



**Joana Vilar Lobato Ferreira**

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

## **Quantificação da Neuromelanina**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Biomédica

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Doutora Rita Nunes, FCUL

Co-orientadora: Mestre Sofia Reimão, Hospital de Santa Maria

Orientador de ligação: Prof. Doutor Mário Forjaz Secca, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Mário António Basto Forjaz Secca

Arguente: Prof<sup>a</sup>. Doutora Sónia Isabel Domingos Marreiros Gonçalves

Vogais: Prof<sup>a</sup>. Doutora Rita Gouveia Nunes

Mestre Sofia Cristina Pereira Coutinho Reimão



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Novembro 2013**



**Joana Vilar Lobato Ferreira**

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

## **Quantificação da Neuromelanina**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientadora: Rita Nunes, Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Co-orientadora: Sofia Reimão, Médica Neurorradiologista do Hospital de Santa Maria

Orientador de ligação: Mário Forjaz Secca, Professor Associado da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa  
Constituição do júri

Presidente: Doutor Mário António Basto Forjaz Secca, Professor Associado da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Arguente: Doutora Sónia Isabel Domingos Marreiros Gonçalves, Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Vogal: Doutora Rita Gouveia Nunes, Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Vogal: Mestre Sofia Cristina Pereira Coutinho Reimão, Médica Neurorradiologista do Hospital Santa Maria



## **Quantificação da Neuromelanina**

Copyright © Joana Vilar Lobato Ferreira, Faculdade de Ciências e Tecnologia,  
Universidade Nova de Lisboa.

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



*“Mesmo para um homem de ciência habituado a explicações racionais, é impensável que a realidade do mundo pare naquilo que possamos compreender”*

*Guillaume Musso*



# Agradecimentos

À Professora Rita Nunes, por ser a melhor orientadora que poderia desejar. A toda a sua disponibilidade, orientação, simpatia e serenidade.

À Dr<sup>a</sup> Sofia Reimão, por todas as sugestões dadas, mas principalmente por toda a sua dedicação em prol da ciência.

A todas as pessoas presentes no IBEB, com quem trabalhei directa ou indirectamente e que permitiram tornar os momentos de trabalho mais aprazíveis.

A todos os professores e funcionários com que me cruzei na FCT/UNL e um agradecimento especial a todos os colegas que aqui conheci e que depressa se tornaram bons amigos: à Sara e à Carolina, também companheiras de IBEB, à Inês, ao Ricardo, à Ana Catarina, à Diana, ao Rémi, ao André Queirós, ao André Morais, ao Gonçalo Mateus, ao João Carmo e ao Zé.

Aos meus amigos fora da faculdade, em particular à Maria e à Mafalda, por toda a amizade e companheirismo ao longo dos anos.

Ao Daniele, pela pessoa extraordinária que é. Por todo o seu carinho e tranquilidade.

E por fim, um agradecimento a toda à minha família. Ao meu pai, por tudo aquilo que tem sido, à minha irmã Sara, à minha mãe, ao meu avô Zeca, à minha avó Isabel, ao meu tio Rui, à minha tia Susana e ao João.



# Resumo

A Doença de Parkinson (DP) caracteriza-se por alterações na *substantia nigra pars compacta* (SNc), com perda do pigmento neuromelanina. Este pigmento tem propriedades paramagnéticas que resultam em alterações específicas em imagens de ressonância magnética (RM) ponderadas em  $T_1$ , permitindo a sua identificação *in vivo*.

Estudos recentes têm demonstrado que essas alterações são indicativas da progressão da doença, revestindo-se a sua detecção de particular importância para o diagnóstico clínico.

Por este motivo, foi desenvolvido um programa de análise de imagem para a quantificação semi-automática da neuromelanina, avaliando detalhadamente as dimensões (área e comprimento máximo) das estruturas onde este pigmento está presente. Foi efectuada a segmentação da *substantia nigra* (SN) a partir de imagens com ponderação em  $T_1$  de doentes parkinsónicos e voluntários saudáveis, adquiridas no âmbito de um estudo clínico mais alargado.

Verificou-se uma diminuição da área e comprimento da SN consoante a gravidade da doença e um aumento na assimetria das dimensões da SN, tal como expectável. No entanto, as comparações efectuadas entre os resultados obtidos e a avaliação clínica revelaram alguma discordância.

Foi também realizado um estudo em imagens simuladas com variação da relação sinal ruído (RSR) e de contraste a fim de avaliar a eficácia do algoritmo de segmentação e de filtragem e identificar os melhoramentos necessários a nível de aquisição.

Tendo em conta os resultados deste estudo e a avaliação dos valores de contraste e RSR das imagens analisadas seria importante, para estudos futuros, otimizar a sequência utilizada de modo melhorar estes valores. De forma a melhorar a quantificação da neuromelanina, seria ainda desejável testar outros algoritmos de filtragem e fazer um estudo mais exaustivo dos parâmetros de segmentação.

No que diz respeito ao estudo clínico, propõe-se igualmente aumentar a dimensão da amostra e realizar um estudo longitudinal. Seria ainda desejável comparar resultados da segmentação semi-automática com resultados da segmentação manual.

**Palavras-chave:** Doença de Parkinson, Neuromelanina, *Substantia nigra*, Ressonância magnética, Quantificação semi-automática

# Abstract

Parkinson's disease is characterized by changes in the *substantia nigra pars compacta* with loss of the pigment neuromelanin. This pigment has paramagnetic properties that result in specific changes on T1-weighted MR images, allowing its identification *in vivo*.

Recent studies have shown that these changes are indicative of disease progression and, for this reason, their detection is particularly important for medical diagnosis.

With this in mind, an imaging analysis software was developed to allow the semi-automatic quantification of neuromelanin and a detailed evaluation of the dimensions (area and maximum length) of the structures where this pigment is present. Segmentation of the *substantia nigra* (SN) was performed using T<sub>1</sub>-weighted images of parkinsonic patients and healthy volunteers, acquired within a larger clinical study.

There was a decrease in the area and length of SN depending on the severity of the disease and an increased asymmetry of the SN size as expected. However, comparisons between the segmentation results and the clinical evaluation of the patients revealed some disagreement.

A simulation study was also performed considering variable signal to noise ratio (SNR) and contrast in order to evaluate the effectiveness of the segmentation and filtering algorithms and identify future necessary improvements in terms of acquisition.

According to the results of this study and the evaluation of the values of contrast and SNR of acquired images, it would be important for future studies to further optimize the used sequence so as to improve these values. In order to improve the quantification of neuromelanin, it would also be desirable to test other filtering algorithms and further evaluate the segmentation parameters.

Regarding the clinical study, an increase in the sample size and a longitudinal study are also proposed. Additionally, it would be desirable in the future to compare semi-automatic and manual segmentation results.

