela segmentação manual	79

Lista de Figuras

2.1	Ilustração do SNC num embrião de sete semanas.	4
2.2	Ilustração das regiões funcionais do cérebro.	4
2.3	Imagem cerebral indicando os principais lobos cerebrais.	5
2.4	Desenho das principais estruturas anatómicas que afectam a memória.	5
2.5	Imagem cerebral indicando os principais lobos cerebrais.	6
3.1	Relação entre o risco de ter uma criança com SD e a idade da progenitora.	9
4.1	Representação dos diferentes tempos de relaxação T_1 para os três tipos de tecidos cerebrais.	16
4.2	Representação dos diferentes tempos de relaxação T_2 para os três tipos de tecidos cerebrais.	16
4.3	Contraste em imagem de ressonância magnética. Esquerda - densidade protónica, Meio - imagem com ponderação em T_1 e Direita - imagem com ponderação em T_2	17
4.4	Artefacto volume parcial em RMN.	17
5.1	Imagem exemplificativa da segmentação manual do hipocampo esquerdo e direito para o Paciente 1.	22
5.2	Limites de seleção do protocolo de <i>Jack et al. adaptado do critério de Watson et al.</i>	23
5.3	Interface do FSLView: imagem com ponderação em T1 sobreposta com o resultado da segmentação dos hipocampos esquerdo e direito.	24
5.4	Interface de visualização do FreeSurfer com a segmentação do hipocampo direito.	25
6.1	Ilustração da segmentação manual do hipocampo esquerdo (do lado esquerdo) e direito (do lado direito) com o <i>MRIcron</i> para o Paciente 1.	32
6.2	Ilustração da segmentação automática do hipocampo esquerdo (em cima) e direito (em baixo) com o <i>FSL</i> para o Paciente 1.	32
6.3	Ilustração da segmentação automática no <i>FreeSurfer</i> do Paciente 1, com os hipocampos a amarelo.	33

6.4	Ilustração da sobreposição das segmentações do hipocampo esquerdo pelos diferentes programas. A verde o <i>FreeSurfer</i> , a azul <i>FSL</i> e a vermelho <i>MRIcron</i> para o Paciente 1.	33
6.5	Ilustração de segmentação manual feita por um clínico na <i>workstation</i> utilizando apenas o plano coronal.	34
6.6	Representação gráfica da correlação entre as segmentações automáticas - <i>FreeSurfer</i> e <i>FSL</i> - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).	35
6.7	Representação gráfica da correlação entre a segmentação manual - <i>MRIcron</i> - e a segmentação automática - <i>FSL</i> - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).	35
6.8	Representação gráfica da correlação entre a segmentação manual e a segmentação automática - <i>FreeSurfer</i> - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).	36
6.9	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre os métodos automáticos <i>FSL</i> e <i>FreeSurfer</i> . Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).	37
6.10	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre a segmentação manual e o método automático <i>FSL</i> . Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).	38
6.11	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre a segmentação manual e o método automático <i>FreeSurfer</i> . Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).	38
6.12	Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pelo <i>FSL</i> e pelo <i>FreeSurfer</i> normalizados com os respectivos valores de volume de substância cinzenta, esquerdo (a) e direito (b).	41
6.13	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pelo <i>FSL</i> e pelo <i>FreeSurfer</i> normalizados respectivamente com o VSC do <i>FSL</i> e do <i>FreeSurfer</i> , esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).	42
6.14	Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtido pelo <i>FSL</i> e pelo <i>FreeSurfer</i> , esquerdo (a) e direito (b).	43

6.15	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pela segmentação manual normalizados respectivamente com o VSC do <i>FSL</i> e do <i>FreeSurfer</i> , esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP=Desvio Padrão).	44
6.16	Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pelo <i>FreeSurfer</i> normalizados com o VSC e com o VTI obtido pelo <i>FreeSurfer</i> , esquerdo (a) e direito (b).	45
6.17	Gráfico <i>Bland – Altman</i> que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pelo <i>FreeSurfer</i> normalizados com o VSC e com o VTI obtidos pelo <i>FreeSurfer</i> , esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP=Desvio Padrão).	46
6.18	Análise da correlação da idade com o volume da substância cinzenta obtida pelo <i>FreeSurfer</i> . A vermelho encontram-se assinalados os pacientes com demência.	47
6.19	Análise da correlação da idade com o volume da substância cinzenta obtida pelo <i>FSL</i> . A vermelho encontram-se assinalados os pacientes com demência.	47
6.20	Análise da correlação da idade com o volume de hipocampo, esquerdo (a) e direito (b) obtido da segmentação manual normalizado com o VSC obtido pelo <i>FreeSurfer</i>	48
6.21	Análise da correlação da idade com o volume de hipocampo, esquerdo (a) e direito (b) obtido da segmentação manual normalizado com o VTI obtido pelo <i>FreeSurfer</i>	49
6.22	Gráficos da correlação entre volumes normalizados, (a) <i>FSL</i> , (b) <i>FreeSurfer</i> e (c) segmentação manual.	50
6.23	Ilustração em 3D dos resultados da segmentação obtida pelas diferentes técnicas para o hipocampo esquerdo e direito do Paciente 12. A verde (esquerdo e direito) - <i>FSL</i> , a vermelho (esquerdo e direito) - Manual, e a azul (esquerdo e direito) - <i>FreeSurfer</i>	51
6.24	Representação gráfica do volume do hipocampo normalizado com o VTI em relação à demência.	52
F.1	Respectivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.1	74
F.2	Respectivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.2	75
F.3	Respectivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.2	76
F.4	Respectivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.4	77
G.1	Gráficos de correlação para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - <i>FSL</i> e a segmentação manual.	79

- G.2 Gráficos de correlação para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FreeSurfer e a segmentação manual. . 80
- G.3 Gráficos de Bland-Altman para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FSL e a segmentação manual. . 80
- G.4 Gráficos de Bland-Altman para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FreeSurfer e a segmentação manual. 81

Lista de Tabelas

5.1	Informação dos parâmetros das imagens de RM para cada indivíduo e respectivas características.	22
6.1	Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 8. (HE= hipocampo esquerdo, HD=hipocampo direito)	39
6.2	Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem os casos 8 e 11 para o HD e para o HE.	42
6.3	Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 11 para o HD e para o HE.	44
6.4	Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 11 para o HD e para o HE.	46
A.1	Género, Idade e Declínio Cognitivo para cada paciente	63
B.1	Diferentes etapas de segmentação	65
C.1	Volumes em mm^3 do hipocampo esquerdo e direito obtidos pelas diferentes segmentações.	67
D.1	Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o <i>FSL</i>	69
D.2	Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o <i>SPM8</i>	70
D.3	Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o <i>FreeSurfer</i>	70
E.1	Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação obtida pelo <i>FSL</i> e pelo <i>FreeSurfer</i> , normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo <i>FSL</i> e com o <i>FreeSurfer</i> , em %.	71
E.2	Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação manual, normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo <i>FSL</i> e com o <i>FreeSurfer</i> , em %.	72
E.3	Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação obtida pelo <i>FreeSurfer</i> , normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo <i>FreeSurfer</i> e com o VTI obtido pelo <i>FreeSurfer</i> , em %.	72

LISTA DE TABELAS

Lista de siglas

.mgz	mgh gz. Representa uma versão compacta de um ficheiro com formato .mgh com recurso à ferramenta Zlib
APP	Proteína precursora de amilóide (do inglês amyloid precursor protein)
CA	Corno Ammon
DA	Doença de Alzheimer
DAT	Demência do Tipo Alzheimer
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
DP	Desvio Padrão
FID	<i>Free Induction Decay</i>
FOV	Campo de Visão (do inglês, <i>Field Of View</i>)
GD	Giro Dentado
GUI	<i>Graphical User Interface</i>
HD	Hipocampo Direito
HE	Hipocampo Esquerdo
IRM	Imagem por Ressonância Magnética
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
mseg	milisegundos
<i>NIFTI</i>	<i>Neuroimaging Informatics Technology Initiative</i>
QI	Quociente de Inteligência
RF	Radiofrequência
RM	Ressonância Magnética
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SD	Síndrome de Down
SNC	Sistema Nervoso Central
TC	Tomografia Computadorizada
TE	Tempo de Eco
TR	Tempo de Repetição
VSC	Volume de Substância Cinzenta
VTI	Volume Total Intracraniano

LISTA DE SIGLAS

1

Introdução geral

A *Síndrome de Down* (SD) é o resultado de uma anomalia cromossómica, em que existe um cromossoma 21 extra. Esta patologia afecta pessoas de todas as classes económicas, socioculturais e étnicas^[1], e existe uma forte evidência científica de relação entre esta patologia e a diminuição do volume do cérebro destes indivíduos. Algumas zonas do cérebro são principalmente afectadas por esta redução de volume^[2], tal como o hipocampo, que é responsável pelo desenvolvimento de aprendizagem e memória^[3]. A SD, tem sido proposta como modelo para estudar as fases de pré-demência na Doença de Alzheimer (DA), uma vez que existe uma complexa ligação entre o cromossoma 21 e a DA^[2].

As imagens de RM são fulcrais no ambiente clínico para o estudo e análise destas patologias. Os clínicos estudam a volumetria do hipocampo com recurso ao método de segmentação manual em IRM, existindo também a possibilidade de recurso ao método de segmentação automática por forma a reduzir o tempo consumido por uma segmentação manual principalmente em amostras de grande número.

Estrutura da tese

Esta dissertação pretende verificar se é possível através do cálculo do volume do hipocampo de doentes com *Síndrome de Down*, estabelecer diferenças entre aqueles que apresentam demência e os que não apresentam. O cálculo de volumes é feito por dois métodos distintos - segmentação manual e segmentação automática - por forma a avaliar as diferenças obtidas e, portanto, o grau de fiabilidade dos resultados encontrados.

Esta dissertação encontra-se dividida em 8 capítulos principais.

2

Fundamentos de Anatomia e Fisiologia Cerebral

2.1 Cérebro

O cérebro é um dos órgãos mais importantes do corpo humano, é responsável pelo controle de funções cognitivas e pensamento.

As primeiras fases de desenvolvimento do Sistema Nervoso Central (SNC) de todos os vertebrados, tem a mesma estrutura básica: proliferação, simetria bilateral, assim como a formação do tubo neural.

O tubo neural divide-se em três constituintes principais: prosencéfalo (o diencéfalo e o telencéfalo) , mesencéfalo e rombencéfalo (mielencéfalo e metencéfalo), seguido pela medula espinhal (ver Figura 2.1) ^{[4][5]}

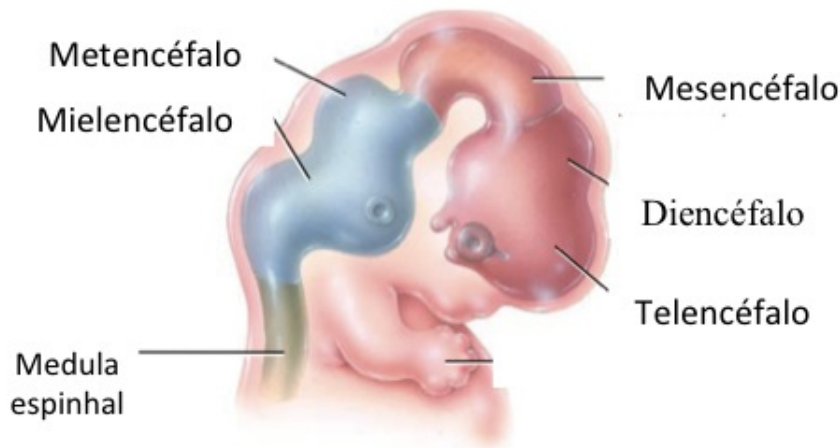


Figura 2.1: Ilustração do SNC num embrião de sete semanas. Adaptado de^[6]

As meninges e o crânio, têm a função de proteção cerebral. As meninges são constituídas pela duramáter - estrutura superficial, pela aracnóideia - estrutura intermédia, e pela piamáter - estrutura interior^[7]. O líquido cefalorraquidiano possui também essa função, no entanto possui sobretudo outras (transporte e nutrição). Este circula nos espaços entre a aracnóideia e a piamáter. A substância branca e a substância cinzenta são constituintes cerebrais. A substância branca rodeia a substância cinzenta que forma uma camada superficial designada por córtex e umas camadas mais profundas designadas por núcleos^[8]

O córtex cerebral está organizado em regiões funcionais. Além de áreas específicas dedicadas a funções sensoriais e motoras, existem áreas que integram informações de múltiplas fontes. O córtex cerebral tem um papel fulcral nas funções intelectuais, incluindo os aspectos de armazenamento de memória, linguagem, funções cognitivas superiores, a percepção consciente, integração sensorial e planeamento/ execução da atividade motora complexa (ver figura 2.2)^[9]^[7]^[4].

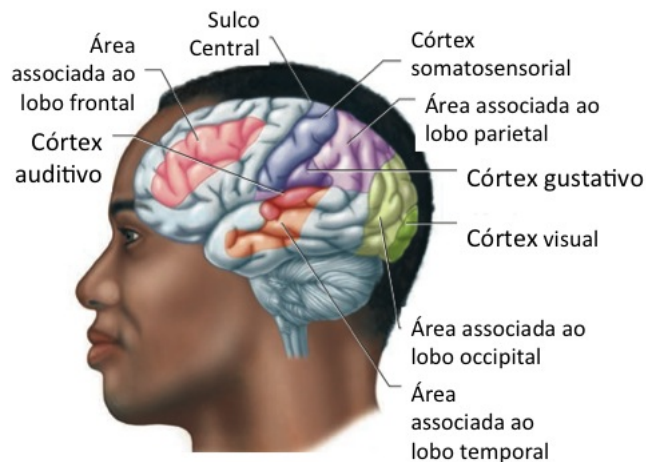


Figura 2.2: Ilustração das regiões funcionais do cérebro. Adaptado de^[6]

CAPÍTULO 2. FUNDAMENTOS DE ANATOMIA E FISIOLOGIA CEREBRAL

Cada hemisfério cerebral é formado por quatro lobos, frontal, parietal, temporal e occipital, que adoptam o nome do osso da calote craniana com o qual se relacionam topograficamente. Sem expressão visível na superfície cerebral, descrevem-se mais dois outros lobos, o da ínsula e o límbico. (ver figura 2.3)^{[9] [7] [10]}.

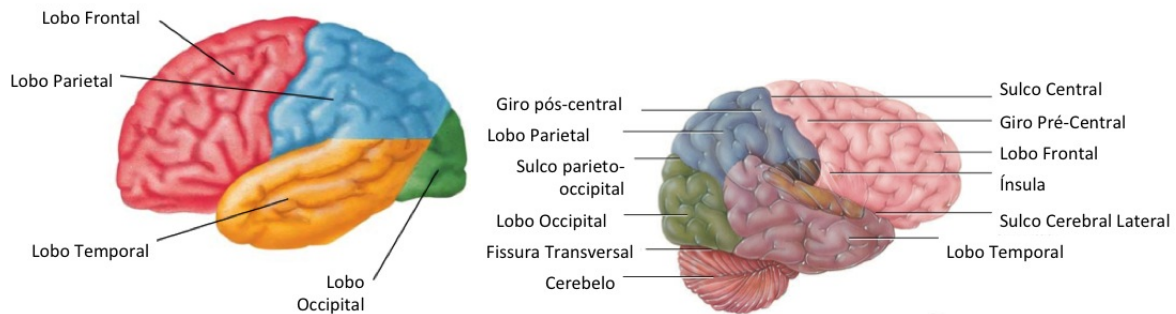


Figura 2.3: Imagem cerebral indicando os principais lobos cerebrais. Adaptado de^{[9] [7]}

O lobo límbico, é formado pelo hipocampo, pela circunvolução para-hipocâmpica e pela circunvolução do cíngulo^[11]. O lobo límbico encontra-se associado a estruturas subcorticais constituindo o sistema límbico. Estas estruturas incluem a amígdala, a habénula, os corpos mamilares e os núcleos septais, algumas partes do tálamo, do hipotálamo e do mesencéfalo^[12].

2.1.1 Hipocampo

O hipocampo faz parte das principais estruturas anatómicas envolvidas na memória (ver figura 2.4). O sistema de memória do hipocampo inclui o hipocampo e os córtices *entorrinal*, *perirrinal* e *posrinal* na região adjacente hipocampal. A anatomia destas regiões, em especial o hipocampo, são semelhantes entre as espécies de mamíferos, por isso os ratos são usados como modelo *in vivo* para estudos científicos^[5].

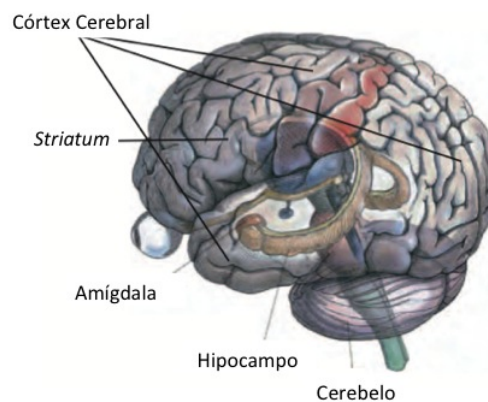


Figura 2.4: Desenho das principais estruturas anatómicas que afetam a memória. Adaptado de^[5]

O hipocampo é uma região única e vital que se encontra em cada um dos hemisférios cerebrais. O hipocampo tem um papel importante na memória a curto termo. Na maio-

ria dos indivíduos, o hipocampo esquerdo domina principalmente na aprendizagem verbal e memória, enquanto que o lado direito, domina na memória não verbal [8] [13].

Anatomicamente, o hipocampo é dividido em três partes (corpo, cabeça e cauda) [14] (ver figura 2.5(b)), e formado especialmente por duas estruturas, o corno Ammon (CA) e o giro dentado (GD), separadas por um sulco, o sulco do hipocampo. O CA é dividido, pela sua diferente histologia em quatro zonas, CA1, CA2, CA3 e CA4, com diferentes graus de resistência à hipoxia. O CA1 continua-se pelo subiculum, parte da circunvolução parahipocâmpica, e o CA4 é a zona contígua ao GD. O fórnix é a via eferente do hipocampo, que contém, essencialmente os axónios (as fibras) das células piramidais do CA. Estas fibras iniciam-se formando o alveus, que separa superiormente a cabeça hipocâmpica do corno ventricular inferior. Convergem depois medialmente na fímbria, que corre na face superior do GD e que vai aumentando progressivamente de volume até formar as cruras (braços posteriores) do fórnix. [8] [15] [16] [14].

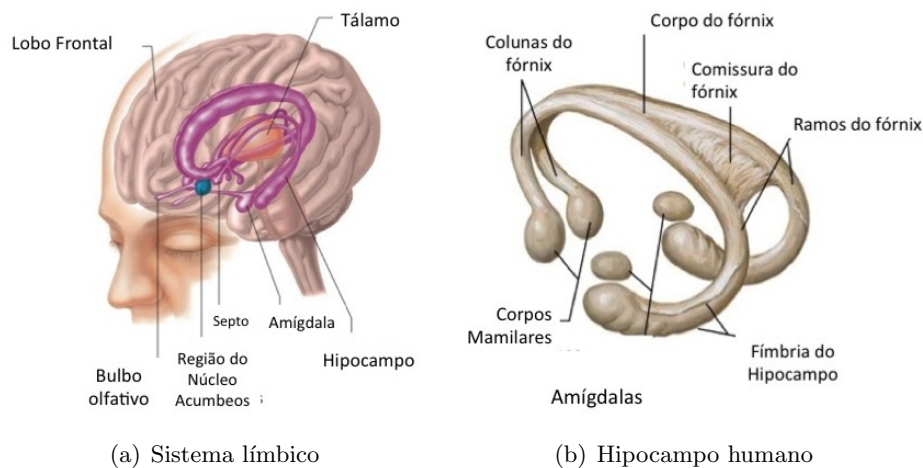


Figura 2.5: Ilustração do sistema límbico e hipocampo humano. Adaptado de [9] [6]

A visualização do hipocampo em IRM é extremamente útil na detecção de patologias, tal como a *Síndrome de Down* [16].

3

Síndrome de Down

Em 1866, o médico inglês John Langdon Down, ao trabalhar com pessoas com deficiência intelectual, observou que a aparência de um grande número dos seus pacientes era tão similar entre eles, que facilmente poderiam ser confundidos como irmãos. Numa clássica descrição, registou que estes indivíduos possuíam um rosto largo e plano, uma língua grossa e um nariz pequeno, e capacidades cognitivas limitadas^[1]. Apesar de esta descrição já ter sido feita antes por outras pessoas, foi Down que publicou pela primeira vez a descoberta destas características^[17].

Em 1959, um médico francês, Jerome Lejeune identificou a *Síndrome de Down* como uma anomalia cromossómica. Em vez dos usuais 23 pares de cromossomas em cada célula, Lejeune observou 23 pares de cromossomas mais um cromossoma extra nos indivíduos com *Síndrome de Down*. Mais tarde, foi descoberto que o cromossoma extra - 21 - resultava nas características predominantes nos indivíduos com estas alterações.

Em 2000, uma equipa internacional de investigadores, identificou e "catalogou" cada um dos 329 genes do cromossoma 21, permitindo assim abrir grandes portas na investigação sobre esta anomalia genética^[18].

A *Síndrome de Down* pode afectar pessoas de todas as classes económicas, socioculturais e étnicas, sendo a idade avançada da progenitora um coadjuvante para este distúrbio.

Semelhante a quase todas as condições que resultam de desequilíbrios cromossômicos, a *Síndrome de Down* afecta vários sistemas e produz tanto defeitos estruturais como funcionais^[3].

O sistema nervoso central é vulnerável aos efeitos de Trissomia 21 ao longo da vida, sendo a deficiência intelectual a característica mais marcante da *Síndrome de Down*, reflectida no quociente de inteligência (QI) destes indivíduos - entre 30 e 70, com uma média de 50 (o QI de um sujeito normal em média é de 100). A linguagem, aprendizagem e memória são capacidades severamente afectadas pela *Síndrome de Down*.

Existe uma forte evidência científica de que o volume do cérebro destes indivíduos é menor, sendo o cérebro dos adultos com esta patologia ainda mais pequeno, em cerca de 20%, quando comparado com sujeitos saudáveis^[19].

3.1 Incidência

Calcula-se que a incidência anual em Portugal de indivíduos com Trissomia 21 se encontra entre os 100 a 120 nascimentos, estimando-se que existam no nosso país entre 12000 a 15000 pessoas portadoras desta síndrome^[20].

3.2 Genética

O erro mais comum responsável pela SD (cerca de 95% dos casos) ocorre na divisão celular e designa-se por "não disjunção"^[1]. No entanto, apesar de ocorrer com menor frequência, existem ainda outros dois tipos de anomalias cromossômicas responsáveis por este erro genético: o mosaicismo ($\sim 1\%$) e a translocação ($\sim 4\%$)^[2].

A não disjunção é um defeito na divisão celular, que resulta num embrião com três cópias do cromossoma 21, em vez dos habituais dois. A anomalia cromossômica pode acontecer antes ou no momento da concepção. Após este acontecimento ocorre o desenvolvimento do embrião, e como consequência o cromossoma extra é replicado em todas as células do corpo^{[1][18][2]}.

O mosaicismo ocorre quando a não-disjunção do cromossoma 21 tem lugar numa das divisões celulares iniciais após a fertilização. Quando tal ocorre, existe uma mistura de dois tipos de células, algumas com 46 cromossomas e outras com 47. Estas últimas têm um cromossoma extra, o 21.