**Keywords:** Parkinson's disease, Neuromelanin, *Substantia nigra*, Magnetic resonance imaging, Semi-automatic quantification

# Conteúdo

<b>CONTEÚDO .....</b>	<b>XIII</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>XV</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>XVII</b>
<b>SIGLAS E ACRÓNIMOS .....</b>	<b>XIX</b>
<b>LISTA DE SÍMBOLOS.....</b>	<b>XXI</b>
<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 ENQUADRAMENTO E ESTADO DA ARTE.....	1
1.2 ESTRUTURA DA TESE.....	3
<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>5</b>
2.1 A NEUROMELANINA E A SUA RELAÇÃO COM A DP .....	5
2.1.1 Anatomia do sistema nervoso central.....	5
2.1.2 A neuromelanina .....	6
2.1.3 A doença de Parkinson.....	7
2.2 IMAGEM POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA .....	9
2.2.1 Princípios físicos da RM.....	9
2.2.2 A importância do diagnóstico por RM.....	13
2.3 SEGMENTAÇÃO.....	15
<b>ANÁLISE IN VIVO.....</b>	<b>19</b>
3.1 METODOLOGIA.....	19
3.1.1 Casos clínicos .....	19
3.1.2 Aquisição de imagens .....	20

3.1.3 Análise de imagem – Elaboração do programa “Quantificação da neuromelanina” .....	21
3.1.4 Análise estatística .....	27
3.2 RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	28
3.2.1 Optimização do algoritmo .....	29
3.2.2 Quantificação da SN .....	31
3.3 DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	37
<b>ANÁLISE DE IMAGENS SINTÉTICAS.....</b>	<b>39</b>
4.1 METODOLOGIA.....	39
4.2 RESULTADOS EXPERIMENTAIS.....	41
4.3 DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	43
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>47</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>49</b>
<b>APÊNDICE A .....</b>	<b>55</b>
<b>APÊNDICE B .....</b>	<b>57</b>
<b>APÊNDICE C .....</b>	<b>59</b>

# Lista de Figuras

<b>Figura 2.1:</b> Esquema do sistema nervoso central.....	5
<b>Figura 2.2:</b> Núcleos existentes no mesencéfalo .....	6
<b>Figura 2.3:</b> Divisão das três regiões da SN: rostral, média e caudal.....	6
<b>Figura 2.4 a) e b):</b> Degeneração da neuromelanina e consequente redução da SN no caso de DP.....	7
<b>Figura 2.5:</b> Redução dos níveis de dopamina no caso de neurónios afectados pela DP.....	7
<b>Figura 2.6:</b> Corte axial do cérebro de um indivíduo do grupo de controlo – a) - e de um paciente em estado terminal –b) .....	14
<b>Figura 2.7:</b> Esquema relativo à classificação possível dos métodos de segmentação .....	15
<b>Figura 3.1:</b> Aspecto geral da interface gráfica “Quantificação da Neuromelanina”.....	22
<b>Figura 3.2:</b> Aplicação do filtro Edge preserving smoothing.....	23
<b>Figura 3.3:</b> Resultado final da segmentação sem a aplicação do filtro.....	24
<b>Figura 3.4:</b> Escolha do valor de limiar .....	26
<b>Figura 3.5:</b> Exemplo do resultado final de segmentação de um paciente com DP .....	27
<b>Figura 3.6:</b> Resultado da segmentação obtida no caso do paciente de ID 30 ...	29
<b>Figura 3.7:</b> Resultados obtidos a partir da aplicação do filtro com 1 a 3 iterações .....	30
<b>Figura 3.8:</b> Resultados da segmentação obtidos a partir de limiares de 1%, 3.5% e 5%, respectivamente .....	31
<b>Figura 3.9:</b> Diagrama de caixa dos valores da área da SN em função dos grupos em estudo.....	31
<b>Figura 3.10:</b> Diagrama de caixa dos valores do comprimento da SN em função dos grupos em estudo.....	32

<b>Figura 3.11:</b> Gráfico que traduz a assimetria das medidas entre os lados direito e esquerdo em função dos grupos em estudo.....	34
<b>Figura 3.12:</b> Gráfico que traduz a relação entre o índice de gravidade UPDRS com a assimetria da SN.....	36
<b>Figura 4.1:</b> Imagens com níveis de contraste 10% e RSR 10, contraste 50% e RSR de 30 e contraste 110% e RSR de 50, respectivamente.....	41
<b>Figura 4.2:</b> Imagens filtradas com níveis de contraste 10% e RSR de 10, contraste 50% e RSR de 30 e contraste 110% e RSR de 50, respectivamente....	41
<b>Figura 4.3:</b> Gráfico das percentagens de erro para cada nível de contraste e RSR comparativamente à imagem com RSR de 50 e contraste de 110%, no caso de não ser aplicado o filtro.....	42
<b>Figura 4.4:</b> Gráfico das percentagens de erro para cada nível de contraste e RSR comparativamente à imagem com RSR de 50 e contraste de 110%, no caso de imagens filtradas .....	42

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 3.1:</b> Parâmetros utilizados na aquisição das imagens por RM.....	20
<b>Tabela 3.2:</b> Valores médios da área e comprimento da SN para os três grupos em estudo.....	32
<b>Tabela 3.3:</b> Índice de correlação e respectivo valor p, entre o nível de gravidade de UPDRS e as dimensões da SN.....	35
<b>Tabela 3.4:</b> Índice de correlação e respectivo valor p entre o nível de gravidade de UPDRS e a assimetria da SN.....	36
<b>Tabela 4.1:</b> Valores da RSR e do contraste de seis imagens.....	43



## Siglas e Acrónimos

DP	<i>Doença de Parkinson</i>
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i>
FID	<i>Free Induction Decay</i>
FOV	<i>Field of View</i>
FSE	<i>Fast Spin Echo</i>
HSM	<i>Hospital de Santa Maria</i>
IRM	<i>Imagem por Ressonância Magnética</i>
MRI	<i>Magnetic Resonance Imaging</i>
RF	<i>Rádio-frequência</i>
RM	<i>Ressonância Magnética</i>
RSR	<i>Relação sinal ruído</i>
ROI	<i>Region of Interest</i>
SN	<i>Substantia Nigra</i>
SNc	<i>Substantia Nigra pars compacta</i>
SNr	<i>Substantia Nigra pars reticularis</i>
TE	<i>Tempo de Eco</i>
TI	<i>Tempo de Inversão</i>
TR	<i>Tempo de Repetição</i>
UPDRS	<i>Unified Parkinson's Disease Rating Scale</i>



# Lista de símbolos

$\mu$	<i>Momento magnético</i>
$\gamma$	<i>Razão giromagnética</i>
$J$	<i>Momento angular do próton</i>
$B_0$	<i>Campo magnético externo</i>
$\omega_0$	<i>Frequência de Larmor</i>
$M$	<i>Vector magnetização</i>



# 1

## Introdução

### ***1.1 Enquadramento e Estado da Arte***

A doença de Parkinson (DP) é a segunda doença neurodegenerativa mais frequente <sup>[1]</sup>, sendo progressiva e crónica.