Na translocação, parte do cromossoma 21 rompe durante a divisão celular e atribui a

outro cromossoma essa informação genética. Como na não disjunção, a translocação, ocorre antes ou no momento da concepção. Mas ao contrário da não disjunção, na translocação a idade da progenitora não é considerada factor de risco. Apesar da maior parte dos casos serem esporádicos, em cerca de 30% destes, um dos progenitores é portador de um cromossoma translocado^{[1][18][2]}. Alguns estudos indicam que o mosaicismo afecta menos as características físicas e mentais destes indivíduos do que a não disjunção ou a translocação^{[1][18][2]}.

3.3 Causas

A idade materna avançada continua a ser o factor de risco mais em evidência da não disjunção, embora outros factores tenham sido relatados nas últimas décadas. O risco de ter uma criança com SD aumenta de forma linear até cerca dos 30 anos de idade e exponencialmente depois dessa idade (ver figura 3.1)^[21]. O risco de ter uma criança com SD é de aproximadamente 1/1300 para uma mulher com 25 anos de idade, 1/135 para os 35 anos, e de 1/30 aos 45 anos. Outro factor de risco igualmente apontado, é a idade avançada da avó materna na altura da fecundação da filha^[22].

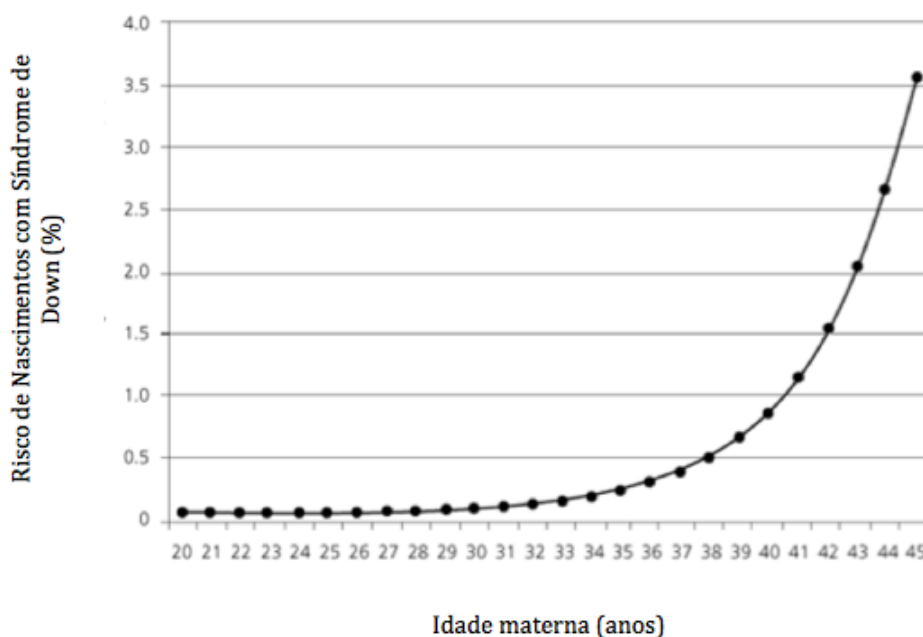


Figura 3.1: Relação entre o risco de ter uma criança com SD e a idade da progenitora. Adaptado de^[21]

Alguns investigadores indicam que um curto intervalo de tempo entre dois estados de gravidez pode também ser um factor de risco para a SD, dado que a progenitora teria, estatisticamente, menos tempo para cuidados maternos suficientes, uma vez que o seu tempo e recursos seriam divididos.

3.4 Diagnóstico

Existem dois tipos de testes disponíveis durante a gravidez: rastreio e diagnóstico. Testes de rastreio estimam o risco do feto ter *Síndrome de Down*, enquanto os testes de diagnóstico indicam se o feto tem ou não esta anomalia genética.

A SD pode ser detectada com recurso à ecografia fetal, ou através do rastreio bioquímico (análise ao sangue da progenitora). Se estes resultados forem anormais, a grávida poderá optar pela realização de testes adicionais, como uma biopsia de vilosidades coriônicas ou uma amniocentese, que permitirão confirmar a existência ou ausência de alterações nos cromossomas do feto, entre as quais a Trissomia 21.

Após o nascimento de um bebé, o diagnóstico é feito, na maior parte das vezes, com base na sua aparência. A maioria dos bebés, ou crianças com SD, apresentam certas características, tais como: face e nuca achatadas; olhos oblíquos; pequenas pregas cutâneas extra nos cantos dos olhos; orelhas, nariz e boca pequenas; língua grande; baixa estatura; mãos e pés pequenos; e deficiência mental, com gravidade variável. Além das características físicas típicas e do atraso no desenvolvimento psico-motor, também apresentam outros problemas de saúde associados à SD, como: pouco aumento de peso nos bebés, defeitos cardíacos, malformações nomeadamente intestinais e/ou do sistema renal, diminuição da audição, problemas oculares, deficiência na produção hormonal por parte da tiroide (hipotiroidismo), problemas esqueléticos^[20].

3.5 Tratamento

Apesar de atualmente não existirem quaisquer tratamentos para anular esta anomalia genética, muitos dos problemas de saúde e de desenvolvimento associados podem ser tratados com recurso à fisioterapia e educação especial. Estas ações estimulam o desenvolvimento da criança e promovem o aumento da qualidade e esperança média de vida^[20].

3.6 Hipocampo

Na SD é visível a microcefalia e uma redução dos volumes do cerebelo e lóbulos frontais. No entanto, evidências da redução do volume do hipocampo em indivíduos com SD, não são encontradas nos primeiros anos de vida. Apesar do número reduzido de estudos realizados com crianças e adolescentes com SD, um estudo sobre adolescentes com esta patologia, encontrou um padrão de resultados semelhante ao encontrado em adultos, isto é, microcefalia e volumes relativamente pequenos do córtex frontal, hipocampo, cerebelo e corpo caloso^{[23] [24]}.

3.7 Demência de Tipo Alzheimer

O início precoce de sintomas de demência pode variar de pessoa para pessoa, mas há evidência de que a aquisição de défices tende, geralmente, para os observados na doença de *Alzheimer* (DA)^[25]. Os primeiros sinais de demência em indivíduos com *Síndrome de Down* são geralmente a mudança de comportamento, memória, personalidade e aprendizagem^[26] ^[27].

A SD, tem sido proposta como modelo para estudar as fases de pré-demência na doença de Alzheimer^[18], dada a existência de uma complexa ligação entre o cromossoma 21 e a DA, promovida por uma proteína específica do cérebro - proteína precursora de amiloide (APP). O gene que codifica a APP encontra-se no cromossoma 21, e o facto de existirem três cópias deste gene, resulta na produção excessiva de APP e consequentemente no depósito da mesma no cérebro. Uma complexa sequência de acontecimentos conduz ao desenvolvimento de placas e tranças, que coincidem com os resultados clássicos da DA - a perda de células cerebrais^[28].

A redução de neurónios colinérgicos do prosencéfalo basal leva a um desenvolvimento anormal do hipocampo assim como do córtex, devido à formação anormal de sinapses. Estes acontecimentos acompanham o desenvolvimento da vida adulta, e são igualmente considerados factores de associação da SD à DA^[19].

Outras características presentes na DA, também visíveis na SD, são a microcefalia e a redução dos volumes do córtex frontal, hipocampo, amígdala, cerebelo, e lóbulos frontais^[23] ^[24].

A incidência desta doença neurodegenerativa, demência do tipo Alzheimer (DAT), que afecta os adultos com SD, varia com a idade, sendo cerca de 8% para indivíduos com idades compreendidas entre os 35 e os 40 anos, e de 22% para indivíduos com idade superior^[29].

CAPÍTULO 3. SÍNDROME DE DOWN

4

Imagem por Ressonância Magnética

Paul Lauterbur e Peter Mansfield em 1974 publicaram independentemente a técnica que mais tarde se tornou conhecida como ressonância magnética (RM), esta descoberta fez com que ganhassem o Nobel da Medicina. Desde a sua descoberta, esta técnica tem desempenhado um papel fulcral nas áreas de diagnóstico médico e investigação científica.

As potencialidades deste método de imagem médica e a sua versatilidade surgem da grande variedade de mecanismos de contraste que o processo de ressonância proporciona. Como outras vantagens desta técnica contam-se a total ausência de radiação ionizante e a sua elevada resolução espacial^[30].

4.1 Princípios Físicos

A técnica de IRM é baseada no fenómeno físico conhecido por ressonância magnética nuclear (RMN), definida pela capacidade dos núcleos absorverem radiação electromagnética e irradiarem de volta essa energia.

Os átomos mais importantes para aquisição do sinal de RMN são o ^1H , o ^{12}C , ^{16}O ou o ^{31}P . No entanto o ^1H , é o mais relevante uma vez que além de ser o mais abundante nos tecidos biológicos, possui uma razão giromagnética maior em relação aos restantes^{[31] [32] [33]}.

Na ausência de aplicação de um campo magnético externo, o conjunto de núcleos atômicos do mesmo tipo (sistema de *spin* nuclear) orienta-se de modo aleatório, resultando no cancelamento mútuo dos vectores de momento magnético (campo magnético de cada núcleo), e portanto na anulação da magnetização total deste sistema^[34].

Por sua vez, a aplicação de um campo magnético estático, B_0 , ao sistema de *spin* nuclear, fará com que os momentos magnéticos dos seus núcleos atômicos se alinhem segundo o campo aplicado - alinhamento paralelo, caso o sentido seja o do campo, ou anti-paralelo, caso o sentido seja o inverso do apresentado pelo campo, resultando na magnetização macroscópica do sistema, ou magnetização nuclear (somatório dos momentos magnéticos nucleares).

Em IRM, os núcleos atômicos são submetidos a curtos pulsos de radiofrequência (RF), provenientes de oscilações do campo magnético. Durante a utilização destes pulsos, existe uma absorção de energia que afectará o equilíbrio dos *spins*, provocando a alteração da orientação dos prótons e conseqüentemente o desalinhamento do vector de magnetização em relação ao campo magnético estático aplicado B_0 . Na fase de realinhamento do vector de magnetização com o campo magnético aplicado, a razão giromagnética dos núcleos de ^1H causará o fenómeno de precessão. Este movimento de precessão ocorre a uma frequência angular ω_0 (rad/s), diretamente proporcional a B_0 (Tesla). Conhecida a razão giromagnética dos núcleos γ , esta frequência é descrita pela equação de *Larmor* (Equação 4.1):

$$\omega_0 = \gamma B_0 \tag{4.1}$$

Durante esta fase de restabelecimento do equilíbrio (relaxação), existe emissão de energia electromagnética por parte dos núcleos atômicos, provocando a indução de um sinal de radiofrequência nas bobines receptoras do equipamento de RMN, que caracteriza o sinal de RM.^{[30] [35]}

4.2 Processos de Relaxação

Quando o vector de magnetização perde o seu equilíbrio por ação de um pulso de 90° , começará a precessar em espiral até recuperar o alinhamento com o B_0 , que corresponde ao estado de menor energia. Este movimento, conhecido por relaxação transversal ou interação *spin-spin*, produz um pulso de RF conhecido por envelope *FID*, com um tempo característico T_2 . Uma vez que se trata de um decaimento exponencial, T_2 descreve o tempo necessário para reduzir a M_{XY} para $1/e$ (37%) do seu valor original. Este sinal é então recebido pelas antenas em torno do sistema de *spin* para produzir imagens^[34].

Contudo, o sinal recebido pelas antenas decairá mais rapidamente do que T_2 , devido às inhomogeneidades do campo magnético aplicado. Este tempo característico é conhecido por

T_2^* e caracteriza-se como o sinal obtido logo após a rotação do vector de magnetização para o plano xy.

Se nos focarmos na recuperação da M_z até ao seu estado de equilíbrio, ou seja, na transição dos prótons para níveis energéticos inferiores (orientação paralela), culminando no valor original (máximo) de M_z , é possível medir outro tempo de relaxação, conhecido por tempo de relaxação longitudinal T_1 [36] [35] [37].

Através da seleção de determinados padrões de pulsos de sequência, é possível obter o tipo de ponderação e qualidade pretendida. Destacam-se assim as imagens com ponderação em T_1 , T_2 e densidade protónica [36] [35] [37].

4.3 Formação de Imagem em IRM

Depois de emitido o sinal de RM, é captado e codificado através de vários gradientes num espaço-k, sendo posteriormente aplicada a transformada de Fourier inversa 2D.

O espaço-K representa uma matriz, onde cada linha será preenchida com um eco. Uma característica importante do preenchimento do espaço-K, é que os extremos serão preenchidos com sinal de baixa amplitude, e o centro conterá sinal de maior amplitude, o que na imagem de RM resultará em contraste (preto e branco).

É a sequência escolhida que determina a forma como é preenchido o espaço-k. A RM baseia-se em três principais sequências: eco de *spin*, eco de gradiente e recuperação de inversão.

A sequência de eco de *spin* (SE) consiste na emissão de um pulso de RF de 90° , provocando o desfasamento dos *spins* e produzindo uma magnetização transversal máxima (M_{xy}), seguindo-se um pulso de RF de 180° , em que os *spins* reentram em fase, reaparecendo a magnetização transversal. Ao tempo que decorre entre o pulso de 90° e o aparecimento de sinal mensurável dá-se o nome de tempo de eco (TE), e ao tempo que decorre entre dois pulsos de 90° dá-se o nome de tempo de repetição (TR). Através da variação de TE e TR, é possível obter o tipo de ponderação e qualidade pretendida.

Destacam-se assim as imagens com ponderação em T_1 , T_2 e densidade protónica [36] [35] [37].

As imagens com ponderação em T_1 evidenciam o sinal dos tecidos com valores de tempo de relaxação baixos, como por exemplo os da gordura. Neste tipo de imagens, o contraste pode ainda ser ajustado através da variação do TR [36] [35] [37] (ver figura 4.1).

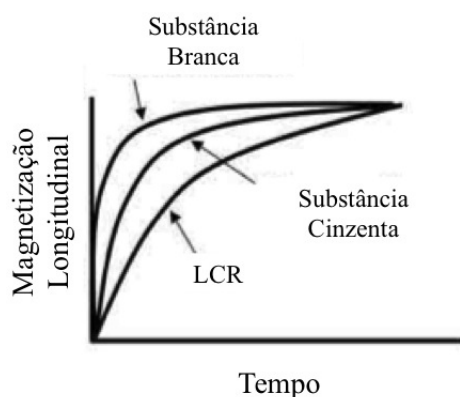


Figura 4.1: Representação dos diferentes tempos de relaxação T_1 para os três tipos de tecidos cerebrais. Adaptado^[34].

Nas imagens com ponderação em T_2 , a aplicação dos gradientes é atrasada, cerca de 30ms. Assim, os tecidos com valores de T_2 elevados, tais como os tecidos ricos em água, aparecem em tom mais claro. Este contraste pode ainda ser alterado, variando o tempo de eco (TE) (ver figura 4.2).

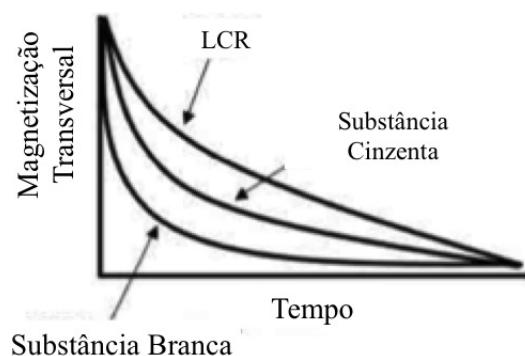


Figura 4.2: Representação dos diferentes tempos de relaxação T_2 para os três tipos de tecidos cerebrais. Adaptado^[34].

Por outro lado, as imagens com ponderação em densidade protónica, destacam a densidade dos prótons móveis, sendo estas imagens obtidas com TR longos e TE curtos^[35] [37].

Dadas as características encontradas nas imagens ponderadas em T_1 , entende-se que estas sejam adequadas à visualização e análise do corpo humano, dado o elevado detalhe e precisão com que é possível observar os tecidos moles, como o hipocampo uma estrutura de substância cinzenta. As imagens ponderadas em T_2 são por sua vez utilizadas em áreas normalmente caracterizadas pela presença de fluidos^[36] [38].

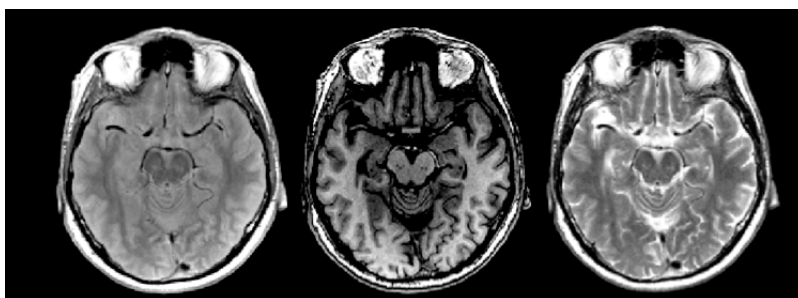


Figura 4.3: Contraste em imagem de ressonância magnética. Esquerda - densidade protónica, Meio - imagem com ponderação em T_1 e Direita - imagem com ponderação em T_2 . Adaptado^[39].

4.4 Volume Parcial

As imagens de ressonância magnética são compostas por pixéis (picture of element), atribuindo o voxel ou elemento de volume, a profundidade ao pixel^[31].

A matriz de imagem caracteriza-se pelo número de pixéis nas direções x e y, sendo definida pelo grau de inclinação do gradiente x, gradiente de codificação de frequência, e pelo número de passos de codificação de fase no gradiente y. A combinação de ambos constitui o *FOV* (do inglês Field-Of-View).

As dimensões dos pixéis determinam a resolução espacial, e conseqüentemente, influenciam o contraste da imagem. A resolução da imagem varia inversamente com as dimensões do voxel. E além disso, quanto menor for a dimensão do *FOV*, maior será a resolução espacial alcançada^{[36] [37]}.

O valor da intensidade de um voxel corresponde à média de intensidade de sinal das estruturas nele compreendidas, sendo possível que muitos dos voxels compreendam muitas estruturas distintas e diferentes tipos de tecido, assim, na imagem final, elas serão indistintas. Essa perda de nitidez na imagem final é denominada efeito de volume parcial (ver figura 4.4). Deste modo, quanto menor for o voxel, melhor será a supressão dos efeitos de volume parcial, e conseqüentemente melhores serão a resolução espacial e o contraste^{[36] [37]}.

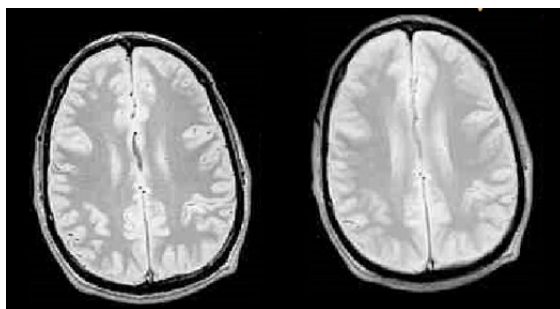


Figura 4.4: Artefacto volume parcial em RMN^[40].

4.5 Segmentação

Podem ser utilizados diferentes métodos para a técnica de segmentação, desde manuais, semi-automáticas, ou automáticas. Neste estudo, são utilizadas as técnicas manual e automática, com recurso a três programas diferentes.

Os métodos manuais exigem um investigador experiente em neuroanatomia, ao contrário dos automáticos, que dependem de algoritmos informatizados para extrair informações sobre a morfologia cerebral.

Estes métodos possuem uma enorme variedade de aplicações, tais como a visualização anatómica do cérebro, de anomalias cerebrais, ou ainda a localização da atividade neuronal no contexto de estudos de ressonância magnética funcional.

Um aspecto significativo a ter em conta nestes *softwares* é o facto de muitos deles serem grátis e disponíveis no próprio *site* dos institutos que os desenvolvem^[36].

Método de Segmentação Manual

O método de segmentação manual consiste no delineamento de regiões de interesse manualmente.

Antes de se iniciar uma segmentação manual, é muito importante que todas as imagens de RM estejam alinhadas segundo uma orientação específica.

As técnicas de segmentação manual exigem um investigador experiente em neuroanatomia, de modo a delimitar eficientemente uma região de interesse na imagem, e é por esta razão que os métodos de segmentação manual têm um elevado grau de confiança na obtenção de estimativas de volume, comparativamente com as técnicas automáticas de segmentação atualmente existentes. O tempo necessário associado a este processo é elevado, e pode implicar a inclusão ou não inclusão legítima ou ilegítima de outros tecidos cerebrais na região pretendida.

A maioria das técnicas de segmentação manual para a quantificação do volume do hipocampo utilizam como referência métodos e limites anatómicos descritos por *Jack et al.* (1989), *Watson et al.* (1992) e *Cook et al.* (1992)^[41]. As áreas transversais, determinadas pela contagem de píxeis dentro da região selecionada, são estabelecidas e multiplicadas pela distância entre secções consecutivas para estimar o volume do hipocampo^[42].

Método de Segmentação automática

Na última década, assistimos a uma evolução e proliferação de processos automatizados, que permitem realizar normalizações espaciais, segmentações e reconstruções corticais de imagens de RM. A principal limitação desta técnica é a falta de rigor anatómico.

A segmentação automática de imagens de RM continua a ser um desafio devido aos artefactos presentes nas imagens, tais como a falta de homogeneidade de intensidade e os efeitos do volume parcial, e ainda o facto de estruturas anatómicas diferentes poderem "partilhar" o mesmo contraste de tecido. Assim, é essencial à priori ter uma informação anatómica para simplificar a tarefa de segmentação. Esta informação pode ser fornecida por um conjunto de segmentações manuais realizadas por peritos na área. Estas técnicas tentam registar os sujeitos todos juntos construindo um modelo médio de referência^[43]. Os atlas, representam a probabilidade de localização das estruturas, são comumente utilizados para iniciar/conduzir o processo de segmentação. O registo do mapa de probabilidade às estruturas reais pode ter um efeito significativo no resultado final. Alguns atlas são obtidos apenas a partir de um cérebro, de um controlo saudável, e alguns são especializados apenas para certas estruturas. Todos os atlas representam regiões binárias respectivamente etiquetadas, entre eles o *Talairach*, à exceção dos mapas *MNI*, *Thalamus*, *Harvard-Oxford*, *Jülich* que representam mapas de probabilidade, onde cada pixel contém a informação sobre a probabilidade de pertencer a um determinado tecido^[44].

A segmentação automática recorre então a parâmetros que caracterizam a forma de cada alvo a segmentar, tais como intensidades de voxel e atlas de probabilidades.

4.5.1 Softwares

Neste subcapítulo apresenta-se uma breve descrição dos diferentes *softwares* utilizados para a divisão estrutural: *MRICron*^[45], *FSL*^[46], *FreeSurfer*^[47] e *SPM8*^[48].

MRICron

O *MRICron* é um *software* simples e de fácil utilização. Com o *software MRICron* é fornecido o *dcm2niigui* para converter as imagens *DICOM* para o formato *NIfTI*, uma vez que a visualização de imagens neste *software* exige que estejam neste formato. É possível no *MRICron* seleccionar regiões de interesse, assim como a visualização destas em 3D^[45].

FSL

O *FSL*, *FMRIB Software Library*, é um *software* desenvolvido por um grupo de investigação da Universidade de Oxford - *Analysis Group*, *FMRIB*. Esta ferramenta utiliza o atlas anatómico *MNI* (*Montreal Neurological Institute*) para segmentação dos diferentes tecidos, utilizando um método baseado num algoritmo de voxel probabilístico. O *FSL* utiliza

o formato *NIfTI*^[46].