Esta é caracterizada pelo aparecimento de alterações motoras, devido à perda de neurónios produtores de dopamina na *substantia nigra pars compacta* (SNc) <sup>[1-13]</sup>. Estes neurónios contêm um pigmento escuro, conhecido como neuromelanina <sup>[1, 2, 4, 5, 10-13]</sup> e sabe-se que as suas propriedades paramagnéticas provocam um aumento de sinal em imagens obtidas por sequências de ressonância magnética (RM), ponderadas no tempo de relaxação  $T_1$  <sup>[1, 5, 7-10, 12, 13]</sup>.

Na verdade, a imagem médica e em particular a RM são áreas de investigação em desenvolvimento nos últimos anos e um dos melhores exemplos de como a engenharia, a física e a medicina podem trabalhar em conjunto em prol da evolução da ciência. De facto, na medicina, esta é uma técnica de diagnóstico não-invasiva e bastante segura, já que não utiliza radiações ionizantes. É também uma das técnicas de diagnóstico mais precisa, pois apresenta imagens com grande resolução e contraste.

## 1.1 Enquadramento e Estado da Arte

Assim, e tendo conhecimento da importância do diagnóstico médico, principalmente num estágio inicial da doença, inúmeros estudos têm sido feitos com o intuito de investigar alterações nas dimensões da zona hiperintensa de imagens ponderadas em  $T_1$ , correspondendo à *substantia nigra* (SN).

Nas imagens por RM é difícil fazer a distinção entre a SNc e outras porções da estrutura; como tal, ao longo do trabalho, considerou-se simplesmente a sua porção global, referida como SN.

É então expectável que haja uma diminuição da intensidade de sinal e consequentemente da área/volume <sup>[4, 6, 9, 12]</sup> da SN em doentes afectados pela DP relativamente a grupos de controlo, constituídos por voluntários saudáveis. É também expectável que a redução seja ainda mais pronunciada num estágio avançado da doença <sup>[9]</sup> e contra lateral ao lado clinicamente mais afectado do paciente <sup>[8, 14]</sup>. Caso estas hipóteses se confirmem, o estudo de alteração das dimensões da SN poderia não só melhorar o diagnóstico, mas também auxiliar na monitorização da evolução clínica da doença e na compreensão dos mecanismos envolvidos através do estudo dos efeitos terapêuticos <sup>[15]</sup>.

A presente dissertação, em colaboração com o Hospital de Santa Maria de Lisboa (HSM), procurou dar resposta à necessidade de um programa de análise de imagem, que permitisse a quantificação das dimensões da SN de um modo semi-automático, com vista a investigar o seu potencial para auxílio no diagnóstico médico.

Quando se iniciou este trabalho, a quantificação deste pigmento era feita no HSM através da marcação manual da SN. Sabe-se que este tipo de marcação comporta inúmeras limitações, tais como a subjectividade dos resultados e

o tempo total necessário <sup>[16]</sup>. Por isso crê-se que um programa capaz de realizar uma segmentação semi-automática permitirá obter resultados mais robustos e numa duração total mais reduzida.

Deste modo, o primordial objectivo deste projecto foi a realização de um programa, em ambiente Matlab, com uma interface gráfica intuitiva, que permitisse a quantificação da área e do comprimento da SN. O programa foi testado num conjunto de dados adquiridos em sujeitos saudáveis e afectados pela DP. O objectivo foi testar alterações métricas da SN tendo em conta a presença de DP e também consoante a sua evolução.

Foi também realizado um estudo em imagens simuladas com variação de valores da RSR e de contraste, a fim de avaliar a eficácia do algoritmo de segmentação. Os resultados obtidos permitirão ditar os melhoramentos necessários a nível de aquisição, com vista a tornar mais robustas futuras análises efectuadas *in vivo*.

## **1.2 Estrutura da Tese**

A presente dissertação de mestrado encontra-se organizada em cinco capítulos.

Após uma breve introdução serão apresentados, no Capítulo 2, os fundamentos teóricos relativos a todo o projecto: a relação da neuromelanina com a DP, a imagem por RM e o processo de segmentação de imagem.

O Capítulo 3 será dedicado à análise realizada *in vivo* relativamente às imagens adquiridas por RM. O subcapítulo 3.1 refere-se à metodologia usada na realização deste trabalho, passando pela aquisição de imagens e pela realização do programa de análise de imagem; o subcapítulo 3.2 foca os resultados

## 1.2 Estrutura da Tese

obtidos no processo de optimização do algoritmo e na segmentação das imagens, bem como uma análise estatística dos dados e, por fim, no subcapítulo 3.3 serão apresentadas as conclusões relativas ao trabalho efectuado.

No Capítulo 4 é descrita a análise de imagens criadas sinteticamente, com o objectivo de testar a eficácia do algoritmo de segmentação, de modo a guiar futuros melhoramentos do protocolo de RM utilizado. A sua estrutura segue a estrutura do capítulo anterior.

No Capítulo 5 são apresentadas as conclusões finais deste trabalho e discutidos alguns aspectos para investigação futura.

# 2

## Revisão Bibliográfica

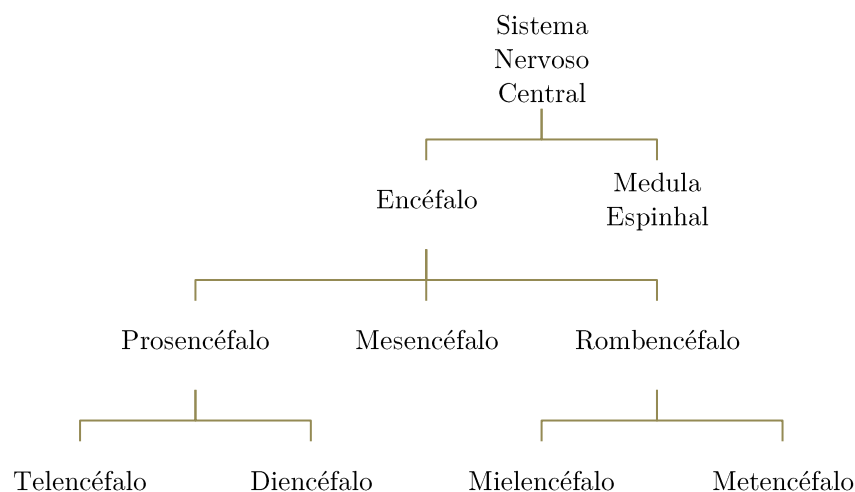
### ***2.1 A neuromelanina e a sua relação com a DP***

#### **2.1.1 Anatomia do sistema nervoso central**

O sistema nervoso humano tem como principal função a coordenação dos processos que garantem a homeostasia do organismo.

Este sistema é constituído pelos seguintes subsistemas: sistema nervoso central, sistema nervoso periférico e sistema nervoso autónomo.

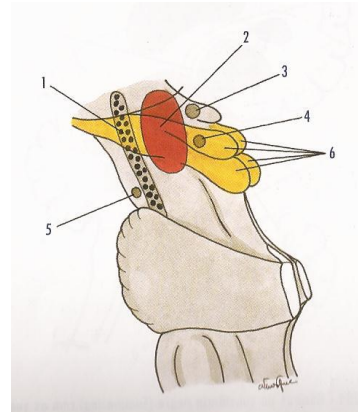
O sistema nervoso central (Figura 2.1) desempenha tarefas associadas ao processamento e coordenação das informações. Efectivamente é o local mais importante de processamento de informação e é responsável também por processos mentais, como as emoções e ideias e pela sua integração.



**Figura 2.1:**Esquema do sistema nervoso central. Adaptado de [17].

## 2.1 A neuromelanina e a sua relação com a DP

A SN é um dos núcleos existentes no mesencéfalo, bem como o núcleo rubro, o núcleo da comissura posterior, o núcleo intersticial, o núcleo interpeduncular e os colículos (Figura 2.2) [17].



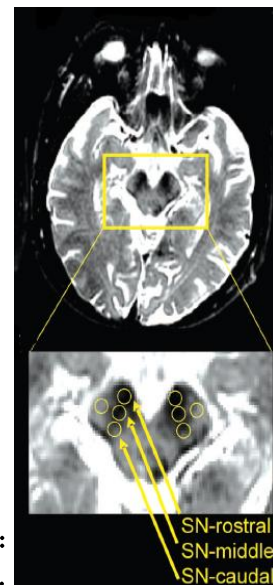
**Figura 2.2:** Núcleos existentes no mesencéfalo -1) *Substantia nigra* 2) Núcleo rubro 3) Núcleo da comissura posterior 4) Núcleo intersticial 5) Núcleo interpeduncular 6) Colículos. Adaptado de [17].

### 2.1.2 A neuromelanina

A SN apresenta uma convexidade anterior e uma concavidade posterior e é constituída por uma parte compacta (SNc), muito escura por ser rica no pigmento neuromelanina (molécula com dimensões  $0.5 - 2.5\mu\text{m}$ ) [5] e uma parte reticular (*substantia nigra pars reticularis* -SNr), com cor avermelhada e rica em ferro.

A SN pode também ser sub-dividida em segmentos rostral, média e caudal (Figura 2.3).

Pensa-se que a neuromelanina desempenha um papel importante na homeostase intraneural. Este pigmento tem também propriedades paramagnéticas resultando num aumento de sinal em imagens específicas de RM ponderadas no tempo de relaxação  $T_1$  [5, 9, 10, 13].



**Figura 2.3:** Divisão das três regiões da SN: rostral, média e caudal. Adaptado de [18].

### 2.1.3 A doença de Parkinson

A DP caracteriza-se pela progressiva perda de neurónios produtores de dopamina na SNc (Figura 2.4 a) e 2.4 b)) [2-13].

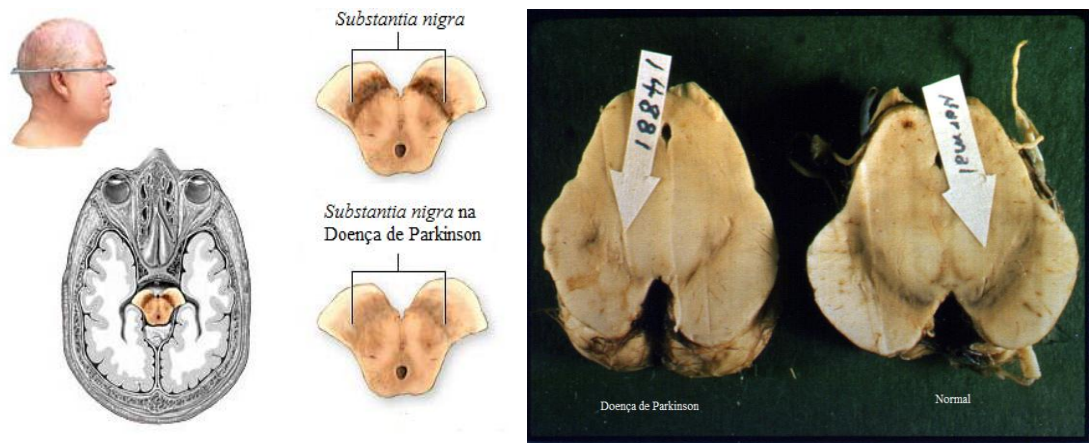


Figura 2.4 a) e 2.4 b): Degeneração da neuromelanina e consequente redução da SN no caso de DP. Adaptado de [19] e [20].

A produção de dopamina por parte destes neurónios é responsável pela transmissão de mensagens entre diversas áreas do cérebro que controlam movimentos corporais, humor, mecanismos de cognição, memória e sono.

Quando estes neurónios se deterioram, são produzidos níveis anormalmente baixos de dopamina, o que dificulta o controlo da tensão muscular e dos movimentos (Figura 2.5).

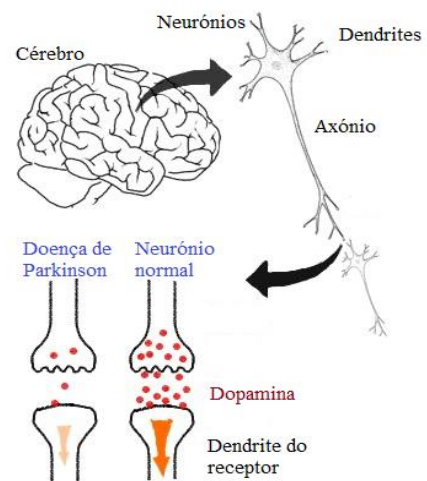


Figura 2.5: Redução dos níveis de dopamina no caso de neurónios afectados pela DP. Adaptado de [21].

## 2.1 A neuromelanina e a sua relação com a DP

A causa da degeneração das células nervosas e consequente redução da dopamina ainda não é conhecida<sup>[1]</sup>.

Os principais sintomas da DP são lentidão e diminuição dos movimentos (bradicinesia), rigidez corporal, tremor em repouso, desequilíbrio e alterações da marcha, fala e da escrita<sup>[3, 22]</sup>.

A DP é a segunda doença neurológica mais comum<sup>[1]</sup>: calcula-se que surjam, em cada ano, em Portugal, 1000 a 2000 novos casos<sup>[3, 22]</sup>.