Este *software* divide-se em três áreas principais de análise de imagem cerebral: funcional, estrutural e difusão. Pode ser utilizado por via da linha de comandos ou através de uma interface gráfica disponibilizada, tendo acessíveis cerca de 230 linhas de função e 23 GUIs (do inglês *Graphical User Interface*)^[46].

No *FSL* é possível segmentar a substância branca, a substância cinzenta, o líquido *LCR* e estruturas subcorticais, sendo ainda possível a extração do crânio de uma *IRM*, com recurso à funcionalidade *BET*.

FreeSurfer

O *FreeSurfer* é um programa livre desenvolvido no *Martinos Center for Biomedical Imaging*^[47]. Utiliza um método de segmentação baseado na probabilidade binária de voxels, recorrendo ao atlas anatómico *Talairach*. O formato de imagens utilizado pelo *FreeSurfer* é o *.mgz* (ou *.mgh.gz*, representa uma versão compactada de um ficheiro com o formato *.mgh*, com recurso à ferramenta *ZLib*).

Possui uma interface gráfica utilizada para a visualização de imagens, sendo utilizada a linha de comandos para a realização de operações de segmentação.

No *FreeSurfer*, é possível segmentar a substância branca, a substância cinzenta, o *LCR* e estruturas subcorticais, a partir de imagens *T1*^[47]. Ao contrário do *FSL*, esta ferramenta não realiza extração automática do crânio

SPM8

O *SPM*, *Statistical Parametric Mapping*, é um programa livre desenvolvido por membros e colaboradores do *Wellcome Trust Centre for Neuroimaging*^[48], e é uma ferramenta desenvolvida em ambiente *Matlab*. É possível utilizar a interface gráfica do *SPM8* para segmentar a substância branca, a substância cinzenta e o *LCR*, baseada em mapas de probabilidade. O formato de imagem utilizado por esta ferramenta é o *NIfTI*.

5

Metodologia

Neste capítulo, é feita uma descrição da metodologia usada no decorrer deste trabalho. Começa-se por caracterizar os casos clínicos em estudo e as imagens de RM recolhidas. Em seguida, explica-se como foi feita a segmentação dos hipocampos, através de diferentes métodos.

5.1 Casos Clínicos

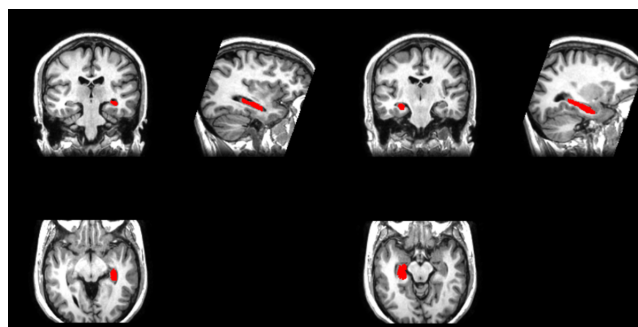
Foram estudados 16 indivíduos com SD, 8 do sexo feminino e 8 do sexo masculino, com idade média de 34 anos e desvio padrão de 8 anos (ver tabela 5.1). Todos os indivíduos com SD foram recrutados pela associação Cercizimbra, tendo as aquisições de RM sido realizadas entre 2011 e 2012. O diagnóstico de SD foi confirmado por um médico especialista, tendo a caracterização sido realizada com base nos seguintes critérios: quociente de inteligência, linguagem verbal, outras co-morbidades como doença psiquiátrica, epilepsia refractária e causas tratáveis de demência, avaliação física, neurológica analítica, electroencefalográfica, imagiológica e neuropsicológica^[49].

Tabela 5.1: Informação dos parâmetros das imagens de RM para cada indivíduo e respectivas características.

Sujeito	Gênero	Idade (anos)	TR (mseg)	TE (mseg)	Espessura do plano (mm)	Dimensão da imagem	Nº de planos
1	Feminino	31	11,8	4,9	1,03	512 x 512	350
2	Masculino	50	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
3	Masculino	28	12,1	5,1	1,02	512 x 512	300
4	Masculino	36	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
5	Feminino	37	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
6	Feminino	28	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
7	Masculino	31	11,8	4,9	1,00	512 x 512	850
8	Feminino	26	11,8	4,9	1,00	512 x 512	300
9	Masculino	29	11,8	4,9	1,00	512 x 512	300
10	Masculino	38	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
11	Feminino	27	11,8	4,9	1,02	512 x 512	650
12	Masculino	31	11,8	4,9	1,02	512x 512	300
13	Feminino	39	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
14	Feminino	47	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
15	Feminino	46	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300
16	Masculino	26	11,8	4,9	1,02	512 x 512	300

5.2 Segmentação Manual

Este estudo foi inicialmente proposto com um objectivo clínico específico: calcular o volume do hipocampo de forma manual com o acompanhamento de um profissional de saúde especializado em neuroradiologia. Todos os ficheiros *DICOM* relativos a cada paciente foram individualmente convertidos para o formato *NIfTI* através da ferramenta *dcm2niigui*. A seleção do volume do hipocampo foi realizada com recurso ao software *MRIcron*^[45]. Utilizando as ferramentas disponíveis neste programa, estabeleceu-se, para cada caso, e nos vários planos coronais, com auxílio da informação recolhida também no plano sagital, os limites anatómicos da região do hipocampo (ver figura 5.1), foram estabelecidos utilizando como referência o protocolo de *Jack et al.* adaptado do protocolo de *Watson et al.*^[50]. Este critério encontra-se resumido na figura 5.2.

**Figura 5.1:** Imagem exemplificativa da segmentação manual do hipocampo esquerdo e direito para o Paciente 1.

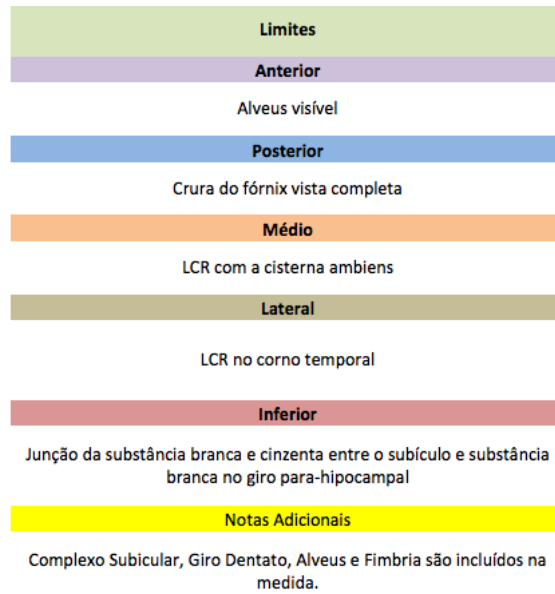


Figura 5.2: Limites de seleção do protocolo de *Jack et al.* adaptado do critério de *Watson et al.*^[50]

Concluída a seleção, o volume do hipocampo foi automaticamente calculado, pelo mesmo programa, através do produto da soma do número de pixéis, selecionados em cada plano coronal, multiplicado pela sua área e a espessura de cada plano (atendendo a que nas imagens em estudo os planos são contíguos).

5.3 Segmentação Automática

5.3.1 FSL

Como o objectivo deste estudo é a segmentação do hipocampo, será utilizado o módulo *FIRST* do *FSL*, que é uma ferramenta baseada num modelo bayesiano que permite segmentar e registar regiões subcorticais^[51]. O *FIRST* utiliza um modelo construído a partir de imagens ponderadas em T1, manualmente segmentadas, diferenciando quinze estruturas subcorticais. Cada estrutura subcortical possui um número associado - o hipocampo esquerdo é o 17, e o hipocampo direito o número 53^[52].

A maneira mais simples de fazer a segmentação com recurso ao *FIRST* é através do comando *run_first_all*, que permite segmentar todas as estruturas subcorticais, produzindo malhas e calculando os respectivos volumes. Esta operação utiliza configurações padrão optimizadas empiricamente^[53] e demora, em média, 50 minutos por paciente, utilizando um MacBook Pro, Mac OS X Lion 10.7.5, com processador de 2,5 GHz Intel Core i5, e memória 4 GB 1600 MHz DDR3 e uma placa gráfica Intel HD Graphics 4000 384 MB.

Para uma análise volumétrica, através do comando *fsstats* é possível obter o volume da estrutura de interesse. Quer o volume do hipocampo esquerdo e quer o do hipocampo

direito são calculados, através das seguintes linhas de comando:

- Hipocampo esquerdo: `fslstats output_name_all_fast_firstseg -l 16.5 -u 17.5 -v`
- Hipocampo direito: `fslstats output_name_all_fast_firstseg -l 52.5 -u 53.5 -v`

Para cada uma das estruturas, o primeiro valor resultante desta operação corresponde ao número de voxels, sendo o segundo o valor do volume em mm^3 ^[53]. A visualização dos resultados da segmentação no plano desejado é então efectuada através do recurso à ferramenta *FSLView* (ver figura 5.3).

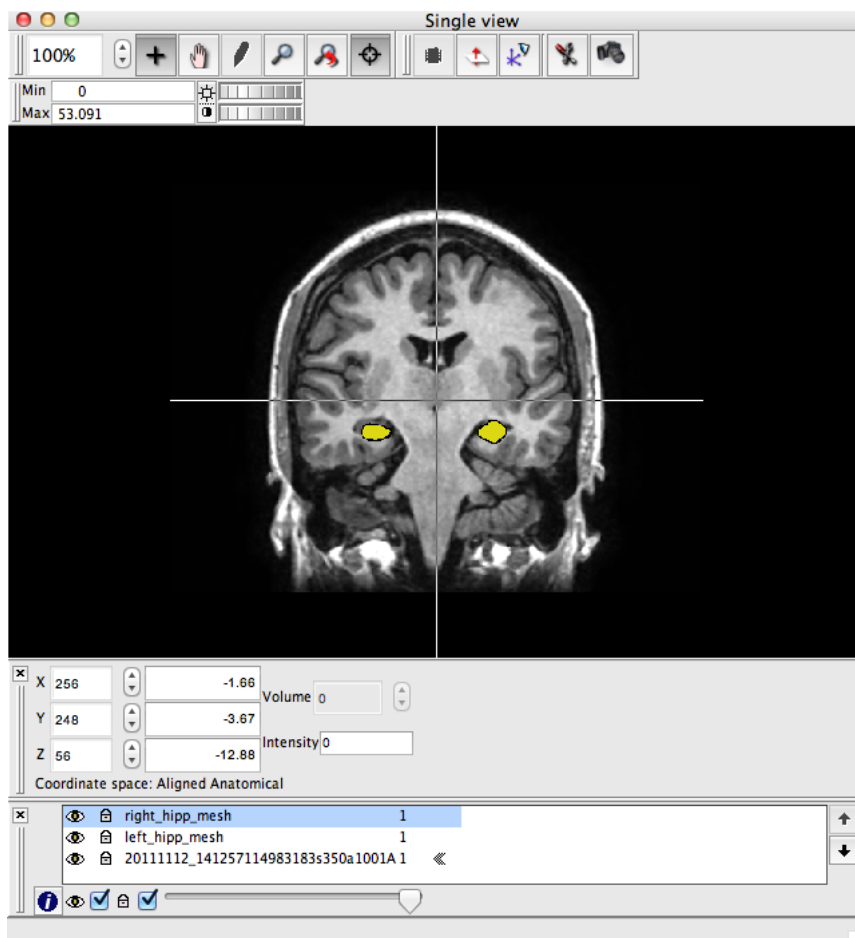


Figura 5.3: Interface do FSLView: imagem com ponderação em T1 sobreposta com o resultado da segmentação dos hipocampus esquerdo e direito.

5.3.2 *FreeSurfer*

O comando utilizado para segmentação no *FreeSurfer* é o *recon-all*, cujas 31 fases de processamento (ANEXO B) podem ser divididas por 3 comandos: *-autorecon1* (fase 1 a 5), *-autorecon2* (fase 6 a 23) e *-autorecon3* (fase 24 a 31). A utilização destes comandos pode assim ser facilmente adaptada às necessidades do utilizador, permitindo a redução do tempo de processamento e sobrecarga computacional.

Antes de iniciar a segmentação no *FreeSurfer*, foi necessário converter as imagens *NIfTI* para o formato *.mgz*, utilizado pelo *FreeSurfer*. Essa conversão é realizada com recurso ao comando : *mri_convert*. Após o que se realiza o comando:

- *recon-all -subject \$SUBJECTS_DIR/Paciente -all*,

onde *\$SUBJECTS_DIR* é a variável que contém a diretoria onde se encontram guardadas as imagens a segmentar e onde será criada uma pasta, para cada caso onde serão armazenados os resultados da segmentação^[47]. Este processamento demora cerca de 10 horas para cada paciente, utilizando um MacBook Pro, Mac OS X Lion 10.7.5, com processador de 2,5 GHz Intel Core i5, e memória 4 GB 1600 MHz DDR3 e uma placa gráfica Intel HD Graphics 4000 384 MB.

Concluído o processo de segmentação, o valor do volume do hipocampo encontra-se armazenado no ficheiro *aseg.stats* (*\$SUBJECTS_DIR/Paciente/stats/aseg.stats*), onde estão guardados vários dados correspondentes a diversas estruturas cerebrais segmentadas.

Para obtenção das estruturas do hipocampo resultantes desta operação e respectiva visualização (ver figura 5.4), é utilizada a seguinte sequência de comandos:

- Hipocampo esquerdo: *mri_extract_label aseg.mgz 17 hippocampi.mgz*
- Hipocampo direito: *mri_extract_label aseg.mgz 53 hippocampi.mgz*
- *tkmedit Paciente hippocampi.mgz -aux T1.mgz*

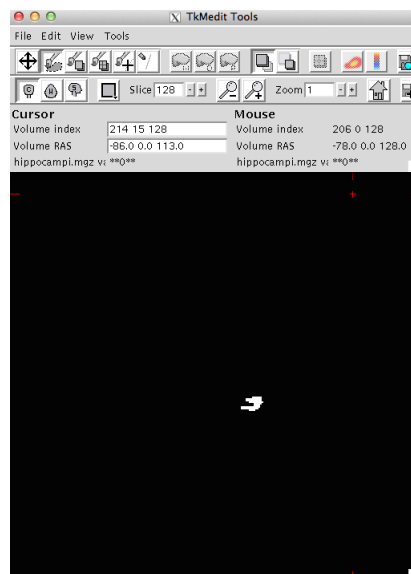


Figura 5.4: Interface de visualização do FreeSurfer com a segmentação do hipocampo direito.

5.4 Normalização

Para que se possa comparar os volumes dos hipocampos de diferentes indivíduos, é sugerido na literatura científica de referência que estes sejam normalizados. Podendo ser essa normalização calculada através da divisão do volume do hipocampo do sujeito pelo volume total do seu cérebro^[54].

No decorrer deste trabalho, optou-se por realizar a normalização, numa primeira etapa, através da divisão do volume do hipocampo, pelo volume total da substância cinzenta, e, numa segunda etapa pelo volume total intracraniano.

Neste estudo, realizou-se a medição dos volumes dos diferentes tecidos recorrendo a três ferramentas distintas, com o intuito de averiguar a sua fiabilidade e eficiência neste processo de normalização: o *SPM8*, o *FSL* e o *FreeSurfer*.

5.4.1 *SPM8*

No *SPM8*^[48], o processo de segmentação das imagens de substância branca, cinzenta e líquido cefalorraquidiano (LCR), é obtido através do comando *segment*. Este implementa uma sequência de procedimentos com vista à separação dos vários tecidos cerebrais. Esta separação é feita comparando a imagem que se pretende segmentar (imagem original) com mapas de probabilidade que contêm informação padrão acerca da distribuição dos vários tecidos. Das várias etapas associadas a este algoritmo contam-se:

1. Alinhamento da imagem original com os mapas de probabilidade. Esta opção só deverá ser utilizada caso a imagem não tenha artefactos que resultem em heterogeneidades na intensidade. Caso contrário, o alinhamento deverá ser feito manualmente com o recurso a um outro comando - *display*. Neste último caso, a opção de alinhamento (*affine regularization*) deverá ser desativada.
2. Correção de artefactos relativos às heterogeneidades na intensidade. Esta correção poderá estar desativada ou estar compreendida entre 0,00001 e 10, desde uma correção extremamente suave (*extremely light regularisation*), até extremamente intensa (*extremely heavy regularisation*). Um parâmetro associado a esta correção é a largura a meia altura da gaussiana que suaviza estas heterogeneidades. Para heterogeneidades que variem lentamente no espaço, convém usar gaussianas com largura a meia altura elevada, de modo a que não se corra o risco de estar a suavizar regiões de contraste entre tecidos.
3. Sobreposição da imagem original com os mapas de probabilidade. Esta sobreposição implica um conjunto de transformações ou deformações (*warp*) que fazem corresponder a imagem original aos mapas de probabilidade. Não se trata apenas de um alinhamento, mas de deformações não-lineares. Nesse processo de determinação da função de

deformação, existe a necessidade de 'pesar' dois termos que contribuem para a obtenção dos parâmetros que conduzem à deformação. A opção *warping regularization* determina o balanço entre esses dois termos. Existe ainda um parâmetro, *warp frequency cutoff*, que determina o maior ou menor detalhe das deformações aplicadas à imagem. Valores mais baixos introduzem maior detalhe na deformação, tendo um custo em termos de tempo de processamento. Por último, há ainda a estabelecer a distância de amostragem (*sampling distance*), que corresponde à distância entre dois pontos que se consideram para estimar os parâmetros do modelo não-linear que aplica a deformação. Mais uma vez, quanto menor for este valor, maior será a contribuição dos dados, e maior o tempo de cálculo.

4. Separação dos tecidos com base nos mapas de probabilidade. Neste ponto é necessário estabelecer o número de tecidos a considerar, ter acesso aos mapas de probabilidade padrão referentes a esses tecidos e indicar o número de gaussianas utilizadas para estabelecer as intensidades a considerar em cada um dos tecidos. Nesta etapa é também possível definir se pretende utilizar ou não uma ferramenta (*clean up any partitions*) que auxilia a segmentação do LCR, isolando os tecidos referentes ao encéfalo.
5. Relativamente à segmentação das imagens foram utilizadas as seguintes opções:
 - a) O cérebro foi segmentado em três tecidos: substância branca, cinzenta e LCR, sem o recurso à opção *clean up any partition*.
 - b) Foram consideradas 2 gaussianas para modelar a intensidade de cada um dos três tecidos referidos e 4 para modelar os restantes tecidos.
 - c) O alinhamento da imagem foi feito manualmente. (*Affine Regularisation: No regularisation*).
 - d) Foi feita uma correção média das heterogeneidades (*Bias Regularisation: medium regularisation - 0,01*).
 - e) A largura a meia altura da gaussiana utilizada na correção anterior foi de 100 mm (*Bias FWHM: 100 mm Cutoff*).
 - f) A distância entre pontos foi de 3 (*sampling distance: 3*).
 - g) O balanço entre os dois termos associados às deformações foi mantido a 1 (*Warping Regularisation: 1*).
 - h) Para a frequência de corte utilizada nas deformações escolheu-se o valor 25 (*Warping Frequency: 25*).

Terminada a segmentação, processo este que demora cerca de 5 minutos por paciente, utilizando um MacBook Pro, Mac OS X Lion 10.7.5, com processador de 2,5 GHz Intel Core i5, e memória 4 GB 1600 MHz DDR3 e uma placa gráfica Intel HD Graphics 4000 384 MB. Com recurso ao software *MRIcron*, é feito um *overlap* dos três tecidos segmentados e posteriormente o volume desse *overlap* é calculado de forma automática pelo *MRIcron*.

Dividindo-se então o volume dos hipocampos (obtidos pelos diferentes *softwares*) pelo volume obtido da substância cinzenta numa primeira etapa, e pelo volume total obtido do *overlap* numa segunda etapa, para cada paciente. Obtendo-se desta forma, duas normalizações.

5.4.2 FSL

O *FSL* permite também obter os volumes de substância cinzenta, branca e volume cerebral total. O primeiro passo deste processo consistiu na eliminação do tecido extracerebral, através da ferramenta *BET* [55].

$$bet < imagemT1 > < bet_imagemT1 > -B - f0.4 - m \quad (5.1)$$

em que:

- a) -B: faz pequenas correções de campo à imagem e tira voxels residuais da zona do pescoço
- b) -f: limite de expansão do cérebro. Este valor - 0.4 - foi obtido empiricamente.
- c) -m: gera a máscara binária do cérebro; Com o intuito de otimizar o volume cerebral segmentado e uniformizar este procedimento para todos os pacientes em estudo, recorreu-se não só à opção de correção de campo e extração do pescoço, mas também à ligeira expansão dos limites cerebrais [56].

A próxima etapa consiste na segmentação do cérebro em diferentes tecidos (neste estudo, substância cinzenta, substância branca, LCR), através da ferramenta *FAST*, que permite simultaneamente corrigir as variações de intensidade espacial [57]. Neste estudo, utilizou-se o comando:

$$fast -t 1 -n 3 -H 0.1 -l 4 -l 20.0 -o / < bet_imagemT1 > \quad (5.2)$$

em que:

- a) t : representa o tipo de imagem, selecionada em T1;
- b) n : representa o número de classes, diferentes tipos de tecido a segmentar;
- c) H : valor que permite suavizar a segmentação;
- d) l : valor estatístico que define fronteiras;
- e) o : diretoria de saída;

Terminada a segmentação, processo que demora cerca de 2 horas por paciente, é necessário utilizar o comando *fslstats*, para obter o volume de cada tecido segmentado. O volume pode então ser obtido a partir da seguinte sequência de comandos:

- `vol = 'fslstats /ficheiro_com_tecido_1.nii.gz -V |awk 'print $1''`

- `mean= 'fslstats /ficheiro_com_tecido_1.nii.gz -M'`
- `tissuevol='echo "$mean * $vol"|bc -l'`
- `echo $tissuevol`

Dividindo-se então o volume dos hipocampos (obtidos pelos diferentes *softwares*) pelo volume obtido da substância cinzenta numa primeira etapa, e pelo volume total da substância cinzenta com a substância branca e com o LCR numa segunda etapa, para cada paciente, tal como já se tinha feito anteriormente, mas utilizando o *SPM8*.

5.4.3 *FreeSurfer*

Como referido anteriormente, o ficheiro *aseg.stats* contém vários dados correspondentes a diversas estruturas cerebrais segmentadas, entre as quais, volume da substância cinzenta, do LCR e da substância branca, e do volume total intracraniano. Assim, para cada paciente, divide-se o volume dos hipocampos (obtido pelos diferentes softwares) pelo volume da substância cinzenta e pelo volume total intracraniano.

5.5 Tratamento Estatístico

Relativamente às análises estatísticas foi utilizado o software estatístico SPSS versão 19^[58], com recurso às ferramentas gráficas disponíveis no menu *Graphs-Legacy Dialogs-Scatter/Dot*. Estas análises foram divididas em gráficos de correlação e de *Bland – Altman*^[59].

Nos gráficos de *Bland – Altman*, existe a necessidade de considerar os seguintes pontos:

- 1) Quanto mais próximo do valor de 0, a linha da média das diferenças se encontrar, mais concordantes serão os valores obtidos pelos dois *softwares*, uma vez que a média da diferença entre eles é zero;
- 2) Realizando uma análise da dispersão/tendência dos pontos, se esta seguir uma proporção linear crescente, quer dizer que à medida que a média entre volumes aumenta, aumenta a diferença entre eles, podendo-se afirmar que um *software* apresenta valores superiores ao outro;
- 3) Apresenta um intervalo de confiança de 95%, correspondendo a $\pm 1,96$ desvio padrão, sendo considerado *outlier* o(s) ponto(s) fora deste intervalo e/ou que não sigam a tendência do gráfico;

CAPÍTULO 5. METODOLOGIA

6

Apresentação e Discussão dos Resultados

Neste capítulo apresentam-se os resultados do trabalho desenvolvido segundo a metodologia descrita no capítulo anterior, assim como a discussão dos mesmos.