Considera-se que a idade do paciente é o maior factor de risco, sendo que a idade média do aparecimento dos primeiros sintomas é 60 anos de idade. A predisposição genética é também outro factor de risco relevante<sup>[3]</sup>.

É uma doença progressiva e crónica (já que nenhum tratamento existente é capaz de impedir a degeneração de neurónios produtores de dopamina ou noradrenalina)<sup>[22]</sup>; no entanto existe medicação baseada no precursor da dopamina (L-dopa), que permite aumentar os níveis de dopamina no cérebro ou imitar os seus efeitos, melhorando assim a qualidade de vida dos pacientes.

Estudos demonstram que a maioria dos erros no diagnóstico ocorre em estádios iniciais da doença<sup>[23]</sup>, sendo que actualmente o diagnóstico se baseia simplesmente em critérios clínicos.

De forma a quantificar e monitorizar a gravidade da doença existe uma escala, globalmente utilizada, UPDRS (*Unified Parkinson's Disease Rating Scale*), que avalia várias componentes: actividade mental, comportamento e humor (Parte I); actividades do dia-a-dia (Parte II); exame motor (Parte III); outras complicações (Parte IV). É atribuído um valor para cada componente e no fim é calculado um valor total que reflecte a gravidade da doença.

Assim, considera-se que a existência de técnicas de neuroimagem *in vivo*

se reveste de particular importância <sup>[4]</sup>, nomeadamente técnicas não invasivas para aquisição de imagens do tronco cerebral, a fim de haver uma maior e mais robusta monitorização da progressão da doença <sup>[1, 9]</sup>.

## **2.2 Imagem por Ressonância Magnética**

### **2.2.1 Princípios físicos da RM**

Na RM, a imagem resulta da interacção da energia com a matéria, mais precisamente da interacção entre ondas electromagnéticas de radiofrequência e núcleos atómicos da amostra <sup>[17]</sup>. Deste modo, é possível afirmar que os princípios físicos desta técnica se baseiam no comportamento dos spins nucleares ou magnetismo nuclear da amostra.

Um núcleo pode ser discriminado na RM se tem momento magnético. O momento magnético é a grandeza vectorial que representa a intensidade e a orientação do dipólo magnético – Equação 2.1:

$$\mu = \gamma J \quad \text{Equação 2.1}$$

onde  $\mu$  é o momento magnético;  $\gamma$ , a razão giromagnética e  $J$  o momento angular do protão.

O núcleo de hidrogénio é aquele que possui maior momento magnético (já que consiste num só protão com uma alta razão giromagnética). A sua sensibilidade e abundância nos tecidos biológicos fazem deste o mais requisitado para a aquisição de imagens pela RM.

Quando os spins magnéticos (do Hidrogénio:  $+\frac{1}{2}, -\frac{1}{2}$ ) não estão sujeitos a um campo magnético externo, a orientação do eixo de precessão do spin é aleatória e assim a magnetização total do sistema é nula (a precessão é no fundo o processo de rotação do spin sobre ele próprio).

Contudo, na presença de um campo magnético externo  $B_0$ , os spins pas-

## 2.2 Imagem por Ressonância Magnética

sam a rodar em torno do eixo do campo, nas direcções paralela (estado de energia mais baixo: spin  $+1/2$ ) ou anti-paralela (estado de mais alta energia: spin  $-1/2$ ). Nestas condições, a magnetização total deixa de ser nula e passa a ter a direcção do campo (componente segundo z), devido à diferença de ocupação dos dois estados de energia.

Assim, os momentos magnéticos realizam um movimento de precessão em torno do campo  $B_0$  a uma dada frequência, característica deste campo: frequência de Larmor (ou de precessão), como explicitado matematicamente na Equação 2.2:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad \text{Equação 2.2}$$

onde  $\gamma$  é a razão giromagnética e  $B_0$ , o campo magnético externo.

A frequência é proporcional ao campo aplicado e depende do núcleo utilizado, sendo que corresponde à gama das rádio-frequências (RF). Aplicando um impulso de RF, com a frequência de Larmor, é possível originar a transição dos núcleos para um estado superior de energia e o vector magnetização passa a girar em torno do eixo do campo magnético resultante (combinação de  $B_0$  com  $B_1$  correspondente ao impulso de RF), desalinhando-se do campo externo  $B_0$ . Assim se dá o fenómeno de ressonância.

O ângulo de nutação que o vector magnetização (M) faz com o campo magnético estático  $B_0$  é proporcional à amplitude e duração do impulso e, assim, o vector magnetização (M) passa a apresentar componentes longitudinal e transversal.

Após este impulso de excitação, os spins voltam ao seu estado inicial, correspondente à magnetização em equilíbrio  $M_0$ , (processo de relaxação), gerando

um sinal de decaimento livre de indução (função exponencial) – FID: *Free Induction Decay*.

No estado de equilíbrio, o vector de magnetização tem a mesma direcção que o campo magnético estático e não existe nenhuma componente de magnetização transversal (a componente de magnetização no eixo z –  $M_z$  – é equivalente a  $M_0$ ).

Em termos de relaxação, o sinal expressa-se de modo diferente consoante reflecte predominantemente a troca de energia dos protões com o meio circundante (relaxação longitudinal, caracterizada pela constante  $T_1$ ), ou se traduz a maior ou menor dispersão da frequência de Larmor de diferentes protões (relaxação transversal, descrita por  $T_2$ ) <sup>[17]</sup>.

No âmbito do trabalho, apenas se irá abordar a relaxação longitudinal. Após a aplicação de um impulso RF de 90°, não existe componente longitudinal sendo a sua recuperação descrita pela fórmula matemática:  $M_z = M_0(1 - e^{-t/T_1})$ , onde  $T_1$  é o tempo de relaxação longitudinal ou spin/rede.

Em condições de relaxação (quando a magnetização volta lentamente ao estado inicial de equilíbrio, após a aplicação de um impulso de RF), a componente do vector magnetização ( $M_z$ ) aumenta exponencialmente, retornando ao seu valor de equilíbrio  $M_0$ , como descrito na equação acima.

O tempo de relaxação  $T_1$  é, no fundo, o tempo que a magnetização longitudinal demora a recuperar 63% do seu valor máximo.

A relaxação  $T_1$  é sempre mais lenta que  $T_2$  - que decai com bastante rapidez <sup>[4]</sup> - sendo  $T_1$  geralmente longo para líquidos, como por exemplo o líquido cefalorraquidiano, edemas ou inflamações. Assim, numa imagem ponderada em  $T_1$ , os líquidos aparecem hipointensos (escuras), uma vez que não há recu-

## 2.2 Imagem por Ressonância Magnética

peração total da magnetização longitudinal entre aplicações consecutivas de impulsos de excitação. Tecidos em que o  $T_1$  é curto, como a gordura, hemorragias subagudas e melanina, aparecerão como hiperintensos na imagem [24-26].

### Sequências de impulsos

Uma sequência de impulsos é a aplicação de um conjunto de impulsos de RF a fim de se produzir um resultado específico no sinal de RM [27].

A sequência spin-eco caracteriza-se primeiramente pela aplicação de um impulso de  $90^\circ$  que gera um sinal FID e posteriormente um de  $180^\circ$ , que cria um eco do sinal FID original. De referir ainda que a sequência spin-eco é das mais utilizadas e que pode ser utilizada para obtenção de imagens ponderadas em  $T_1$ ,  $T_2$  ou densidade protónica.

Para ponderação em  $T_1$ , numa sequência spin-eco são utilizados TR e TE curtos (em que TR é o tempo de repetição – tempo entre dois impulsos de RF de  $90^\circ$  - e TE é o tempo de eco – tempo entre a aplicação do impulso inicial de  $90^\circ$  e o eco) [6]. Esta ponderação consiste na maximização da contribuição de  $T_1$  e na consequente minimização da contribuição de  $T_2$ , o que acontece quando TR e TE são curtos.

Outras sequências também utilizadas são o eco de gradiente e a recuperação de inversão. O eco de gradiente consiste na aplicação de apenas um impulso de excitação, com um ângulo de nutação menor que  $90^\circ$ . Na recuperação de inversão é aplicado inicialmente um impulso de  $180^\circ$  que inverte a magnetização longitudinal, evoluindo de acordo com o processo de relaxação longitudinal. Passado um intervalo de tempo TI (Tempo de Inversão), é aplicado um impulso de  $90^\circ$  e consequentemente dá-se o aparecimento de um FID e assim é possível obter-se a evolução temporal da magnetização longitudinal [27].

A sequência utilizada actualmente na aquisição das imagens em estudo, para quantificação da neuromelanina, é uma sequência FSE (*Fast Spin Echo*), ponderada em  $T_1$ . Este tipo de sequência é uma técnica rápida de aquisição de imagem através da sequência spin-eco (impulso de  $90^\circ$ , seguido da aplicação de múltiplos impulsos de  $180^\circ$ ). Uma vez que um único impulso de  $90^\circ$  permite obter inúmeros ecos, o tempo de aquisição torna-se mais reduzido <sup>[27]</sup>, sendo que uma sequência ponderada em  $T_1$  pode variar entre 30 segundos a 2 minutos <sup>[28]</sup>.

Podem existir inúmeras razões para se aplicar uma sequência de IRM rápida: a rapidez da aquisição determina o rendimento do paciente, no sentido em que a aceitação e adaptação ao exame aumentam com tempos de aquisição mais reduzidos. Tal poderá melhorar a qualidade de imagem, permitindo uma redução de artefactos de fluxo e de movimento <sup>[25]</sup>.

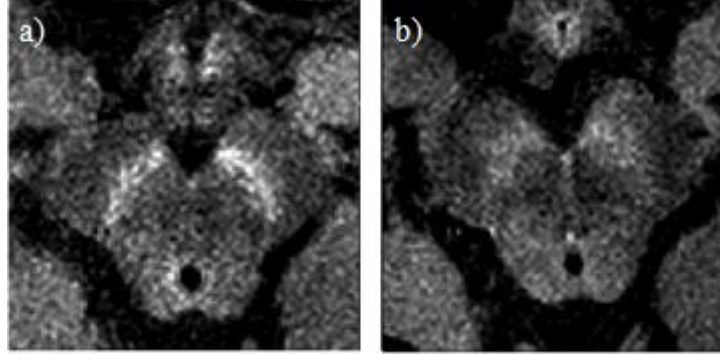
### 2.2.2 A importância do diagnóstico por RM

Dado que se comprovou existir uma relação directa entre a DP e a redução do pigmento neuromelanina e que o método de IRM é não-invasivo e rápido, inúmeros estudos têm sido feitos, a fim de investigar alterações neurológicas na DP *in vivo* <sup>[2, 23]</sup>.

Em todos os artigos científicos analisados, em que o objectivo foi a quantificação deste pigmento, foi utilizada a técnica de sequência FSE ponderada em  $T_1$ , sobretudo em aparelhos com campos magnéticos de 3T (baseando-se no trabalho efectuado por Sasaki *et al.* – 2006). Estes estudos demonstram que de facto é possível uma visualização directa da SN como área hiperintensa <sup>[11]</sup>, uma vez que o contraste aumenta consideravelmente devido à supressão de sinal do tecido cerebral envolvente (por ser uma imagem ponderada em  $T_1$ ) <sup>[10]</sup>. No caso de pacientes portadores da DP, o sinal da IRM diminui nestas zonas <sup>[2]</sup>.

## 2.3 Segmentação

4-6, 8-11, 13, 15, 23, 29]. Verifica-se também que essa redução é ainda mais pronunciada num estágio avançado da doença (Figura 2.6) <sup>[9]</sup> e que é sobretudo contra lateral ao lado clinicamente mais afectado do paciente <sup>[8, 14]</sup>.



**Figura 2.6:** Corte axial do cérebro de um indivíduo do grupo de controlo – a) – e de um paciente de DP em estado terminal – b). Para cada sujeito foi usada uma sequência de IRM sensível à concentração de neuromelanina, sendo possível verificar a clara redução da sua concentração para o doente comparativamente com o indivíduo do grupo de controlo. Adaptado de [9].

A sequência utilizada por Sasaki *et al.* apresenta os seguintes parâmetros: TR - 600 ms, TE - 14 ms, número de ecos adquiridos em cada TR - 2, campo de visão (FOV) - 220 mm, resolução da matriz - 512×320, espessura de corte - 2.5 mm, repetições adquiridas e combinada a fim de melhorar a RSR - 8 e um tempo de aquisição total de 12 minutos <sup>[13]</sup>. As sequências utilizadas nas restantes publicações estudadas, sendo baseadas nesta primeira, utilizam parâmetros com valores muito similares.