Inicialmente apresentam-se os resultados da segmentação do hipocampo esquerdo e direito para um paciente, obtidos com recurso a diferentes *softwares*: *MRICron*, *FSL* e *FreeSurfer*. É ainda feita uma análise/discussão da correlação entre os resultados obtidos utilizando os diferentes *softwares*.

Será feita uma análise inicial sobre a segmentação manual dos hipocampos, assim como uma avaliação de resultados obtidos pelos diferentes *softwares*.

Numa etapa posterior, discute-se o procedimento de normalização dos volumes dos hipocampos através da divisão destes pelo volume da substância cinzenta (VSC) e pelo volume total intracraniano (VTI).

É realizada uma análise da relação entre a idade e o volume da substância cinzenta e o volume dos hipocampos (esquerdo e direito) normalizados. E, por fim, estuda-se a relação entre os valores dos volumes de hipocampo esquerdo e direito resultantes da segmentação obtida pelos diferentes *softwares*.

6.1 Segmentação do Hipocampo

Neste subcapítulo ilustra-se os resultados das segmentações realizadas manualmente e automaticamente, com os respectivos programas, *MRIcron* (ver figura 6.1), *FSL* (ver figura 6.2) e *FreeSurfer* (ver figura 6.3). Para melhor comparação, na figura 6.4 encontra-se representado um corte com a sobreposição dos resultados de segmentação obtida pelos três programas.

Apresenta-se ainda a correlação entre os volumes dos hipocampos obtidos (não normalizados) com os diferentes *softwares*, tanto para o lado esquerdo como para o direito, de cada paciente, com o intuito de comparar o seu desempenho.

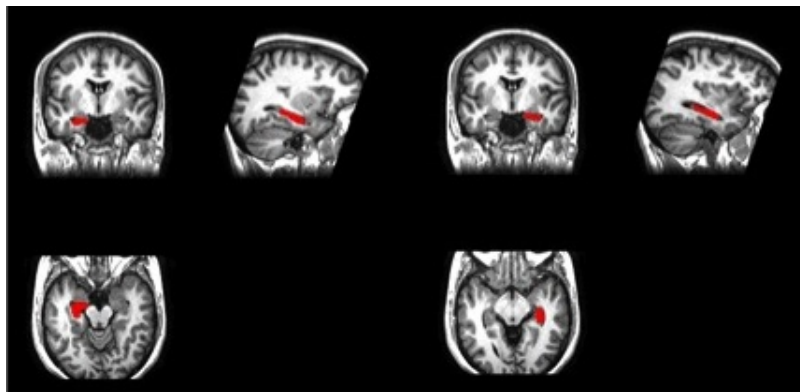


Figura 6.1: Ilustração da segmentação manual do hipocampo esquerdo (do lado esquerdo) e direito (do lado direito) com o *MRIcron* para o Paciente 1.

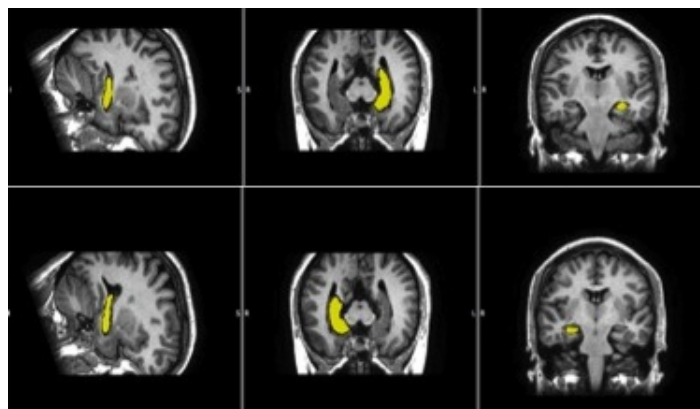


Figura 6.2: Ilustração da segmentação automática do hipocampo esquerdo (em cima) e direito (em baixo) com o *FSL* para o Paciente 1.

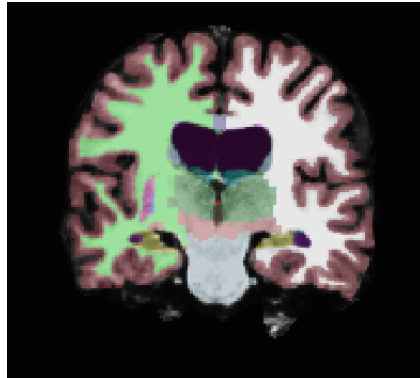


Figura 6.3: Ilustração da segmentação automática no *FreeSurfer* do Paciente 1, com os hipocampos a amarelo.

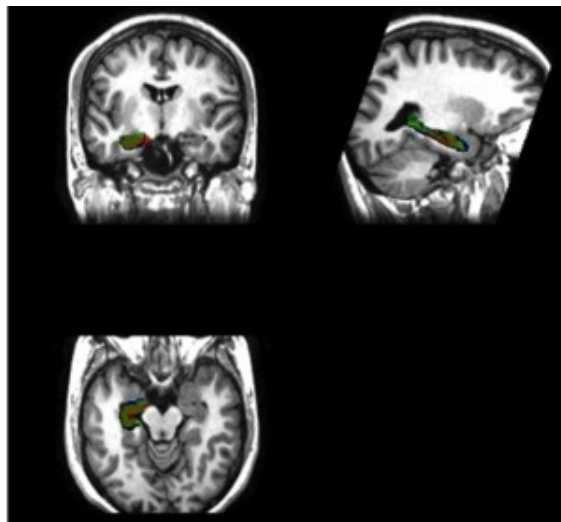


Figura 6.4: Ilustração da sobreposição das segmentações do hipocampo esquerdo pelos diferentes programas. A verde o *FreeSurfer*, a azul *FSL* e a vermelho *MRIcron* para o Paciente 1.

Na figura 6.4 é notória a diferença entre as segmentações obtidas pelos diferentes métodos, a qual será responsável pelos diferentes valores encontrados para os volumes dos hipocampos.

Em ambiente clínico, a seleção da região de interesse utilizada na segmentação e cálculo do volume do hipocampo é realizada de forma manual, por médicos especialistas com bastante experiência na área. A seleção do hipocampo, é feita na *workstation* segundo o plano coronal (ver figura 6.5). Esta segmentação é feita sem conversão de imagens, ou seja, são utilizadas as imagens originais obtidas da RM, não sujeitas à perda de qualidade associada à sua conversão para outros formatos.

Neste estudo, as imagens *DICOM* foram convertidas para o formato *NIfTI*, processo que implica alguma perda de qualidade devido às transformações geométricas à qual a matriz

de imagem é sujeita. Procedeu-se deste modo, para que na análise comparativa efectuada neste estudo, todos os métodos/ferramentas estivessem em igualdade de circunstâncias.



Figura 6.5: Ilustração de segmentação manual feita por um clínico na *workstation* utilizando apenas o plano coronal.

6.2 Comparação entre os *Softwares*

Para todas as condições apresentadas neste estudo, a caracterização da correlação entre as ferramentas utilizadas para segmentação do hipocampo, será realizada com base no artigo de *Richard Taylor*^[60], que subdivide esta avaliação em três categorias possíveis, ou intervalos de factor de correlação, r : $[0, 0.35]$ - correlação baixa ou fraca; $[0.36, 0.67]$ - correlação moderada; $[0.68, 1]$ - correlação forte ou elevada.

Os gráficos (a) e (b) das figuras 6.6, 6.7 e 6.8, pretendem mostrar, respectivamente, a correlação dos volumes obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*, pela segmentação manual e pelo *FSL*, e pela segmentação manual e pelo *FreeSurfer*, para o hipocampo esquerdo e direito.

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

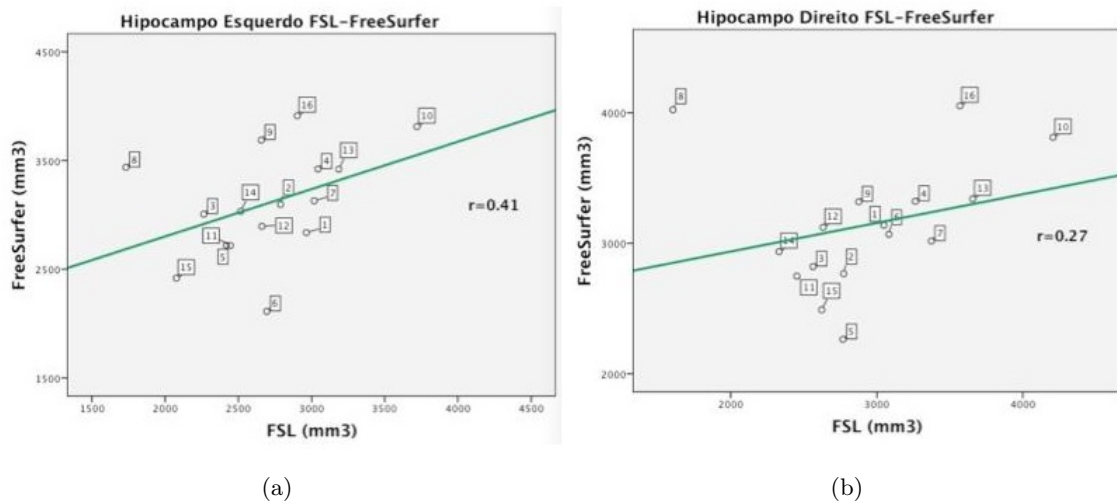


Figura 6.6: Representação gráfica da correlação entre as segmentações automáticas - *FreeSurfer* e *FSL* - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).

Verifica-se em ambos os casos uma tendência de correlação positiva, isto é, à medida que os valores de volume do hipocampo obtidos pelo *FSL* aumentam, verifica-se igualmente uma tendência crescente para os obtidos pelo *FreeSurfer*. No entanto, para o hipocampo direito (ver figura 6.6(b)) o respectivo factor de correlação entre os dois métodos (r) é diminuído em aproximadamente 14% relativamente ao hipocampo esquerdo, no qual a dispersão é menor.

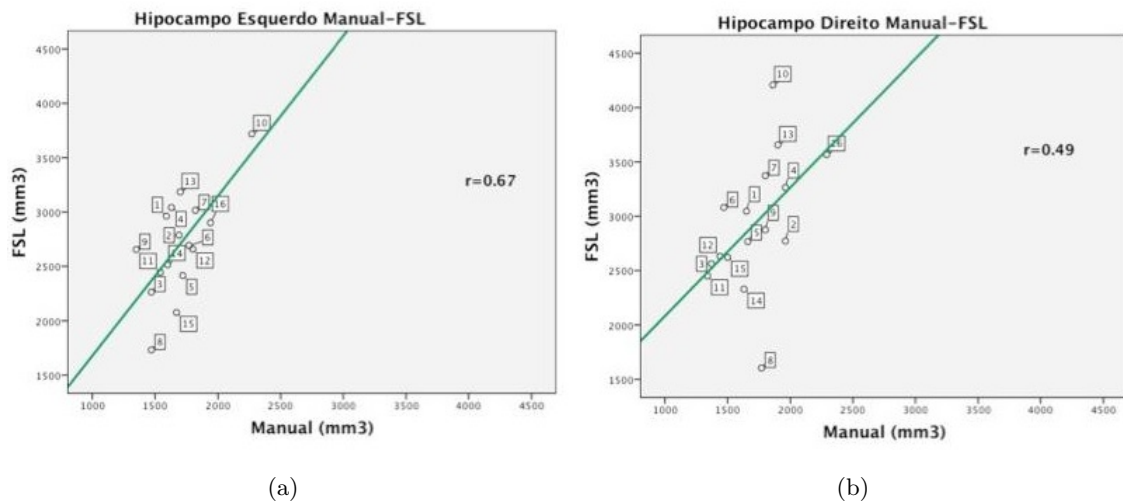


Figura 6.7: Representação gráfica da correlação entre a segmentação manual - *MRIcron* - e a segmentação automática - *FSL* - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).

Quando se compara os resultados da segmentação manual com os obtidos pelo *FSL*, verifica-se também uma tendência de correlação positiva. No entanto, para o hipocampo direito (ver figura 6.7(b)), esta tendência é ligeiramente atenuada, e o respectivo factor de correlação entre os dois métodos (r) diminuído em aproximadamente 18% relativamente ao

hipocampo esquerdo, no qual esta dispersão é menor.

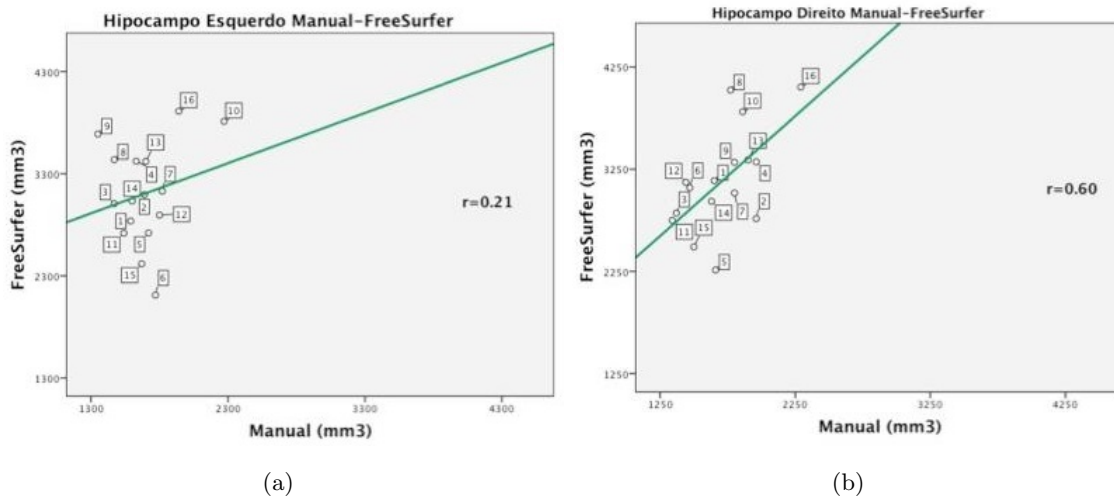


Figura 6.8: Representação gráfica da correlação entre a segmentação manual e a segmentação automática - *FreeSurfer* - do hipocampo esquerdo (a) e direito (b).

Também quando se compara os resultados obtidos manualmente com os do *FreeSurfer*, se verifica uma tendência de correlação positiva no volume de hipocampo calculado pelos dois métodos. No entanto, para o hipocampo esquerdo o factor de correlação entre os dois métodos (r) sofre uma redução de aproximadamente 39% relativamente ao hipocampo direito, como seria de esperar, tendo em conta a elevada dispersão que se observa nos pontos.

Analisando os gráficos das figuras 6.6, 6.7 e 6.8, correspondentes à segmentação do hipocampo não normalizado, é possível afirmar que:

- Para o hipocampo esquerdo (gráficos (a)) existe uma correlação moderada para a figura 6.6 ($r=0.41$) e 6.7 ($r=0.67$), ao contrário da figura 6.8 ($r=0.21$), cuja correlação é considerada baixa. Este estudo permite-nos assim constatar que, para volumes não normalizados, o *FSL* apresenta melhor correlação com o método manual para o cálculo do volume do hipocampo esquerdo.
- Para o hipocampo direito (gráficos (b)) existe uma correlação moderada para as figuras 6.7 ($r=0.49$) e 6.8 ($r=0.55$), contrariamente à figura 6.6 ($r=0.27$), cuja correlação é baixa. Este estudo permite-nos constatar que, para volumes não normalizados, o *FreeSurfer* apresenta uma correlação com o método manual ligeiramente superior (aproximadamente 6%) ao *FSL*, quanto ao cálculo do volume do hipocampo direito.

Nos gráficos (a) e (b) das figuras 6.9, 6.10 e 6.11, encontra-se representados os gráficos de *Bland – Altman* que permitem representar a diferença entre os valores do volume do hipocampo esquerdo e direito, obtidos pelo métodos automáticos *FSL* e *FreeSurfer*, entre a segmentação manual e o *FSL*, e entre a segmentação manual e o *FreeSurfer*, para o

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

hipocampo esquerdo e direito, assim como a respectiva média da diferença de volumes normalizados. Estes gráficos pretendem demonstrar, o grau de concordância entre estes métodos relativamente ao cálculo do volume do hipocampo esquerdo e direito, respectivamente.

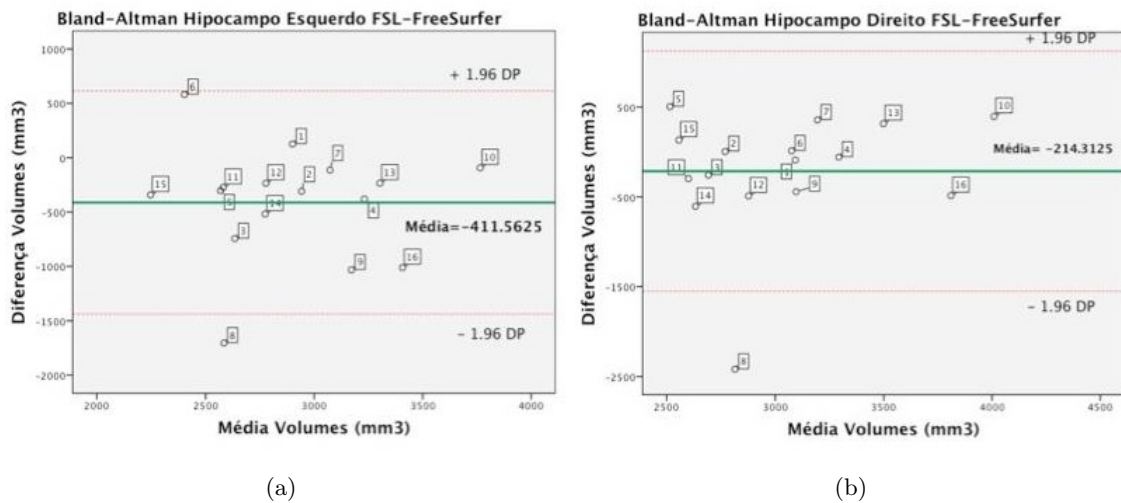


Figura 6.9: Gráfico *Bland – Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre os métodos automáticos *FSL* e *FreeSurfer*. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).

Verifica-se para ambos os gráficos da figura 6.9 uma ligeira tendência linear em torno dos respectivos valores médios da diferença entre volumes normalizados. No entanto, o gráfico (a) parece revelar alguma dispersão, enquanto que o (b) sugere uma evolução mais linear e equilibrada entre a diferença de volumes e a respectiva média dos mesmos. O valor médio da diferença de volumes apresenta uma média de aproximadamente $-411mm^3$ para o hipocampo esquerdo e $-214mm^3$ para o hipocampo direito.

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

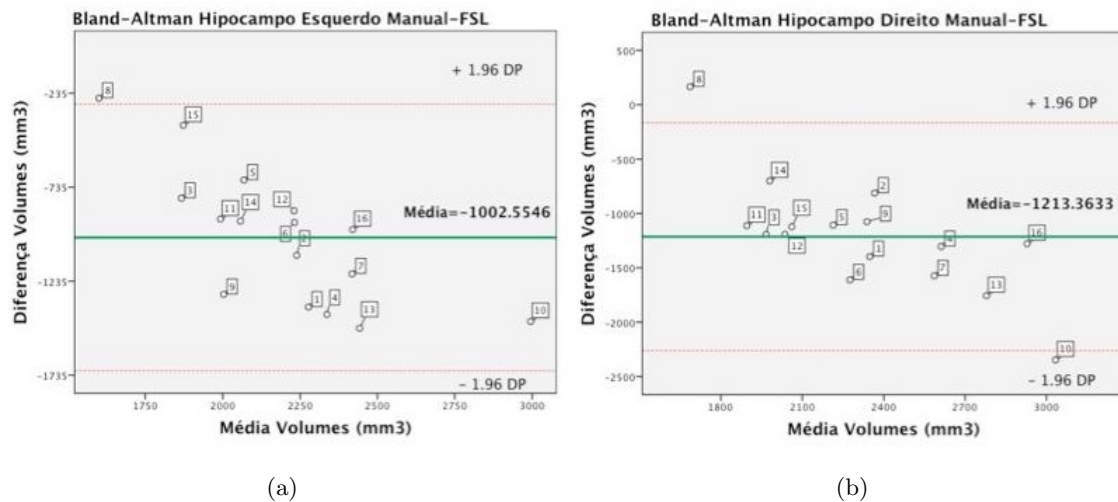


Figura 6.10: Gráfico *Bland – Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre a segmentação manual e o método automático *FSL*. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).

Relativamente aos gráficos da figura 6.10, verifica-se em ambos uma tendência linear decrescente, ligeiramente mais acentuada para o hipocampo esquerdo (a). O valor médio da diferença de volumes apresenta uma média de aproximadamente $-1003mm^3$ para o hipocampo esquerdo e $-1213mm^3$ para o hipocampo direito.

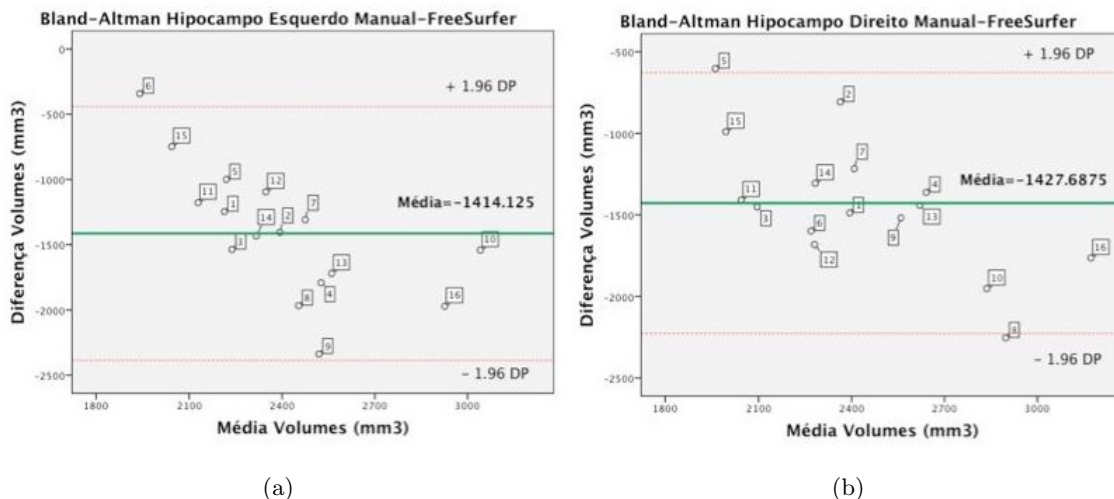


Figura 6.11: Gráfico *Bland – Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes, entre a segmentação manual e o método automático *FreeSurfer*. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).

No gráfico (a) da figura 6.11, parece existir uma tendência linear decrescente até um valor médio de aproximadamente $2600mm^3$, à semelhança do gráfico (b) que, apesar de re-

levar uma tendência negativa, apresenta um grau de dispersão mais elevado. O valor médio da diferença de volumes apresenta uma média de aproximadamente $-1414mm^3$ para o hipocampo esquerdo e $-1428mm^3$ para o hipocampo direito.

A análise dos gráficos de correlação e de *Bland – Altman* para o *FSL – FreeSurfer* e Manual-*FSL*, indica-nos a existência de um caso que além de claramente sair de qualquer tendência estatística apresentada, também se encontra fora do respectivo intervalo de concordância (95%) - *outlier* -, tanto para o hipocampo esquerdo e direito do *FSL – FreeSurfer*, como para o hipocampo direito do Manual-*FSL*, o caso 8. Deste modo, de forma a verificar a influência que este possível erro estatístico poderia estar a introduzir no cálculo dos respectivos factores de correlação, foi retirado do conjunto de dados e repetido o processo estatístico (ver apêndice F), cujos resultados se encontram apresentados na tabela 6.1

Tabela 6.1: Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 8. (HE= hipocampo esquerdo, HD=hipocampo direito)

Comparação de <i>Softwares</i>	Novo r - HE	Nova Média - HE	Novo r - HD	Nova Média - HD
<i>FSL – FreeSurfer</i>	0.62	-325.3333	0.74	-673.333
Manual - <i>FSL</i>	-	-	0.65	-1305.2666
Manual - <i>FreeSurfer</i>	-	-	-	-

Comparando os resultados da tabela 6.1 com os apresentados anteriormente, é possível afirmar que sem o *outlier* em questão, o factor de correlação para o hipocampo esquerdo e para o hipocampo direito da análise *FSL – FreeSurfer*, melhora em aproximadamente 21% e 47% respectivamente, assim como os respectivos valores médios da diferença entre volumes, dada a sua aproximação ao valor de 0, ou seja, diminuição da diferença média entre os resultados produzidos pelos dois métodos. Na análise Manual-*FSL*, os valores obtidos para o hipocampo direito apresentam uma melhoria na correlação em aproximadamente 16%. Tendo por base o artigo de **Richard Taylor**^[60], é possível assim afirmar que, neste contexto, a correlação entre os métodos automáticos *FSL* e *FreeSurfer*, apesar de moderada ($r = 0.62$), se encontra muito próxima do intervalo de correlação forte para o hipocampo esquerdo, e elevada para o hipocampo direito ($r = 0.74$). É possível ainda caracterizar a correlação entre a segmentação manual e o *FSL* como moderada. Deste modo, ao se retirar o *outlier* melhora-se consideravelmente a correlação entre os métodos.

É também possível verificar pela análise de *Bland – Altman* que os métodos automáticos apresentam valores de volume de hipocampo superiores, em relação à segmentação manual, podendo justificar uma possível sobrestimação no cálculo automático destes volumes. De maneira a comprovar se este facto, se devia ao uso do critério de limites anatómicos do hipocampo de *Jack et al.* adaptado de *Watson et al.* foi também realizado um estudo de

segmentação manual considerando o hipocampo na sua totalidade (ver apêndice G) até ser visível a amígdala, constatando-se ainda assim uma sobrestimação de valores de volume do hipocampo por parte dos métodos automáticos em relação ao método de segmentação manual.

Quanto à comparação entre *softwares* realizada neste estudo, salvaguardando que o número de amostra poderá ser insuficiente para tirar conclusões mais precisas, poder-se-á dizer que o *FSL* é o que se apresenta como um potencial substituto da segmentação manual para cálculo de volumes do hipocampo no ambiente clínico, contrariamente à tendência descrita na literatura^[61], onde *Morey et al.* afirma que a melhor correlação com a segmentação manual é conseguida com o *FreeSurfer* e não com o *FSL*.

De lembrar que estes resultados foram obtidos com o objectivo de validar os *softwares* automáticos de segmentação de estruturas cerebrais, em particular o hipocampo, devido à necessidade de realização de uma avaliação rápida e precisa das dimensões em patologias como a *Síndrome de Down* e a *doença de Alzheimer*. Ainda assim, para além da análise volumétrica da estrutura em questão, é também necessário realizar a normalização dos volumes obtidos anteriormente, dado ser esperado que, em condições normais, cérebros maiores tenham igualmente hipocampos maiores.

6.3 Normalização

Devido ao facto de, em condições normais, as pessoas com grandes volumes intracranianos possuírem igualmente estruturas cerebrais maiores, como é o caso do hipocampo^[62], é necessário realizar uma correção individual dos volumes destas estruturas, em função do tamanho total do seu cérebro. Segundo *E Geuze et al.*^[50], os dois principais métodos para controlar a variação individual do tamanho da cabeça são: a divisão da região de interesse pelo volume intracraniano total ou a divisão pelo volume total do cérebro. No entanto, a correção com o volume total cerebral é susceptível a fontes de erro que condicionarão o nível de fiabilidade. Com o intuito de controlar estes factores, *Jack et al.*^[63] adoptou o mesmo método de normalização que o descrito em literatura associada à técnica de TC (*Tomografia Computorizada*), que consiste na divisão do volume da região de interesse pelo volume intracraniano total^[63].

Inicialmente os volumes da substância cinzenta, da substância branca, do LCR, do volume total e do volume intracraniano total foram calculados com os três programas (*SPM8*, *FSL* e *FreeSurfer*) (ver apêndice D).

Neste estudo, tentou encontrar-se o melhor método para normalizar o hipocampo. Numa primeira etapa é verificada a correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pelos métodos automáticos - *FSL* e *FreeSurfer*, normalizados com os volumes de substância

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

cinzenta (VSC), obtidos pelos mesmos. Numa segunda etapa é verificada a correlação entre os volumes de hipocampo resultantes da segmentação manual, normalizados com o VSC do *FSL* e do *FreeSurfer*. Finalmente, é ainda discutida a melhor hipótese de normalização: divisão pelo VSC ou pelo volume total intracraniano (VTI).

Os gráficos (a) e (b) da figura 6.12, pretendem mostrar, respectivamente, a correlação dos volumes normalizados obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*, para o hipocampo esquerdo e direito.

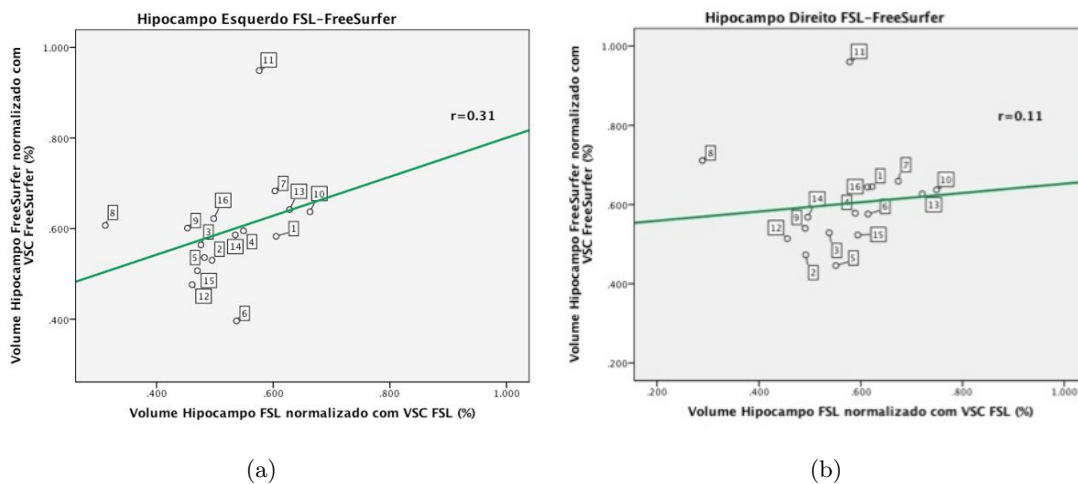


Figura 6.12: Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer* normalizados com os respectivos valores de volume de substância cinzenta, esquerdo (a) e direito (b).

Da análise dos gráficos da figura 6.12, é possível afirmar que para valores de hipocampo esquerdo e direito obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*, normalizados respectivamente com os mesmos, apresentam uma correlação fraca.

Nos gráficos (a) e (b) da figura 6.13 encontra-se representada a diferença entre os valores do volume do hipocampo esquerdo e direito normalizados, obtidos pelo métodos automáticos *FSL* e *FreeSurfer*, assim como a respectiva média entre estes. Estes gráficos pretendem auferir o grau de concordância entre os dois métodos automáticos, no que respeita ao cálculo do volume dos hipocampos.

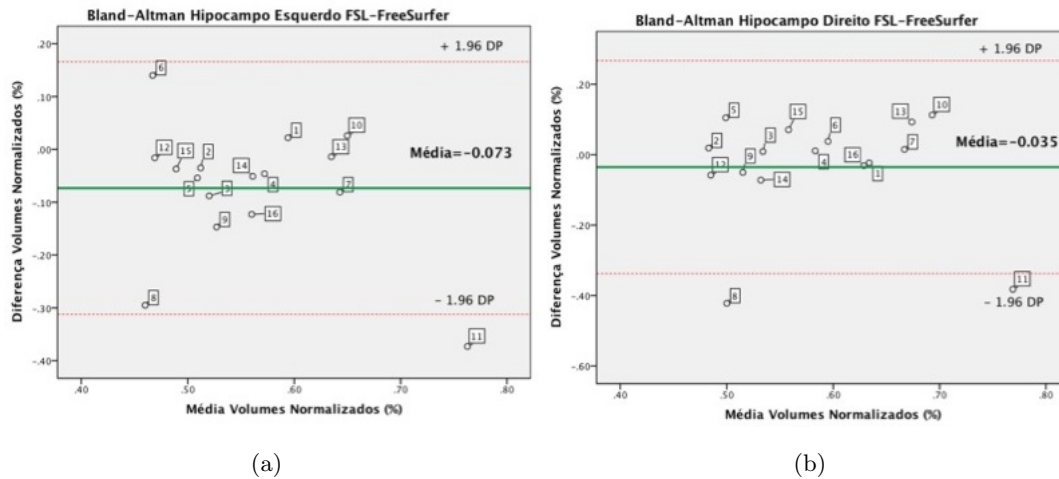


Figura 6.13: Gráfico *Bland–Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer* normalizados respectivamente com o VSC do *FSL* e do *FreeSurfer*, esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP= Desvio Padrão).

A análise dos gráficos de correlação e de *Bland – Altman* para o *FSL – FreeSurfer*, tal como já tinha ocorrido anteriormente, indica-nos a existência de dois casos, que além de claramente saírem de qualquer tendência estatística apresentada, também se encontram fora do respectivo intervalo de concordância (95%) - *outliers* -, tanto para o hipocampo esquerdo como para o direito, os casos 8 e 11. Deste modo, de forma a verificar a influência que este possível erro estatístico poderia estar a introduzir no cálculo dos respectivos factores de correlação, estes *outliers* foram retirados do conjunto de dados e repetido o processo estatístico (ver apêndice F), cujos resultados se encontram apresentados na tabela 6.2:

Tabela 6.2: Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem os casos 8 e 11 para o HD e para o HE.

Comparação de <i>Softwares</i>	Novo r - HE	Nova Média - HE	Novo r - HD	Nova Média - HD
<i>FSL – FreeSurfer</i>	0.52	-0.036	0.73	0.017

Comparando os resultados da tabela 6.2 com os apresentados anteriormente, é possível afirmar que sem os *outliers* em questão, o factor de correlação para o hipocampo esquerdo e para o hipocampo direito da análise *FSL – FreeSurfer*, melhora em aproximadamente 21% e 62% respectivamente, sendo os respectivos valores médios da diferença entre volumes, aproximados do valor de 0. Tendo por base o artigo de **Richard Taylor**^[60], é possível assim afirmar que, neste contexto, a correlação entre os métodos automáticos *FSL* e *FreeSurfer* normalizados com o VSC de cada um, se encontra no intervalo de correlação moderada para o hipocampo esquerdo e no intervalo de correlação forte para o direito.

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

E mais uma vez se verifica que, a eliminação dos *outliers* da discussão conduz a melhorias consideráveis na correlação entre os métodos.

Os gráficos (a) e (b) da figura 6.14 pretendem mostrar, respectivamente, a correlação dos volumes obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtido pela *FSL* e pelo *FreeSurfer*.

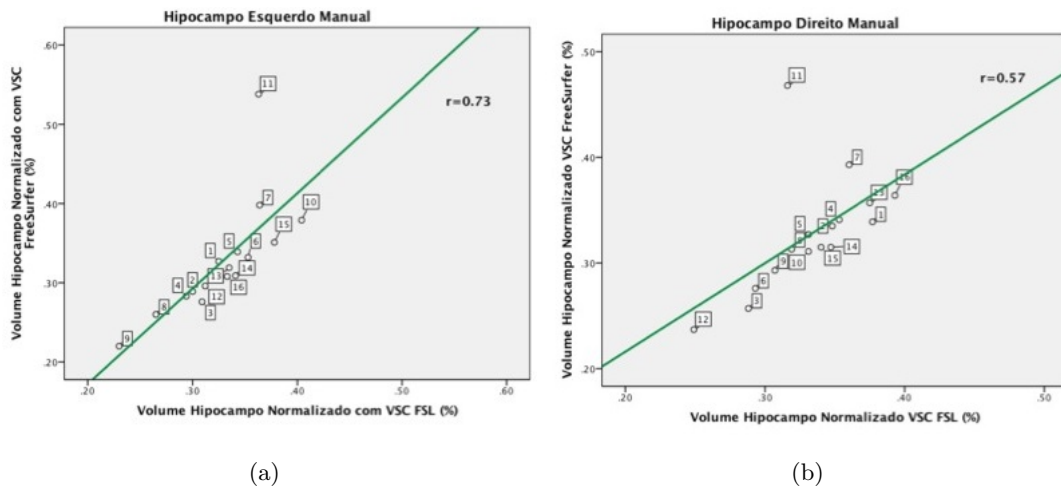


Figura 6.14: Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtido pelo FSL e pelo FreeSurfer, esquerdo (a) e direito (b).

Verifica-se uma forte correlação, para o hipocampo esquerdo ($r=0.73$) e uma moderada correlação para o direito ($r=0.57$), para os valores obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtidos pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*.

Nos gráficos (a) e (b) da figura 6.15 encontra-se representada a diferença entre os valores do volume do hipocampo esquerdo e direito normalizados, obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtido pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*, assim como a respectiva média entre estes. Estes gráficos pretendem auferir o grau de concordância entre os dois métodos automáticos, no que respeita à normalização do volume dos hipocampos.

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

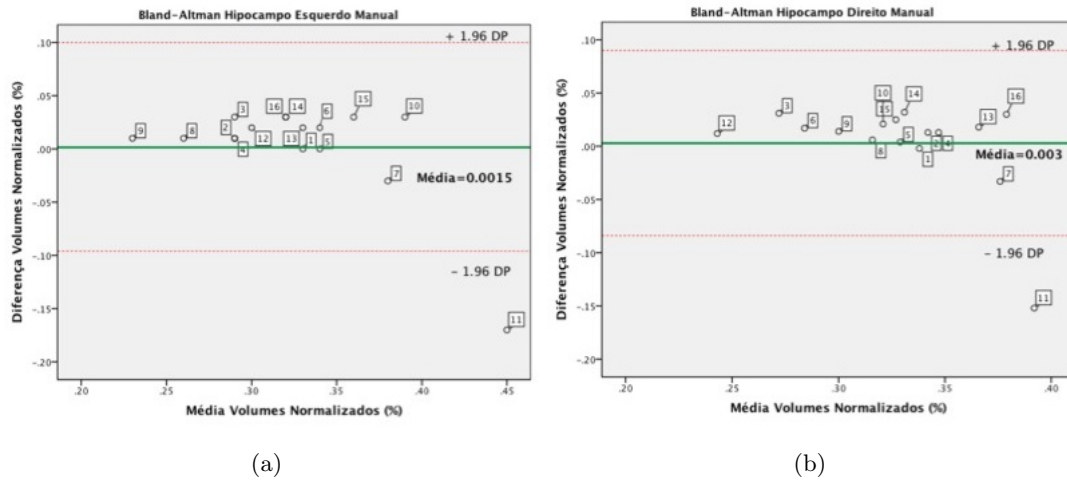


Figura 6.15: Gráfico *Bland – Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pela segmentação manual normalizados respectivamente com o VSC do *FSL* e do *FreeSurfer*, esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP=Desvio Padrão).

A análise dos gráficos de correlação e *Bland – Altman* da figura 6.15, indica-nos a existência de um caso que além de claramente sair de qualquer tendência estatística apresentada, também se encontra fora do respectivo intervalo de concordância (95%) - *outlier* -, tanto para o hipocampo esquerdo como para o direito, o caso 11. Deste modo, de forma a verificar a influência que este possível erro estatístico poderia estar a introduzir no cálculo dos respectivos factores de correlação, estes *outliers* foram retirados do conjunto de dados e repetido o processo estatístico, cujos resultados se encontram apresentados na tabela 6.3:

Tabela 6.3: Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 11 para o HD e para o HE.

Comparação de <i>Softwares</i>	Novo r - HE	Nova Média - HE	Novo r - HD	Nova Média - HD
<i>FSL – FreeSurfer</i>	0.93	-0.0133	0.91	0.01325

Comparando os resultados da tabela 6.3 com os apresentados anteriormente, é possível afirmar que sem o *outlier* em questão, o factor de correlação para o hipocampo esquerdo e direito, melhora em aproximadamente 20% e 34% respectivamente, sendo os respectivos valores médios da diferença entre volumes, aproximados do valor de 0. Tendo por base o artigo de **Richard Taylor**^[60], é possível afirmar que, neste contexto, a correlação entre os valores de volume obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtida pelos métodos automáticos - *FSL* e *FreeSurfer*, se encontra no intervalo de correlação elevada tanto para o hipocampo esquerdo como para o direito. Deste modo, pode inferir-se que a normalização do hipocampo poderá ser realizada com o VSC tanto do *FSL* como do *FreeSurfer*.

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Analisada a normalização do hipocampo com o VSC pretende agora compreender-se a relação entre este e o volume total intracraniano (VTI). As figuras 6.16 (a) e (b) pretendem esclarecer esta questão.

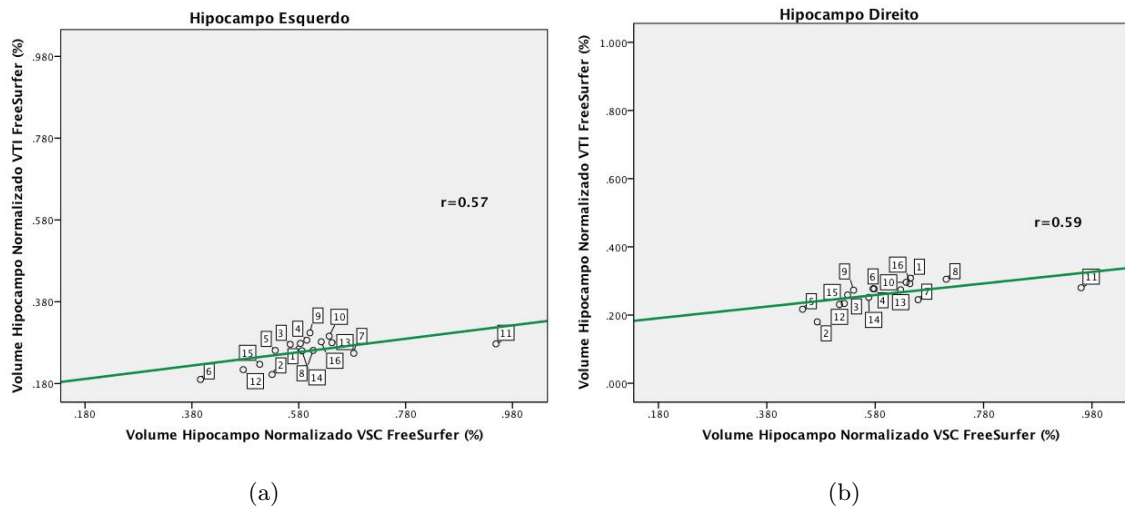


Figura 6.16: Representação gráfica da correlação entre os volumes de hipocampo obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e com o VTI obtido pelo *FreeSurfer*, esquerdo (a) e direito (b).

Verifica-se uma moderada correlação, tanto para o hipocampo esquerdo ($r=0.57$) como para o direito ($r=0.59$), para os valores de volume obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e os valores de volume obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VTI.

Nos gráficos (a) e (b) da figura 6.17 encontra-se representada a diferença entre os valores do volume do hipocampo esquerdo e direito normalizados, obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e com o VTI obtidos pelo *FreeSurfer*, assim como a respectiva média destes. Estes gráficos pretendem auferir o grau de concordância entre a normalização com o VSC e com o VTI, no que respeita à normalização do volume do hipocampo.

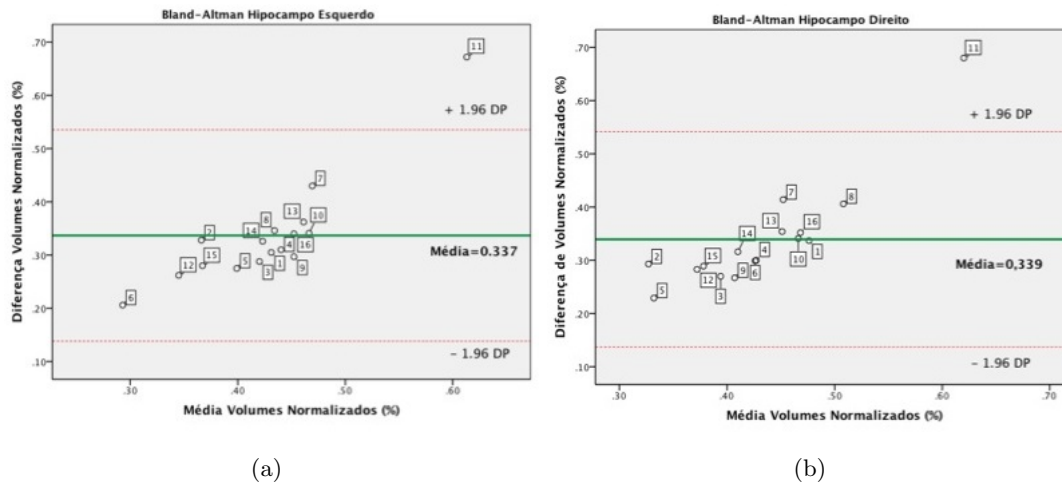


Figura 6.17: Gráfico *Bland – Altman* que ilustra a média da diferença de volumes do hipocampo obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e com o VTI obtidos pelo *FreeSurfer*, esquerdo (a) e direito (b) em função da média destes volumes. Os limites de concordância encontram-se representados a vermelho tracejado e o valor médio da diferença de volumes a verde. (DP=Desvio Padrão).

A análise dos gráficos de correlação e de *Bland – Altman* da figura 6.17, indicamos a existência de um caso, que além de claramente sair de qualquer tendência estatística apresentada, também se encontra fora do respectivo intervalo de concordância (95%) - *outlier*, tanto para o hipocampo esquerdo como para o direito, o caso 11. Deste modo, de forma a verificar a influência que este possível erro estatístico poderia estar a introduzir no cálculo dos respectivos factores de correlação, este *outlier* foi retirado do conjunto de dados e repetido o processo estatístico, cujos resultados se encontram apresentados na tabela 6.4:

Tabela 6.4: Resultados da nova análise correlacional (r) e respectivo valor médio da diferença entre volumes, sem o caso 11 para o HD e para o HE.

Comparação de <i>Softwares</i>	Novo r - HE	Nova Média - HE	Novo r - HD	Nova Média - HD
<i>FSL – FreeSurfer</i>	0.78	0.31	0.80	0.32

Comparando os resultados da tabela 6.4 com os apresentados anteriormente, é possível afirmar que sem o *outlier* em questão, o factor de correlação para o hipocampo esquerdo e direito, melhora em aproximadamente 21% para ambos, sendo os respectivos valores médios da diferença entre volumes, aproximados do valor de 0. Tendo por base o artigo de **Richard Taylor**^[60], é possível assim afirmar que, neste contexto, a correlação entre os valores de volume obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e com o VTI obtidos pelo método automático *FreeSurfer*, se encontra no intervalo de correlação elevada para o hipocampo esquerdo e direito. Posto isto, é possível afirmar que não se encontram diferenças significativas em normalizar com os valores de VSC ou com os de VTI obtidos pelo *FreeSurfer*, dado que

neste estudo apresentam uma elevada correlação entre eles.