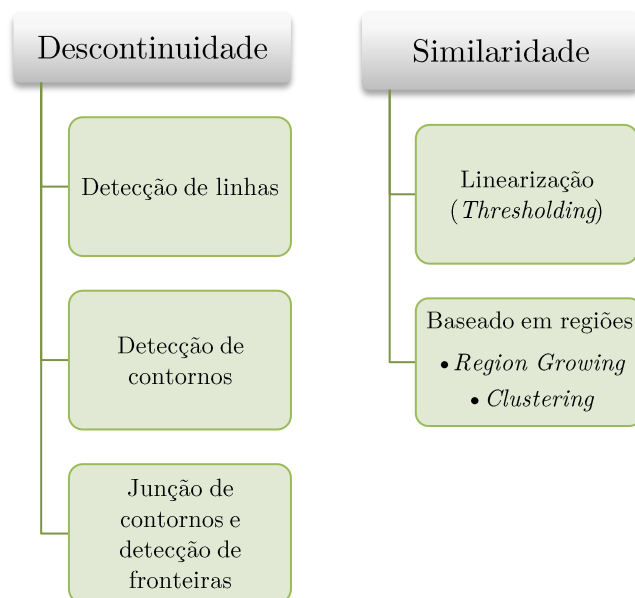
A principal limitação apresentada refere-se ao facto de o tempo de aquisição ser relativamente longo (aproximadamente 12 minutos para cada sequência) <sup>[5, 9]</sup>, dificultando a permanência do paciente numa posição estática aquando da realização do exame.

## 2.3 Segmentação

A segmentação é uma das principais técnicas de análise de imagem e tem como objectivo a partição da imagem em regiões ou objectos, segundo um determinado critério <sup>[30-32]</sup>. Na imagem médica desempenha um papel muito importante <sup>[33]</sup>, uma vez que permite o delineamento de estruturas anatómicas <sup>[16, 34]</sup>, quantificação de volumes, estudo e auxílio no diagnóstico de certas patologias e planeamento cirúrgico e do tratamento clínico <sup>[31]</sup>.

Os diversos métodos de segmentação podem seguir inúmeras classificações, mas é possível afirmar que seguem duas estratégias genéricas (Figura 2.7):

- Descontinuidade: a segmentação da imagem é realizada baseando-se em alterações bruscas de intensidade;
- Similaridade: a segmentação é baseada na similaridade entre píxeis, de acordo com um critério pré-definido <sup>[35]</sup>.



**Figura 2.7:** Esquema relativo à classificação possível dos métodos de segmentação. Adaptado de [35].

## 2.3 Segmentação

No âmbito deste trabalho, foi escolhido o tipo de segmentação por similaridade, concretamente a técnica *Region Growing* por ser a que melhor se adapta ao problema em questão: segmentar a região anatómica referente à SN. Assim, irá ser abordada com maior detalhe apenas esta técnica.

*Region growing*: é uma técnica fundamental de segmentação <sup>[36]</sup> que se baseia na hipótese de que píxeis vizinhos, dentro de uma dada região, têm valores de intensidade semelhantes. De um modo genérico, dá-se a agregação de vários píxeis a partir da marcação de um ou mais pontos “semente” (*seed points*). A partir deste conjunto de pontos, são agrupados píxeis com a mesma, ou com intensidade semelhante, segundo um critério de homogeneidade (nível de cinzento, cor, textura). É um processo em que cada pixel é incorporado na região até que se verifique um critério de paragem, que poderá ser, por exemplo, um valor limite (*threshold value*) <sup>[30, 31, 36-40]</sup>. Neste projecto, o valor limite escolhido foi um valor percentual da gama de intensidades da imagem.

A segmentação de uma imagem pode ainda ser feita de forma manual, semi-automática ou automática.

A segmentação manual consiste na partição da imagem através do delineamento manual de determinadas zonas ou regiões de interesse. Naturalmente, exige conhecimento anatómico prévio por parte do operador, o que pode ser considerado uma vantagem já que apresenta um maior grau de confiança na obtenção de estimativas de volume, comparativamente com as técnicas de segmentação automática.

No entanto, traz inúmeras desvantagens como dificuldade na selecção de características, tecidos e elementos ideais, a subjectividade dos resultados associada à marcação por parte do operador e o tempo total necessário <sup>[16]</sup>.

A segmentação a nível automático não necessita de qualquer contribuição por parte de um operador, sendo todo o processo realizado computacionalmente. Assim, a sua principal limitação é a falta de exactidão anatómica e o elevado tempo a nível computacional <sup>[16]</sup>, embora apresente resultados mais robustos do que a segmentação manual, principalmente por não apresentar um grau de subjectividade tão elevado.

Deste modo, é possível considerar que a segmentação semi-automática, por reunir algumas das características dos dois tipos de segmentação (automática e manual), já que requer algum conhecimento *à priori* da zona em estudo, mas não é tão dependente do utilizador, oferece um melhor compromisso, tendo-se, por isso, optado por utilizar este tipo de segmentação no âmbito do trabalho.



# 3

## **Análise *in vivo***

### **3.1 Metodologia**

#### **3.1.1 Casos clínicos**

A presente dissertação insere-se num projecto alargado de Doutoramento da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, intitulado “Ressonância Magnética com Tensores de Difusão na Doença de Parkinson e outros Síndromas Parkinsónicos”. Como tal, o diagnóstico da doença foi realizado de acordo com os critérios da *United Kingdom Brain Bank Criteria* (UKBBC), por um neurologista especialista em doenças do movimento e foram utilizados os seguintes critérios de selecção e exclusão no estudo:

Critérios de selecção: Relativamente ao grupo com diagnóstico inicial de DP (DP novo) os pacientes nunca tomaram medicação anti-parkinsónica; no segundo grupo de doentes com DP (DP 2 a 5) foram seleccionados aqueles com mais de 2 e menos de 5 anos de doença. No grupo de controlo foram seleccionados participantes sem doenças do movimento (avaliados por um neurologista) recrutados de forma voluntária e emparelhados quanto ao sexo e idade.

### 3.1 Metodologia

Critérios de exclusão: Existência de qualquer contra-indicação para a realização de RM em aparelho de elevado campo magnético (3T).

Do referido estudo foram utilizadas 32 imagens de indivíduos divididos em três grupos: 10 indivíduos no grupo de controlo (sujeitos saudáveis com idades compreendidas entre os 55 - 72 anos), 12 indivíduos no grupo de diagnóstico inicial de DP (sujeitos com idades entre os 52 - 82 anos, com um diagnóstico DP atribuído poucos meses antes do exame) e 10 indivíduos no grupo DP de 2 a 5 anos (sujeitos com idades entre os 56 - 78 anos, numa fase de DP mais avançada: o seu diagnóstico da doença foi obtido há mais de 2 anos).

#### 3.1.2 Aquisição de imagens

As imagens foram adquiridas no HSM – Lisboa e na Sociedade Portuguesa de Ressonância Magnética, em equipamentos de RM Achieva, Philips Medical Systems de 3T, com uma bobina de 32 canais.

Os parâmetros de aquisição da sequência FSE, ponderada em  $T_1$  ( $T_1$ -weighted) utilizada no estudo são apresentados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1: Parâmetros utilizados na aquisição das imagens por RM.