6.4 Relação entre Idade e Volume Substância Cinzenta

A figura 6.18 e a figura 6.19 apresenta a relação da idade com o volume da substância cinzenta obtida respectivamente, com o *FreeSurfer* e com o *FSL*.

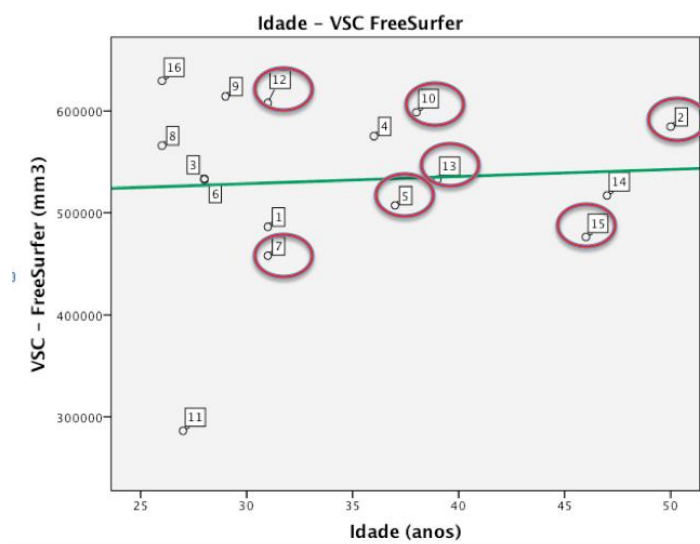


Figura 6.18: Análise da correlação da idade com o volume da substância cinzenta obtida pelo *FreeSurfer*. A vermelho encontram-se assinalados os pacientes com demência.

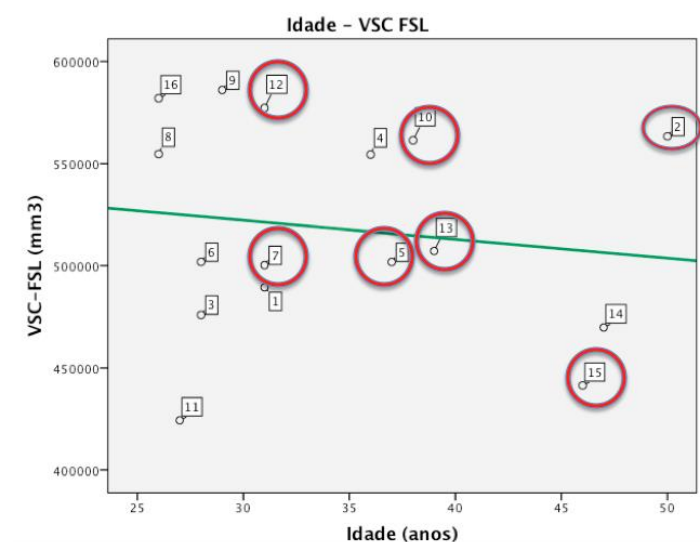


Figura 6.19: Análise da correlação da idade com o volume da substância cinzenta obtida pelo *FSL*. A vermelho encontram-se assinalados os pacientes com demência.

O gráfico da figura 6.18, não é conclusivo quanto à relação entre a idade e o VSC. No entanto o gráfico da figura 6.19 corrobora o estudo de *Allen et al.*^[64], que afirma que o VSC

decrece de forma linear com a idade, não sendo clara esta tendência nos resultados apresentados, podendo uma das razões estar associada ao reduzido número de amostra utilizado neste estudo. Apesar da falta de uniformidade encontrada, é possível verificar que a recta de correlação entre estas duas variáveis apresenta uma tendência decrescente dos pontos do gráfico, mesmo que ligeiramente desfasados.

Segundo *Teipel et al.*^[24] as reduções do volume da substância cinzenta em doentes com *Síndrome de Down* está associada às fases de demência e que, nestes indivíduos só se verifica com o aumento da idade após o início de demência. Uma vez que o número da amostra é reduzido, assim como a caracterização desta em diferentes faixas etárias e estados de demência, não é possível verificar a existência de relação, nos sujeitos com demência (assinalados no gráfico), entre a idade avançada e o reduzido volume de VSC.

6.5 Relação entre Idade e Volume Hipocampo

A figura 6.20 (a) e (b), apresentam a relação da idade com o volume de hipocampo, esquerdo e direito, obtidos pela segmentação manual normalizados com VSC obtidos pelo *FreeSurfer* e a figura 6.21 (a) e (b) apresentam a mesma relação mas normalizados com VTI obtidos pelo *FreeSurfer*.

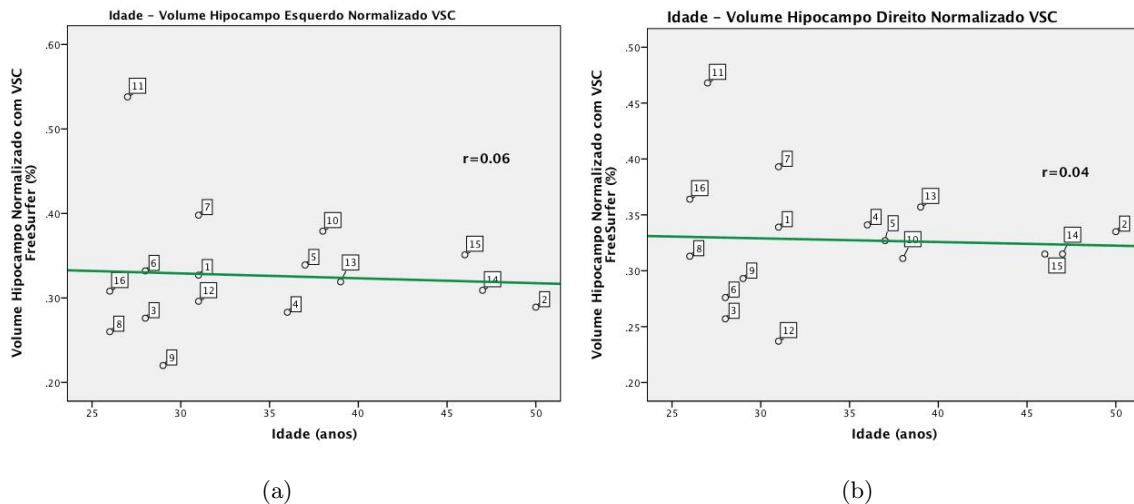


Figura 6.20: Análise da correlação da idade com o volume de hipocampo, esquerdo (a) e direito (b) obtido da segmentação manual normalizado com o VSC obtido pelo *FreeSurfer*.

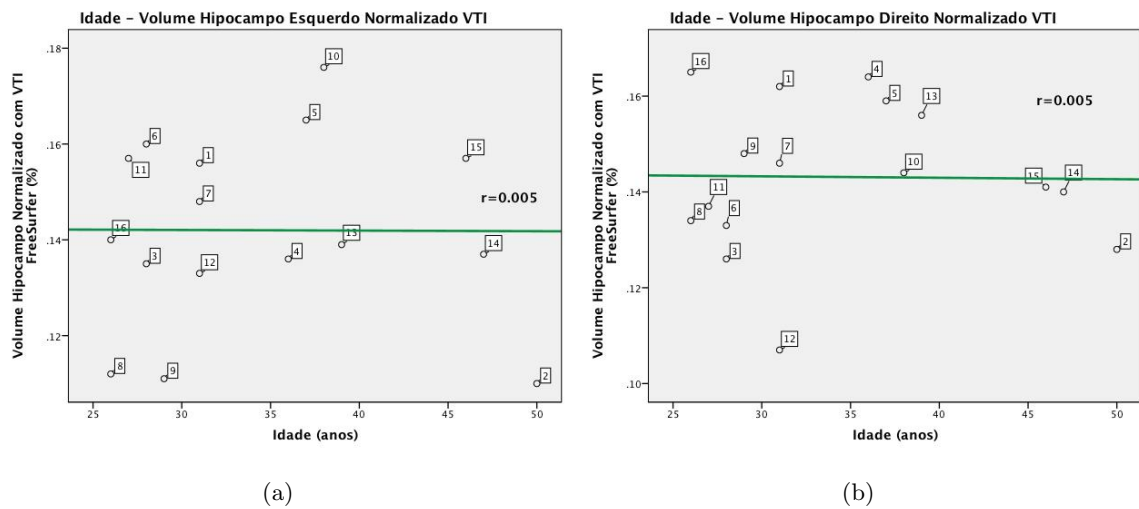


Figura 6.21: Análise da correlação da idade com o volume de hipocampo, esquerdo (a) e direito (b) obtido da segmentação manual normalizado com o VTI obtido pelo *FreeSurfer*.

Os gráficos de correlação da figura 6.20 e da figura 6.21, não apresentam resultados conclusivos entre os valores de hipocampo normalizados e a idade dos indivíduos. *Raz et al.* [65], apresenta os resultados de correlação entre o volume do hipocampo e a idade seguindo uma regressão cúbica.

6.6 Relação entre Hipocampo Esquerdo e Direito

A presença de volumes assimétricos em estruturas onde é esperada a existência de simetria, ou vice-versa, podem ser indicativos de processos patológicos e podem fornecer informações sobre a biologia de doenças neuropsiquiátricas. *Hasan e Pedraza* [62], sugerem que exista uma organização distinta da informação dos volume do hipocampo esquerdo e direito para todos os métodos, dado existirem fortes evidências de assimetria entre os dois hemisférios.

A figura 6.22 (a), (b) e (c) pretendem demonstrar a relação entre os volumes do hipocampo esquerdo e direito normalizados com o VTI obtido pelo *FreeSurfer*, obtidos pelos diferentes métodos de segmentação.

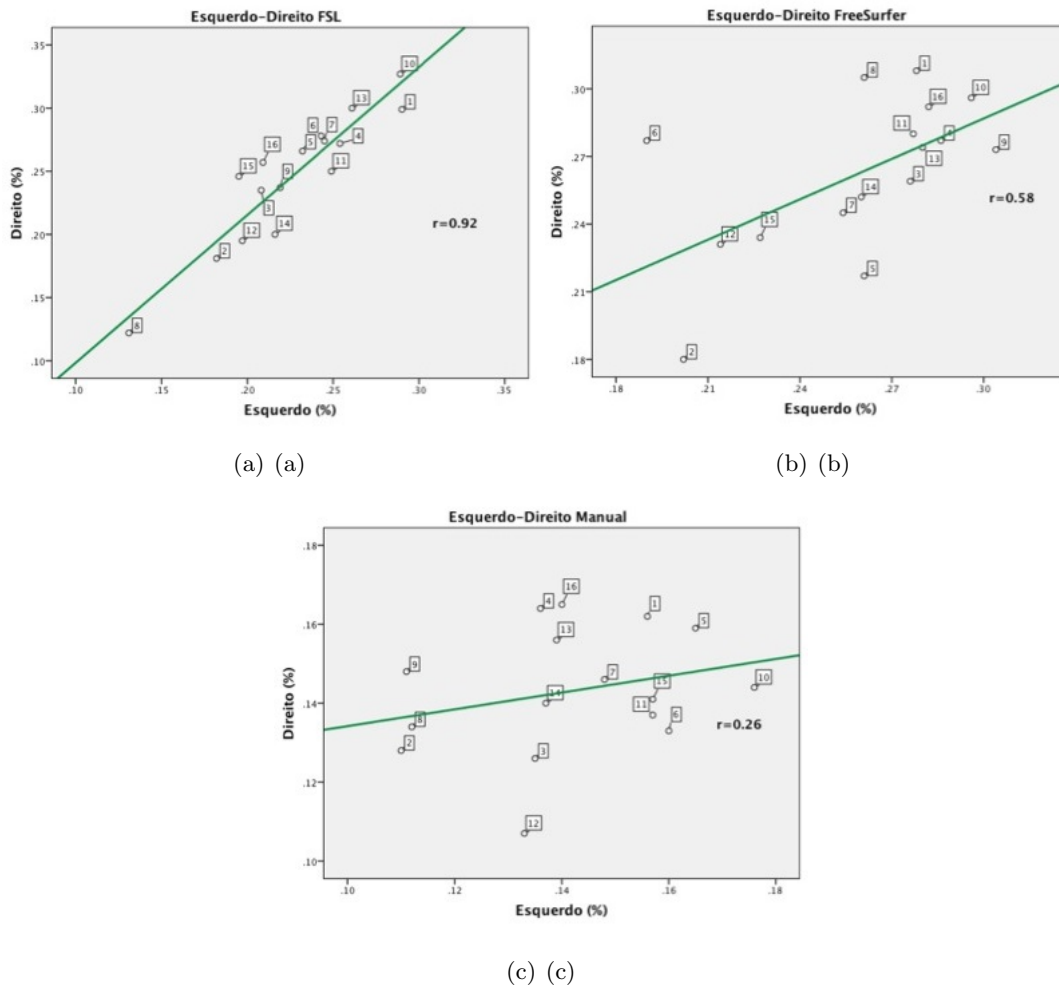


Figura 6.22: Gráficos da correlação entre volumes normalizados, (a) *FSL*, (b) *FreeSurfer* e (c) segmentação manual.

Os gráficos (a), (b) e (c) da figura 6.22, indicam-nos as correlações entre os volumes normalizados do hipocampo esquerdo e direito. Verificamos que esta correlação é forte ($r=0.92$) no *FSL*, moderada ($r=0.58$) no *FreeSurfer* e fraca ($r=0.26$) para a segmentação manual. Estes dados indicam que entre casos o *FSL* apresenta diferenças mínimas para os volumes normalizados obtidos de hipocampo esquerdo e direito, enquanto que o *FreeSurfer* já apresenta diferenças significativas, verificando-se ainda que na segmentação manual existem poucas semelhanças entre casos.

No entanto, em média, a diferença entre o hipocampo direito e esquerdo, o *FreeSurfer* apresenta uma diferença de aproximadamente 1%, o método de segmentação manual apresenta uma diferença de aproximadamente 1.3%, apresentando o *FSL* uma diferença de cerca de 8%. Na bibliografia, tendo por base *Pedraza et al.*^[66], para uma amostra de população normal, verifica-se a existência de assimetria de hemisférios, tendo o hipocampo direito, em situações normais, um volume ligeiramente superior, em cerca de 3%, em relação ao hipocampo

esquerdo. No entanto, no presente estudo, a reduzida amostra, a sua falta de homogeneidade, e a inexistência de controlos, não nos permitem tirar conclusões precisas acerca deste ponto. Sendo possível dizer que uma atrofia hipocampal poderá ampliar/reduzir a diferença de lateralização.

Através da visualização dos gráficos da figura 6.22 constata-se a existência de um caso que não segue a regra para os três *softwares*, paciente 12, isto é, tanto para o *FSL* como para o *FreeSurfer* este ponto encontra-se junto da recta de correlação, e no procedimento manual encontra-se muito distante da mesma. Analisando os volumes esquerdo e direito, para cada software, é possível afirmar que para o *FSL*, o paciente 12 apresenta uma diferença de 0.5% entre os volumes normalizados do hipocampo esquerdo e direito, para o *FreeSurfer*, apresenta uma diferença de 3.9%, sendo neste *software* o hipocampo direito maior do que o esquerdo, por último para a segmentação Manual, a diferença entre volumes normalizados do hipocampo esquerdo e direito é de 6.4%.

Deste modo, esta diferença poderá estar associada ao facto dos métodos automáticos utilizarem mapas de probabilidade, sendo o mapa a "sobrepôr" à imagem em estudo uma média, não traduzindo o nível real de assimetria entre hemisférios.

Neste estudo, verificam-se discrepâncias entre os valores de volume obtidos pela segmentação manual e pelos métodos automáticos - *FSL* e *FreeSurfer* - (ver figura 6.23), sendo a causa mais provável a utilização de critérios não coincidentes na segmentação manual e os utilizados para o desenvolvimento dos métodos automáticos.

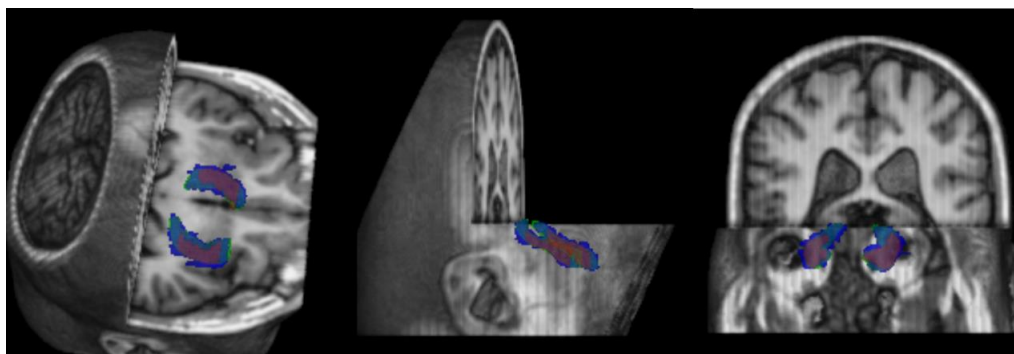


Figura 6.23: Ilustração em 3D dos resultados da segmentação obtida pelas diferentes técnicas para o hipocampo esquerdo e direito do Paciente 12. A verde (esquerdo e direito) - *FSL*, a vermelho (esquerdo e direito) - Manual, e a azul (esquerdo e direito) - *FreeSurfer*.

São também encontradas algumas discrepâncias entre os valores de volume obtidos pelos diferentes métodos automáticos utilizados neste estudo. Por inspeção visual, verifica-se que o volume do hipocampo estimado pelo *FreeSurfer* sugere uma tendência mais fiel à morfologia real da região que o envolve, verificando-se no entanto uma clara tendência de sobredimensionamento desta estrutura. Este facto é corroborado por *Tae et al.*^[67], que

CAPÍTULO 6. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

afirma que a principal causa se encontra na expansão da região de interesse, abrangendo a substância branca adjacente ao hipocampo. Por outro lado, o *FSL*, sugere uma estimação mais conservadora, não tão fiel à morfologia da região, principalmente em zonas mais complexas, mas mais concordante com as dimensões reais do hipocampo. Esta análise corrobora os resultados obtidos pelos gráficos de *Bland – Altman* que demonstram que o *FreeSurfer* apresenta um valor médio de volume de hipocampo superior ao estimado pelo *FSL*, que se aproxima mais dos resultados obtidos pela segmentação manual.

Na figura 6.24 apresenta-se a relação entre a demência e o volume dos hipocampus normalizados com o VTI.

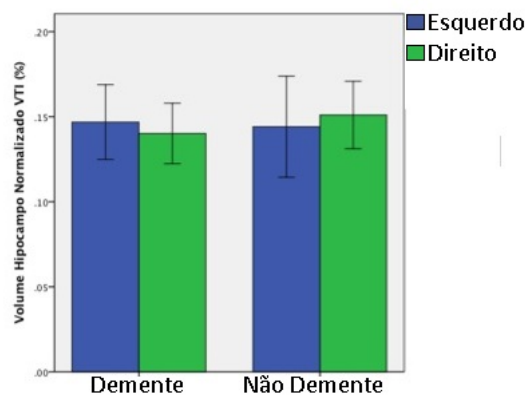


Figura 6.24: Representação gráfica do volume do hipocampo normalizado com o VTI em relação à demência.

Salvaguardando o facto da população de dementes ser constituída por 7 pacientes dementes e a de não dementes por 9, limitando de alguma forma a relação estatística entre as duas populações, verifica-se que não é possível concluir que exista uma clara relação entre a demência e a variação do volume do hipocampo.

7

Conclusões

Neste capítulo, são apresentadas as conclusões finais do estudo levado a cabo nesta dissertação, assim como as condicionantes encontradas ao longo deste projeto, sendo por último apresentadas algumas perspectivas para estudos futuros.

7.1 Conclusões

O principal objectivo desta dissertação consistia em avaliar o grau de demência em doentes com *Síndrome de Down*, com base na volumetria do hipocampo, assim como a validação das medições automáticas destas estruturas através de *softwares* de referência em imagiologia: *FSL* e *FreeSurfer*.

Com esse estudo, tentou-se criar uma metodologia semi-automatizada para se proceder a estudos de volumetria do hipocampo, de modo a não só reduzir significativamente o tempo despendido pelos clínicos na realização da segmentação manual desta estrutura, mas também aumentar a precisão estatística (fora do alcance do olho humano) dos resultados da segmentação.

Verificou-se neste estudo, que existe uma moderada correlação em praticamente todos os programas, observando-se no entanto que existe uma melhor correlação entre a segmentação manual e o *FSL*, tendo por base os volumes do hipocampo resultantes de cada um

destes métodos. Partindo do princípio que o método de segmentação manual é considerado o método de referência neste tipo de análise, e salvaguardando as limitações que poderão estar associadas a esta técnica, verificou-se que existe um sobredimensionamento significativo no cálculo dos volumes do hipocampo esquerdo e direito por parte do *FSL* e *FreeSurfer*, relativamente ao método de segmentação manual.

Durante este estudo, verificou-se na bibliografia que continua a existir uma considerável variação entre os diferentes estudos, uma vez que não existe um protocolo único (referência) de metodologia pelo qual todos os investigadores se possam orientar para a realização da segmentação manual do hipocampo. Contudo, apesar do método de segmentação manual continuar a ser o *gold – standard*, o *FSL* apresenta indicadores positivos para vir a tornar-se um potencial substituto deste método. Um estudo mais aprofundado sobre algumas das limitações encontradas durante este projeto poderão permitir criar mecanismos automáticos de segmentação com a precisão e rapidez desejadas para que, um destes programas, ou até mesmo a fusão de diferentes programas, possam vir a garantir um contributo essencial na avaliação clínica de algumas patologias onde a volumetria é um critério essencial para o seu diagnóstico.

Da análise à normalização com o volume de substância cinzenta, é possível concluir que não se encontram diferenças significativas em normalizar com: os volumes de VSC obtidos pelo *FSL* ou pelo *FreeSurfer*; normalizar com o VSC ou com o VTI obtidos pelo *FreeSurfer*. Verifica-se ainda a presença de um *outlier* comum a todas as análises - paciente 11 - explicado pelo facto de apresentar intensos artefactos de movimento durante a aquisição de IRM, refletindo-se na má caracterização dos tecidos por parte dos softwares.

Quanto à idade, embora não seja possível retirar conclusões precisas sobre a relação existente entre esta e o VSC, uma vez que a amostra é demasiado pequena e heterogénea, os resultados são claros ao demonstrarem uma elevada variação inter-individual que dificulta ainda mais a já difícil tarefa de relacionar os volumes dos hipocampos com o grau de demência dos indivíduos. O mesmo se observando no que respeita à relação entre o volume dos hipocampos direitos e esquerdos.

Este projeto é importante para a comunidade científica, uma vez que o estudo da volumetria do hipocampo é realizado com recurso a diferentes métodos de segmentação - manual e automáticos, a segmentação manual é realizada com recurso aos três planos anatómicos, é feita a normalização com o volume de substância cinzenta.

Em termos de reflexão pessoal será ainda possível considerar alguns pontos dignos de nota. Por um lado, poder-se-á afirmar que o objectivo principal da Engenharia Biomédica - estabelecer a ligação entre os Engenheiros e os Médicos, foi claramente atingido, tendo

em conta a parceria que se estabeleceu entre o Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa e o serviço de Neuroradiologia do Hospital Garcia de Horta em Almada, no decurso deste projeto. Por outro lado, tendo em conta o carácter abrangente do trabalho desenvolvido, facilmente se compreende a extrema importância que os conhecimentos em áreas como a Física, a Programação, a Imagiologia, ou a Anatomia/Fisiologia/Patologia, adquiridos ao longo do curso, tiveram para a realização deste projeto. Finalmente, é de realçar a aquisição de conhecimentos complementares que a realização deste projeto permitiu, tais como: utilização de um novo sistema operativo, com base Unix; utilização de ferramentas complexas de renome na área da Neurociência; assim como a experiência de sintetização de pontos de interesse a incluir em estudos científicos.

7.2 Condicionantes

Ao longo deste estudo, foram encontradas algumas limitações/dificuldades que importam reportar, tais como:

- A falta de conhecimentos suficientemente sólidos sobre os limites anatómicos do hipocampo no início deste estudo. Esta dificuldade foi apenas suprida através da inestimável presença de um neuroradiologista experiente que conduziu o estudo. Ainda assim, o processo revelou-se moroso e exigente.
- A decisão sobre o melhor critério de limites a adoptar para a realização da segmentação manual, dado o elevado número de protocolos existentes, e ao facto de não existirem referências absolutas quanto aos métodos a utilizar.
- Algumas limitações do *software MRIcron*. Nomeadamente, a falta de sensibilidade do cursor na seleção rigorosa da região pretendida e a possibilidade de retroceder apenas uma vez na seleção de regiões, tornaram este processo de segmentação manual bastante moroso.
- O reduzido número de amostra impossibilitou conclusões suficientemente precisas sobre a relação entre o volume do hipocampo e a demência em *Síndrome de Down*;

7.3 Perspectivas Futuras

Como trabalho futuro, seria fulcral a realização deste estudo com número de amostra significativamente maior, de modo a não só garantir uma atenuação dos efeitos dos *outliers* e assim aumentar o poder estatístico desta análise, mas também de modo a poder:

- Tirar conclusões mais sólidas sobre a relação entre o valor de volume do hipocampo e a demência em pacientes com *Síndrome de Down*, de modo a confirmar estudos existentes que argumentam que a demência está associada à diminuição do volume do hipocampo.

- Confirmar o estudo de *Bigler et al*^[68], onde é revelado que os volumes do hipocampo normalizados com o volume total cerebral, proporcionam uma maior especificidade e sensibilidade dos resultados do que os normalizados com o volume total intracraniano.

Seria igualmente interessante realizar um estudo sobre a variação da forma dos hipocampos obtidos, através da ferramenta *vertex* do *FSL*, permitindo assim obter informação tridimensional sobre as variações identificadas entre grupos (dementes/não-dementes, faixas etárias, hipocampo esquerdo/direito).

Bibliografia

- [1] “Trisomy 21, down syndrome. centre for genetics education.” <http://www.genetics.edu.au/Information/Genetics-Fact-Sheets/Trisomy21DownSyndromeFS28>. Consultado em 11/01/2013.
- [2] S. Girirajan, “Parental-age effects in down syndrome,” *Journal of genetics*, vol. 88, no. 1, pp. 1–7, 2009.
- [3] S. E. Antonarakis and C. J. Epstein, “The challenge of down syndrome,” *Trends in Molecular Medicine*, vol. 12, no. 10, pp. 473–479, 2006.
- [4] P. Lavenex and D. G. Amaral, “Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity,” *Hippocampus*, vol. 10, no. 4, pp. 420–430, 2000.
- [5] L. Squire, D. Berg, F. E. Bloom, S. du Lac, A. Ghosh, and N. C. Spitzer, *Fundamental neuroscience*. Academic Press, 2012.
- [6] R. Widmaier, H. Raff, and K. Strang, “Vander’s human physiology: the mechanisms of body function with aris,” 2007.
- [7] G. J. Tortora and B. H. Derrickson, *Principles of anatomy and physiology*. Wiley, 2008.
- [8] S. S. Kenneth, “Anatomy and physiology: The unity of form and function,” 2004.
- [9] B. M. K. John T. Hansen, *Atlas of Neuroanatomy and Neurophysiology, Special Edition*. Stalevo, 2004.
- [10] D. Purves, G. J. Augustine, D. Fitzpatrick, W. C. Hall, A.-S. Lamantia, J. O. McNamara, and S. M. Williams, “Neuroscience, chapter 13,” 2004.
- [11] R. Nieuwenhuys and J. Voogd, “Huijzen cv: The human central nervous system: a synopsis and atlas,” 1981.
- [12] Y.-Y. Sitoh and R. D. Tien, “The limbic system: An overview of the anatomy and its development,” *Neuroimaging Clinics of North America*, vol. 7, no. 1, pp. 1–10, 1997.
- [13] G. Kempermann, “Why new neurons? possible functions for adult hippocampal neurogenesis,” *The Journal of neuroscience*, vol. 22, no. 3, pp. 635–638, 2002.

- [14] H. M. Duvernoy, *The human hippocampus: functional anatomy, vascularization and serial sections with MRI*. Springer, 2005.
- [15] R. D. Tien, G. J. Felsberg, and B. Crain, “Normal anatomy of the hippocampus and adjacent temporal lobe: high-resolution fast spin-echo mr images in volunteers correlated with cadaveric histologic sections.,” *American Journal of Roentgenology*, vol. 159, no. 6, pp. 1309–1313, 1992.
- [16] J. Vilensky, G. V. Hoesen, and A. Damasio, “The limbic system and human evolution,” *Journal of Human Evolution*, vol. 11, no. 6, pp. 447–460, 1982.
- [17] “History of down syndrome.” <http://downsyndrome.com/history-of-down-syndrome/>. Consultado em 1/2/2013.
- [18] “National down syndrome society, broadway.” www.ndss.org. Consultado em 31/10/2012.
- [19] A. Contestabile, F. Benfenati, and L. Gasparini, “Communication breaks-down: from neurodevelopment defects to cognitive disabilities in down syndrome,” *Progress in neurobiology*, vol. 91, no. 1, pp. 1–22, 2010.
- [20] “Associação de portadores de trissomia 21 do algarve.” www.ndss.org. <http://apatris21.com>. Consultado em 11/1/2013.
- [21] P. R. Assessment, “Down syndrome: prenatal risk assessment and diagnosis,” *Am Fam Physician*, vol. 62, no. 4, pp. 825–832, 2000.
- [22] J. E. Reser, “Evolutionary neuropathology and down syndrome: an analysis of the etiological and phenotypical characteristics of down syndrome suggests that it may represent an adaptive response to severe maternal deprivation,” *Medical hypotheses*, vol. 67, no. 3, pp. 474–481, 2006.
- [23] T. L. Jernigan, U. Bellugi, E. Sowell, S. Doherty, and J. R. Hesselink, “Cerebral morphologic distinctions between williams and down syndromes,” *Archives of Neurology*, vol. 50, no. 2, p. 186, 1993.
- [24] S. J. Teipel, G. E. Alexander, M. B. Schapiro, H.-J. Möller, S. I. Rapoport, and H. Hampel, “Age-related cortical grey matter reductions in non-demented down’s syndrome adults determined by mri with voxel-based morphometry,” *Brain*, vol. 127, no. 4, pp. 811–824, 2004.
- [25] C. Oliver, L. Crayton, A. Holland, S. Hall, and J. Bradbury, “A four year prospective study of age-related cognitive change in adults with down’s syndrome,” *Psychological Medicine*, vol. 28, no. 6, pp. 1365–1377, 1998.
- [26] “Down syndrome and alzheimer’s disease.” www.alzheimer.ca. Consultado em 11/1/2013.

- [27] M. Cosgrove, J. Tyrrell, M. McCarron, M. Gill, and B. A. Lawlor, “A five year follow-up study of dementia in persons with down’s syndrome: early symptoms and patterns of detection,” *Irish Journal of Psychological Medicine*, vol. 17, no. 1, pp. 5–11, 2000.
- [28] “Dementia and people with learning disabilities.” www.alzheimer.ca. Consultado em 11/1/2013.
- [29] E. Jozsvai, P. Kartakis, and A. Collings, “Neuropsychological test battery to detect dementia in down syndrome,” *J Dev Disabil*, vol. 9, pp. 27–34, 2002.
- [30] C. Guy and D. Ffytche, *An introduction to the principles of medical imaging*. World Scientific, 2005.
- [31] J. T. Bushberg, J. A. Seibert, E. M. Leidholdt, and J. M. Boone, *The essential physics of medical imaging*. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
- [32] R. M. Rangayyan, *Biomedical image analysis*. CRC, 2004.
- [33] A. A. Mazzola, “Ressonância magnética: princípios de formação da imagem e aplicações em imagem funcional,” *Revista Brasileira de Física Médica*, vol. 3, no. 1, pp. 117–29, 2009.
- [34] R. A. Pooley, “Fundamental physics of mr imaging1,” *Radiographics*, vol. 25, no. 4, pp. 1087–1099, 2005.
- [35] S. A. Huettel, A. W. Song, and G. McCarthy, “Functional magnetic resonance imaging,” 2004.
- [36] “Magnetic resonance - basic principles, history, facts. the primer by trtf / emrf.” <http://www.magnetic-resonance.org/index.htm>. Consultado em 1/02/2013.
- [37] P. A. Rink, “Magnetic resonance in medicine,” *The Basic Textbook of the European Magnetic Resonance Forum*, vol. 5, 2003.
- [38] J. A. Pope, *Medical physics: imaging*. Heinemann Educational Publishers, 1999.
- [39] K. Miller, “Introduction to mri physics.” http://users.fmrib.ox.ac.uk/~karla/grad_program/fmrib_induct. Consultado em 1/02/2013.
- [40] A. Arun, “Artifacts in mri.”
- [41] S. S. Keller and N. Roberts, “Measurement of brain volume using mri: software, techniques, choices and prerequisites,” *Journal of Anthropological Sciences*, vol. 87, pp. 127–151, 2009.
- [42] A. R. Khan, L. Wang, and M. F. Beg, “Freesurfer-initiated fully-automated subcortical brain segmentation in mri using large deformation diffeomorphic metric mapping,” *NeuroImage*, vol. 41, no. 3, p. 735, 2008.

- [43] M. Cabezas, A. Oliver, X. Lladó, J. Freixenet, and M. Bach Cuadra, “A review of atlas-based segmentation for magnetic resonance brain images,” *Computer methods and programs in biomedicine*, vol. 104, no. 3, pp. e158–e177, 2011.
- [44] O. Soldea, A. Ekin, D. F. Soldea, D. Ünay, M. Cetin, A. Erçil, M. G. Uzunbaş, Z. Fırat, M. Cihangiroğlu, *et al.*, “Segmentation of anatomical structures in brain mr images using atlases in fsl-a quantitative approach,” 2010.
- [45] “Mricron.” <http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/index.html> Consultado em 24/04/2012.
- [46] O. U. Analysis Group, FMRIB, “Fmrib software library v5.0.” <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/>, consultado em 10/1/2013.
- [47] C. Martinos Center for Biomedical Imaging by the Laboratory for Computational Neuroimaging, “Freesurfer.” <http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki/>, Consultado em consultado a 10/1/2013.
- [48] “Spm8, statistical parametric mapping..” <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm8/> Consultado em consultado a 10/1/2013.
- [49] S. P. M. R. B. R. G. M. J. F. M. J. Breia P., Silvestre A., “Demência na população adulta com trissomia 21 - um desafio diagnóstico.”
- [50] E. Geuze, E. Vermetten, and J. Bremner, “Mr-based in vivo hippocampal volumetrics: 2. findings in neuropsychiatric disorders,” *Molecular psychiatry*, vol. 10, no. 2, pp. 160–184, 2004.
- [51] F. L. Seixas, D. C. M. Saade, A. Conci, A. S. de Souza, F. Tovar-Moll, and I. Bramatti, “Anatomical brain mri segmentation methods: volumetric assessment of the hippocampus,” *IWSSIP*, vol. 17, pp. 17–19, 2010.
- [52] B. Patenaude, *Bayesian Statistical Models of Shape and Appearance for Subcortical Brain Segmentation*. PhD thesis, University of Oxford, 2007.
- [53] A. Group, “F. first, fsl.” <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FIRST/UserGuide> Consultado em 10/1/2013.
- [54] S. Bhatia, S. Y. Bookheimer, W. D. Gaillard, and W. H. Theodore, “Measurement of whole temporal lobe and hippocampus for mr volumetry normative data,” *Neurology*, vol. 43, no. 10, pp. 2006–2006, 1993.
- [55] S. M. Smith, “Fast robust automated brain extraction,” *Human brain mapping*, vol. 17, no. 3, pp. 143–155, 2002.

- [56] V. Popescu, M. Battaglini, W. Hoogstrate, S. Verfaillie, I. Sluimer, R. van Schijndel, B. van Dijk, K. Cover, D. Knol, M. Jenkinson, *et al.*, “Optimizing parameter choice for fsl-brain extraction tool (bet) on 3d t1-images in multiple sclerosis,” *NeuroImage*, 2012.
- [57] “Fast (fmrib’s automated segmentation tool).” <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FAST> Consultado em consultado a 10/1/2013.
- [58] “Ibm spss.” <http://www-01.ibm.com/software/analytics/spss/>, Consultado a 12/02/2013.
- [59] J. Martin Bland and D. Altman, “Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement,” *The lancet*, vol. 327, no. 8476, pp. 307–310, 1986.
- [60] R. Taylor, “Interpretation of the correlation coefficient: a basic review,” *Journal of Diagnostic Medical Sonography*, vol. 6, no. 1, pp. 35–39, 1990.
- [61] R. A. Morey, C. M. Petty, Y. Xu, J. Pannu Hayes, H. R. Wagner II, D. V. Lewis, K. S. LaBar, M. Styner, and G. McCarthy, “A comparison of automated segmentation and manual tracing for quantifying hippocampal and amygdala volumes,” *Neuroimage*, vol. 45, no. 3, pp. 855–866, 2009.
- [62] K. M. Hasan and O. Pedraza, “Improving the reliability of manual and automated methods for hippocampal and amygdala volume measurements,” *NeuroImage*, vol. 48, no. 3, pp. 497–498, 2009.
- [63] C. R. Jack, R. C. Petersen, P. C. O’Brien, and E. G. Tangalos, “Mr-based hippocampal volumetry in the diagnosis of alzheimer’s disease,” *Neurology*, vol. 42, no. 1, pp. 183–183, 1992.
- [64] J. S. Allen, J. Bruss, C. K. Brown, and H. Damasio, “Normal neuroanatomical variation due to age: the major lobes and a parcellation of the temporal region,” *Neurobiology of aging*, vol. 26, no. 9, pp. 1245–1260, 2005.
- [65] N. Raz, F. Gunning-Dixon, D. Head, K. M. Rodrigue, A. Williamson, and J. D. Acker, “Aging, sexual dimorphism, and hemispheric asymmetry of the cerebral cortex: replicability of regional differences in volume,” *Neurobiology of aging*, vol. 25, no. 3, pp. 377–396, 2004.
- [66] O. PEDRAZA, D. BOWERS, and R. GILMORE, “Asymmetry of the hippocampus and amygdala in mri volumetric measurements of normal adults,” *Journal of the International Neuropsychological Society*, vol. 10, no. 05, pp. 664–678, 2004.
- [67] W. S. Tae, S. S. Kim, K. U. Lee, E.-C. Nam, and K. W. Kim, “Validation of hippocampal volumes measured using a manual method and two automated methods (freesurfer and ibaspm) in chronic major depressive disorder,” *Neuroradiology*, vol. 50, no. 7, pp. 569–581, 2008.

BIBLIOGRAFIA

- [68] E. D. Bigler, D. D. Blatter, C. V. Anderson, S. C. Johnson, S. D. Gale, R. O. Hopkins, and B. Burnett, "Hippocampal volume in normal aging and traumatic brain injury.," *American Journal of Neuroradiology*, vol. 18, no. 1, pp. 11–23, 1997.

Apêndice A

Caracterização da amostra

Apresenta-se de seguida o género, a idade e o declínio cognitivo para cada paciente estudado nesta dissertação, fornecidos pelo neuroradiologista.

Tabela A.1: Género, Idade e Declínio Cognitivo para cada paciente .

Paciente	Género	Idade	Declínio Cognitivo (Demência)
1	Feminino	31	-
2	Masculino	50	moderada
3	Masculino	28	-
4	Masculino	36	-
5	Feminino	37	moderada
6	Feminino	28	-
7	Masculino	31	muito ligeira
8	Feminino	26	-
9	Masculino	29	-
10	Masculino	38	muito ligeira
11	Feminino	27	-
12	Masculino	31	ligeira
13	Feminino	39	muito ligeira
14	Feminino	47	-
15	Feminino	46	moderada
16	Masculino	26	-

Apêndice B

Etapas do processamento do FreeSurfer

Apresenta-se de seguida as diferentes etapas de segmentação de tecidos no FreeSurfer.

Tabela B.1: Diferentes etapas de segmentação

No.	Stage
autorecon1	1 Motion Correction and Conform
	2 NU (Non-Uniform intensity normalization)
	3 Talairach transform computation
	4 Intensity Normalization 1
	5 Skull Strip
	6 EM Register (linear volumetric registration)
	7 CA Intensity Normalization
	8 CA Non-linear Volumetric Registration
	9 Remove Neck
	10 LTA with Skull
	11 CA Label (Volumetric Labelling, ie Aseg) and Statistics
	12 Intensity Normalization 2 (start here for control points)
autorecon2	13 White matter segmentation
	14 Edit WM With Aseg
	15 Fill (start here for wm edits)
	16 Tessellation (begins per-hemisphere operations)
	17 Smooth1
	18 Inflate1
	19 Qsphere
	20 Automatic Topology Fixer
	21 Final Surfs (start here for brain edits for pial surf)
	22 Smooth2
23 Inflate2	
24 Spherical Mapping	
25 Spherical Registration	
autorecon3	26 Spherical Registration, Contralateral hemisphere
	27 Map average curvature to subject
	28 Cortical Parcellation - Desikan_Killiany and Christophe (Labeling)
	29 Cortical Parcellation Statistics
	30 Cortical Ribbon Mask
	31 Cortical Parcellation mapping to Aseg

Apêndice C

Volumes Hipocampo Esquerdo e Direito

Apresentam-se de seguida os valores dos volumes do hipocampo esquerdo e direito obtidos com as diferentes segmentações.

Tabela C.1: Volumes em mm^3 do hipocampo esquerdo e direito obtidos pelas diferentes segmentações.

Paciente	FSL		FreeSurfer		Manual	
	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito	Esquerdo	Direito
1	2963	3047	2837	3138	1590	1650
2	2787	2772	3096	2767	1690	1960
3	2263	2563	3007	2821	1470	1370
4	3042	3264	3422	3322	1630	1960
5	2417	2767	2720	2263	1720	1660
6	2693	3081	2112	3069	1770	1470
7	3016	3373	3129	3017	1820	1800
8	1732	1605	3437	4024	1470	1770
9	2656	2875	3688	3318	1350	1800
10	3719	4207	3812	3812	2270	1860
11	2445	2452	2718	2749	1540	1340
12	2660	2632	2895	3122	1800	1440
13	3186	3656	3420	3341	1700	1900
14	2515	2330	3033	2936	1600	1630
15	2076	2622	2418	2490	1670	1500
16	2901	3568	3912	4054	1940	2290

Apêndice D

Volumes Tecidos

Apresentam-se de seguida os valores dos volumes dos tecidos: substância cinzenta, substância branca, LCR, volume total e volume total intracraniano, obtidos pelos diferentes *softwares*.

Tabela D.1: Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o *FSL*.

Paciente	Substância Cinzenta	Substância Branca Branca	LCR	Total
1	489443	345845	276126	1111414
2	563319	463410	315686	1342415
3	475939	413923	219346	1109208
4	554517	416715	231574	1202806
5	501773	335488	199732	1036993
6	501830	374417	216680	1092928
7	500282	441922	242551	1184755
8	554761	441341	257999	1254100
9	586009	475326	233106	1294441
10	561402	461077	242889	1265369
11	424301	367748	190026	982075
12	577297	443025	267003	1287325
13	507236	442262	233430	1182928
14	469831	452556	232410	1154797
15	441341	348910	188260	978511
16	581977	482954	229110	1294041

Tabela D.2: Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o *SPM8*.

Paciente	Substância Cinzenta	Substância Branca Branca	LCR	Total = <i>overlap dos 3</i>
1	538220	362380	227090	890400
2	710820	488390	370740	1267360
3	568300	412670	283170	1003580
4	682680	472790	327720	1190370
5	567910	386180	262340	965600
6	595100	406060	281570	1019580
7	661300	483450	354060	1183160
8	704030	492210	323540	1212230
9	743950	526760	346790	1305250
10	707830	483720	315220	1213090
11	553280	381060	279220	948900
12	890580	578420	465240	1471830
13	672370	492580	360960	1200100
14	594080	472330	305800	1101730
15	564330	395220	282140	999680
16	713990	508870	297820	1227280

Tabela D.3: Volumes em mm^3 dos diferentes tecidos obtidos com o *FreeSurfer*.

Paciente	Substância Cinzenta	Substância Branca	Intracraniano
1	486297	316845	1020409
2	584458	425614	1535201
3	533244	341275	1090002
4	575074	393581	1198544
5	507288	313126	1042213
6	532748	358075	1109221
7	457824	283561	1232557
8	565982	403976	1317491
9	614079	455916	1214967
10	598648	448453	1287331
11	286273	153941	980351
12	607720	419385	1351869
13	532452	408140	1219885
14	517138	428993	1165491
15	476455	333658	1063983
16	629368	463051	1387873

Apêndice E

Volumes de hipocampo normalizados

Apresentam-se de seguida os em % dos volumes normalizados.

Tabela E.1: Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação obtida pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer*, normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo *FSL* e com o *FreeSurfer*, em %.

Paciente	<i>FSL</i>		<i>FreeSurfer</i>	
	HE	HD	HE	HD
1	0,605	0,622	0,583	0,645
2	0,495	0,492	0,530	0,473
3	0,476	0,538	0,564	0,529
4	0,549	0,589	0,595	0,578
5	0,482	0,551	0,536	0,446
6	0,537	0,614	0,396	0,576
7	0,603	0,674	0,683	0,659
8	0,312	0,289	0,607	0,711
9	0,453	0,491	0,601	0,540
10	0,663	0,749	0,637	0,637
11	0,576	0,578	0,949	0,960
12	0,461	0,456	0,476	0,514
13	0,628	0,721	0,642	0,627
14	0,535	0,496	0,586	0,568
15	0,470	0,594	0,507	0,523
16	0,498	0,613	0,622	0,644

Tabela E.2: Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação manual, normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo *FSL* e com o *FreeSurfer*, em %.

Paciente	<i>FSL</i>		<i>FreeSurfer</i>	
	HE	HD	HE	HD
1	0,320	0,337	0,330	0,340
2	0,300	0,350	0,290	0,340
3	0,309	0,288	0,276	0,257
4	0,294	0,353	0,283	0,341
5	0,343	0,331	0,339	0,327
6	0,353	0,293	0,332	0,276
7	0,364	0,360	0,398	0,393
8	0,265	0,319	0,260	0,313
9	0,230	0,307	0,220	0,293
10	0,404	0,331	0,379	0,311
11	0,312	0,249	0,296	0,237
12	0,335	0,375	0,319	0,357
13	0,341	0,347	0,309	0,315
14	0,378	0,340	0,351	0,315
15	0,333	0,393	0,308	0,364

Tabela E.3: Volumes do hipocampo esquerdo (HE) e do hipocampo direito (HD) resultantes da segmentação obtida pelo *FreeSurfer*, normalizados, respectivamente, com o VSC obtido pelo *FreeSurfer* e com o VTI obtido pelo *FreeSurfer*, em %.

Paciente	VSC		VTI	
	HE	HD	HE	HD
1	0,583	0,645	0,278	0,308
2	0,53	0,473	0,202	0,18
3	0,564	0,529	0,276	0,259
4	0,595	0,578	0,286	0,277
5	0,536	0,446	0,261	0,217
6	0,396	0,576	0,19	0,277
7	0,683	0,659	0,254	0,245
8	0,607	0,711	0,261	0,305
9	0,601	0,54	0,304	0,273
10	0,637	0,637	0,296	0,296
11	0,476	0,514	0,214	0,231
12	0,642	0,627	0,28	0,274
13	0,586	0,568	0,26	0,252
14	0,507	0,523	0,227	0,234
15	0,622	0,644	0,282	0,292

Apêndice F

Gráficos sem outlier

Apresentam-se de seguida (ver figura F.1) os gráficos correspondentes aos valores apresentados na tabela 6.1 correspondentes a valores de volumes não normalizados.

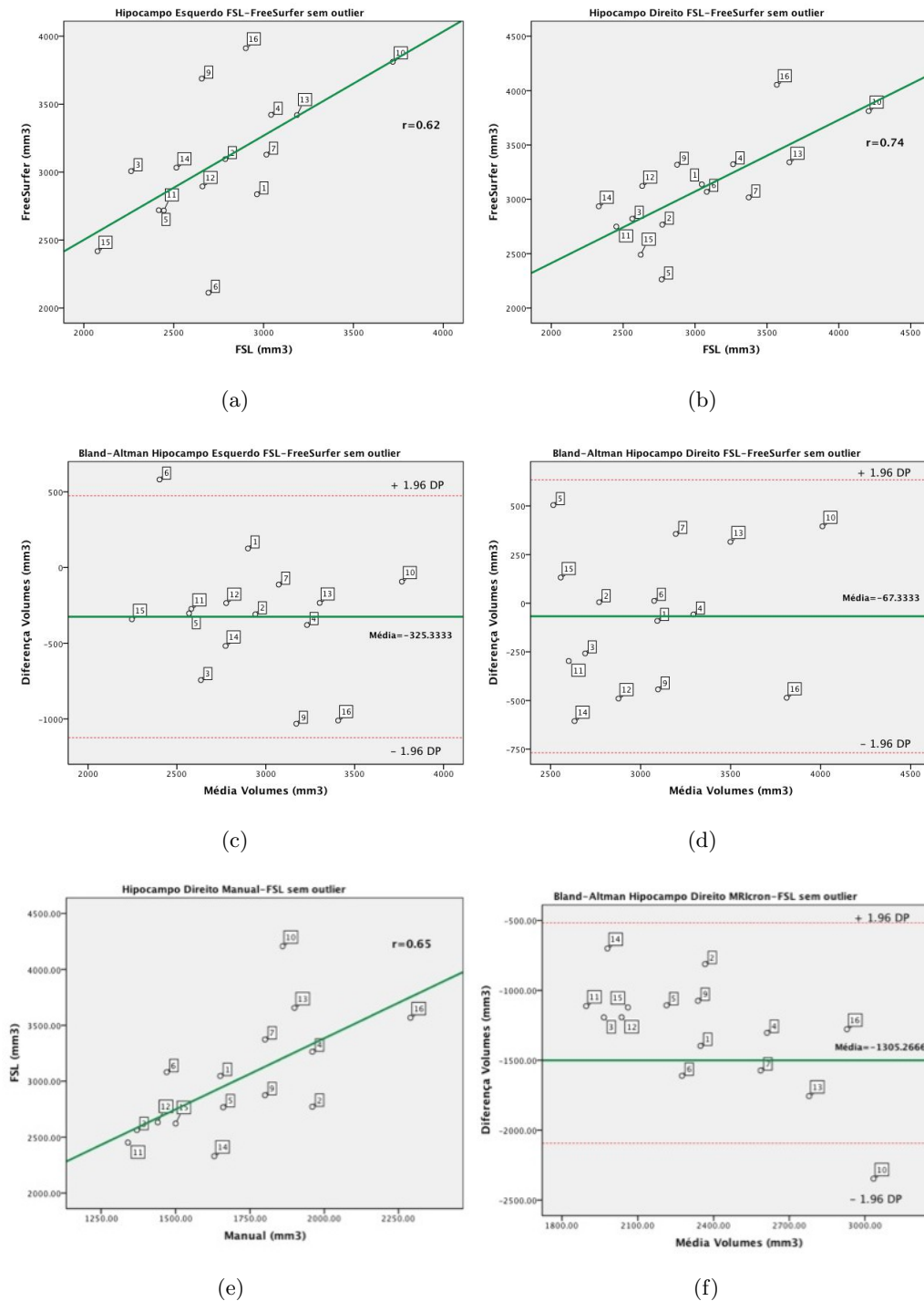


Figura F.1: Respetivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.1

Apresentam-se de seguida (ver figura F.2) os gráficos correspondentes aos valores apresentados nas tabela 6.2 correspondentes a valores de volumes normalizados obtidos, respectivamente pelo *FSL* e pelo *FreeSurfer* sem *outlier*.

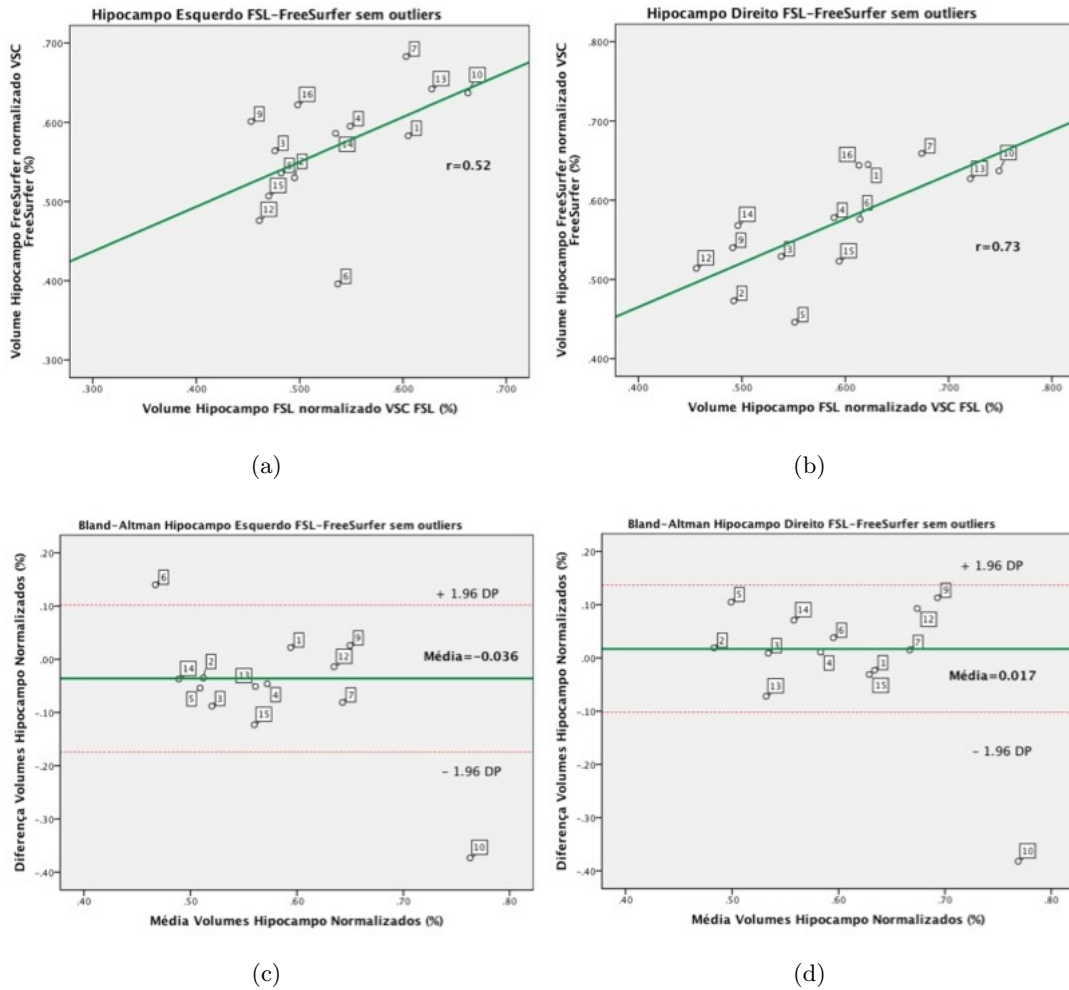


Figura F.2: Respetivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.2

Apresentam-se de seguida (ver figura F.3) os gráficos correspondentes aos valores apresentados nas tabela 6.3 correspondentes a volumes obtidos pela segmentação manual normalizados com o VSC obtido pela *FSL* e pelo *FreeSurfer*

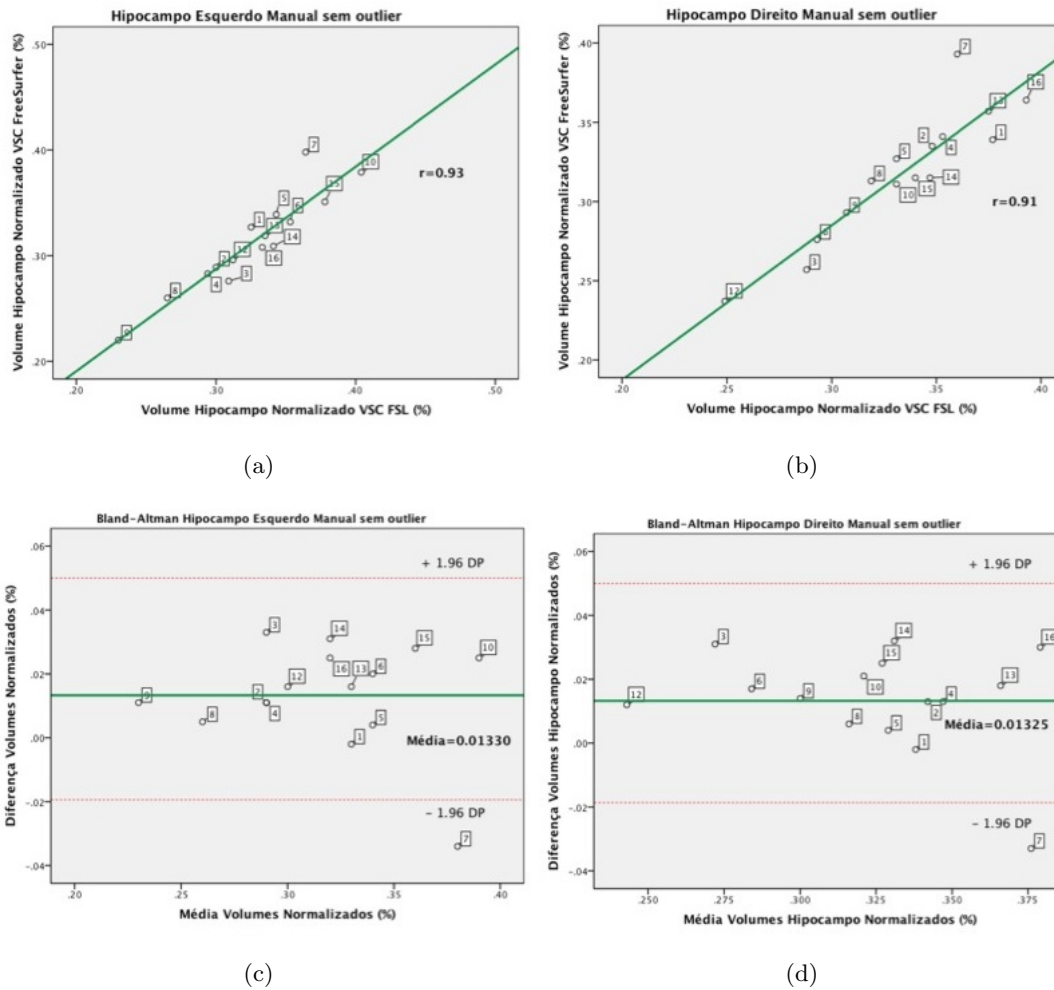


Figura F.3: Respetivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.2

Apresentam-se de seguida (ver figura F.4) os gráficos correspondentes aos valores apresentados na tabela 6.4 correspondentes a volumes obtidos pelo *FreeSurfer* normalizados com o VSC e com o volume total intracraniano (VTI) do *FreeSurfer*.

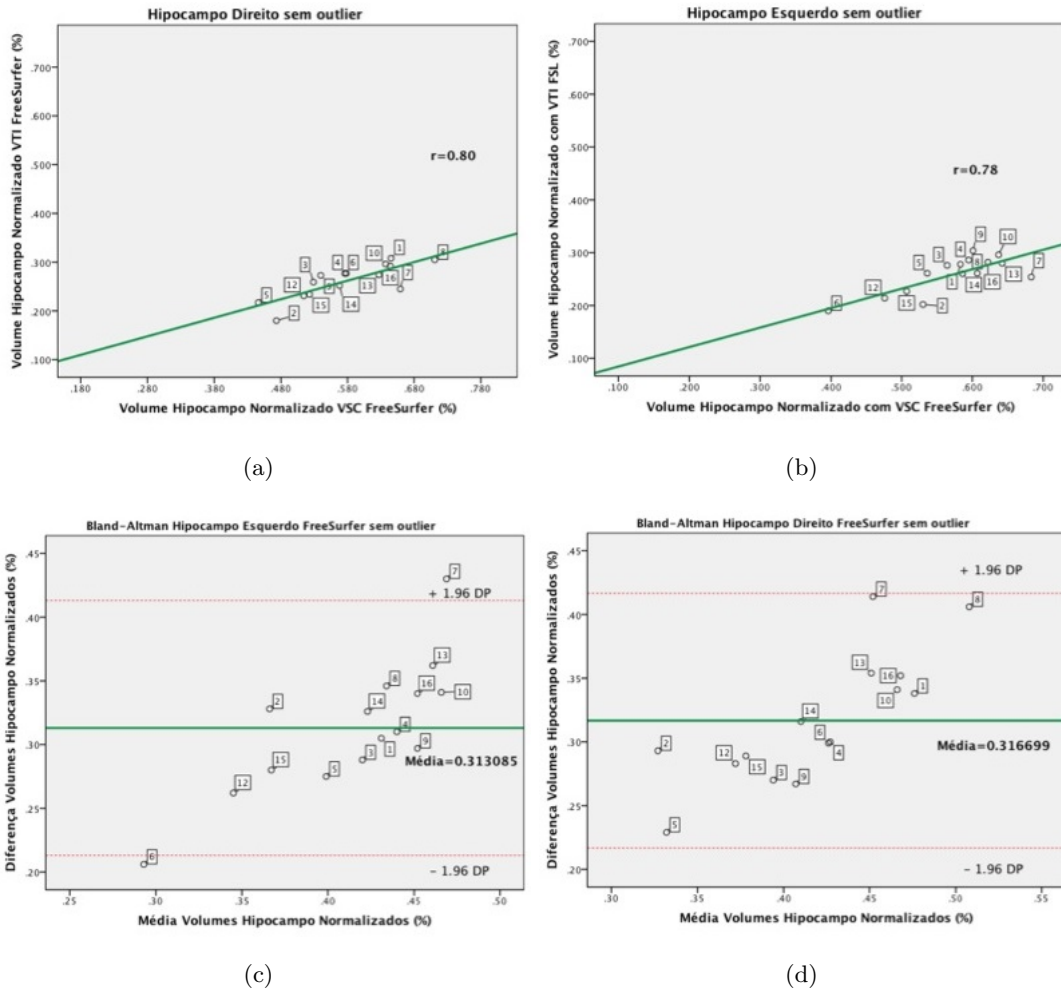


Figura F.4: Respetivos gráficos dos resultados apresentados na tabela 6.4

Apêndice G

Resultados dos volumes de hipocampo total obtidos pela segmentação manual

Apresentam-se de seguida (ver figura G.1 e figura G.2) os gráficos de correlação correspondentes aos valores de volume de hipocampo total obtidos pela segmentação manual.

Manual-FSL

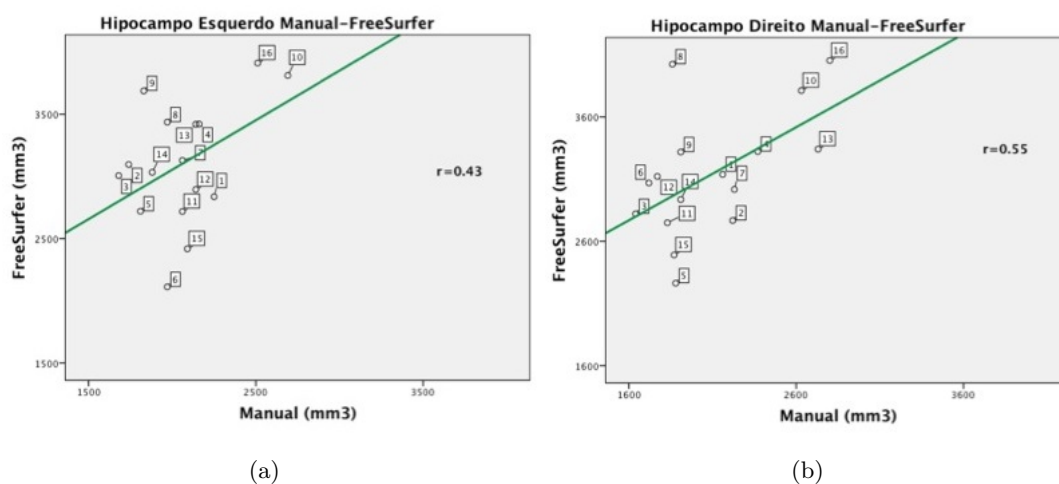


Figura G.1: Gráficos de correlação para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FSL e a segmentação manual.

Manual-FreeSurfer

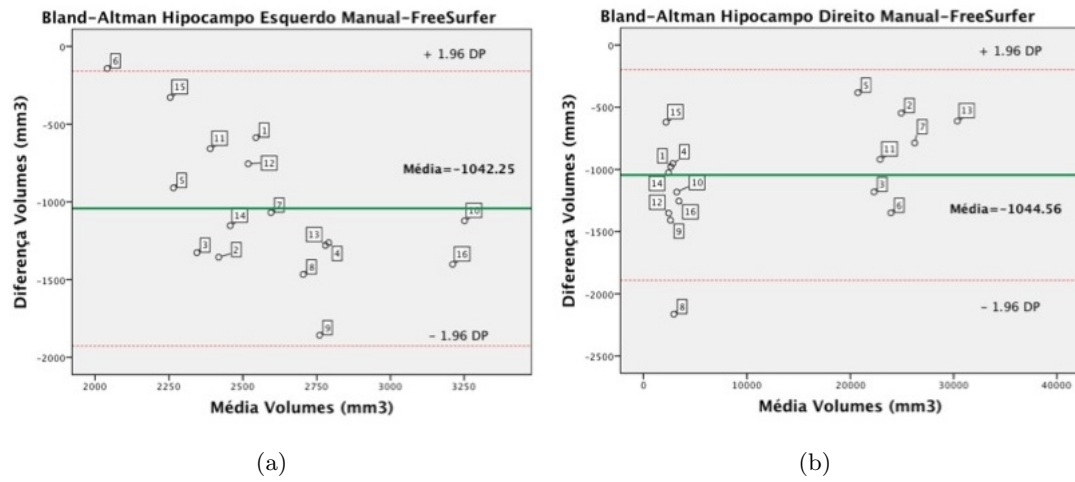


Figura G.2: Gráficos de correlação para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FreeSurfer e a segmentação manual.

Apresentam-se de seguida (ver figura G.3 e figura G.4) os gráficos de Bland-Altman correspondentes aos valores de volume de hipocampo total obtidos pela segmentação manual.

Manual-FSL

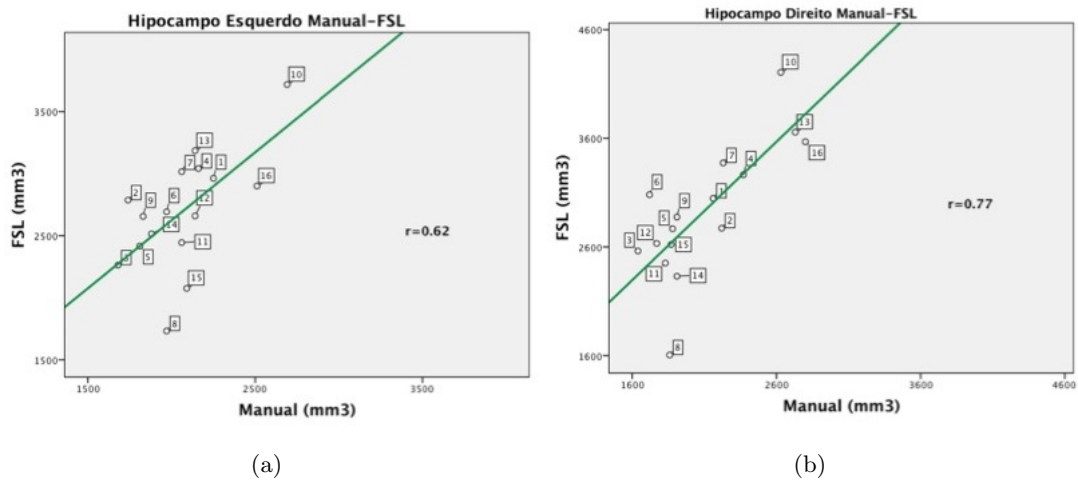


Figura G.3: Gráficos de Bland-Altman para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FSL e a segmentação manual.

Manual-FreeSurfer

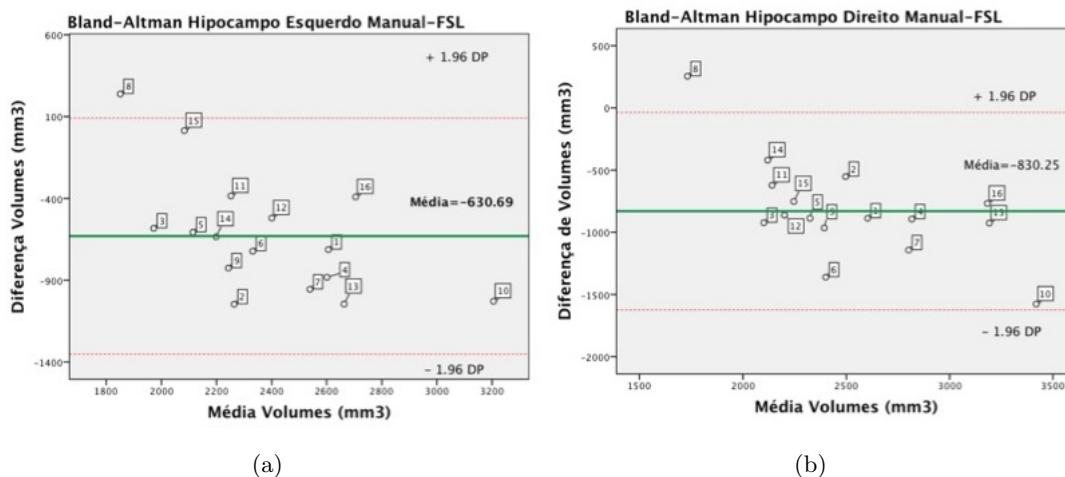


Figura G.4: Gráficos de Bland-Altman para os valores de volume de hipocampo esquerdo (a) e direito (b) entre o método automático - FreeSurfer e a segmentação manual.