<i>Sequência</i>	<i>TE</i> (ms)	<i>TR</i> (ms)	<i>FOV</i> (mm)	<i>Matriz de</i> <i>Aquisição</i>	<i>Nº de</i> <i>cortes</i>	<i>Espessura</i> <i>de corte</i> (mm)	<i>Nº de</i> <i>Ecos</i>	<i>SENSE</i> (Factor de aceleração)	<i>Flip Angle</i> (°)
<b>FSE-<math>T_1</math>W</b>	10	600- 700	220	548×474	20	2.5	3	1.5	90

### 3.1.3 Análise de imagem – Elaboração do programa “Quantificação da neuromelanina”

O programa foi desenvolvido utilizando uma estação de trabalho Linux e o *software* Matlab disponíveis no IBEB.

Um dos principais pontos-chave para o sucesso de qualquer programa é a facilidade da sua utilização <sup>[41]</sup> e este sempre foi o primordial objectivo no desenvolvimento desta aplicação. Assim, o Matlab coloca à disposição do programador o GUIDE (*Graphical User Interface Design Environment*), ambiente de desenvolvimento de interfaces gráficas, cuja base é formada pela combinação *ficheiro-FIG/ficheiro-M* <sup>[41]</sup>, que facilita a elaboração deste tipo de programas. No âmbito do trabalho foram criadas duas interfaces gráficas.

Deste modo, realizou-se um programa que permitisse a quantificação semi-automática da SN, obtendo-se no final as suas medidas de área e comprimento.

A utilização do programa (Figura 3.1) inicia-se com a leitura de imagens de RM em formato DICOM, a partir do ficheiro DICOMDIR, sendo possível ter acesso a alguns dados do paciente, obtidos a partir do cabeçalho da imagem, tais como o seu ID, sexo, data de nascimento, peso, nome do protocolo e data de realização do exame. Uma vez abertas, o utilizador pode também aumentar ou diminuir o *zoom* das imagens para uma melhor avaliação visual; realizar ajustes no contraste (o que pode ser particularmente útil na marcação dos *seedpoints* aquando da segmentação) e ainda percorrer os vários cortes da imagem através de uma *slidebar*, que se encontra na parte inferior da janela de visualização da imagem.

Premindo o botão “Cortar imagem”, o utilizador pode seleccionar uma área com as dimensões que pretender e, assim, realizar apenas a segmentação

### 3.1 Metodologia

nessa área. É aconselhável seleccionar a área do mesencéfalo, depois de optar pelo corte em que a SN aparece mais nítida.

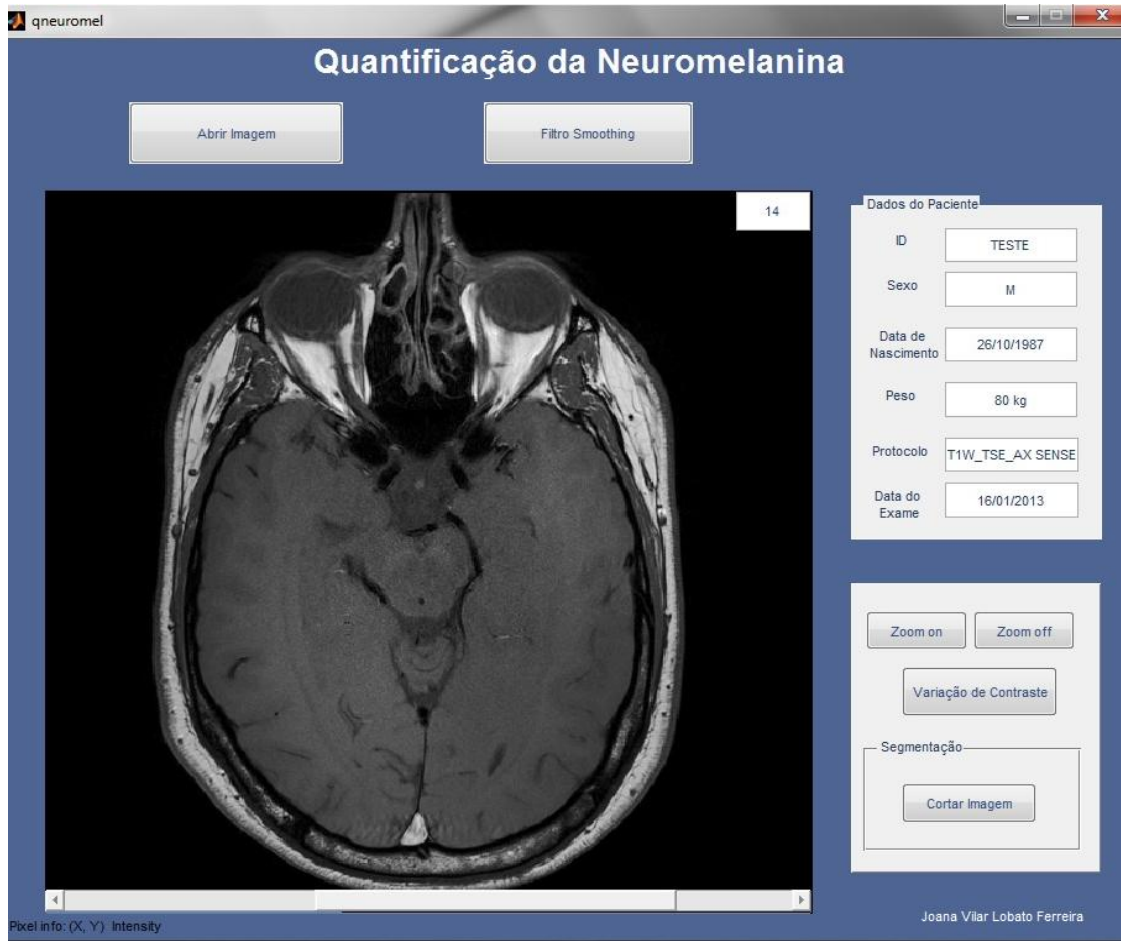


Figura 3.1: Aspecto geral da interface gráfica “Quantificação da Neuromelanina”.

#### 3.1.3.1 Pré-processamento de imagem – Filtragem

No processamento de imagens, as técnicas de filtragem têm como objectivo a redução do ruído e o aumento da RSR para a sua visualização, segmentação ou classificação [30].

Na maior parte da bibliografia consultada, sempre que se pretende realizar segmentação de uma estrutura anatómica, realiza-se uma filtragem com o intuito de reduzir o ruído da imagem. Muitos referem o tipo de filtro gaussia-

no, ou de média ponderada que permitem bons resultados na remoção de ruído, mas infelizmente a utilização deste tipo de filtros leva a alguma perda de informação, nomeadamente a nível de detalhes das fronteiras entre regiões com diferentes níveis de intensidade na imagem. Como tal, foi escolhida uma técnica de filtragem que preserva as fronteiras <sup>[42]</sup>, *Edge preserving smoothing*, para ser utilizada neste trabalho (Figura 3.2).

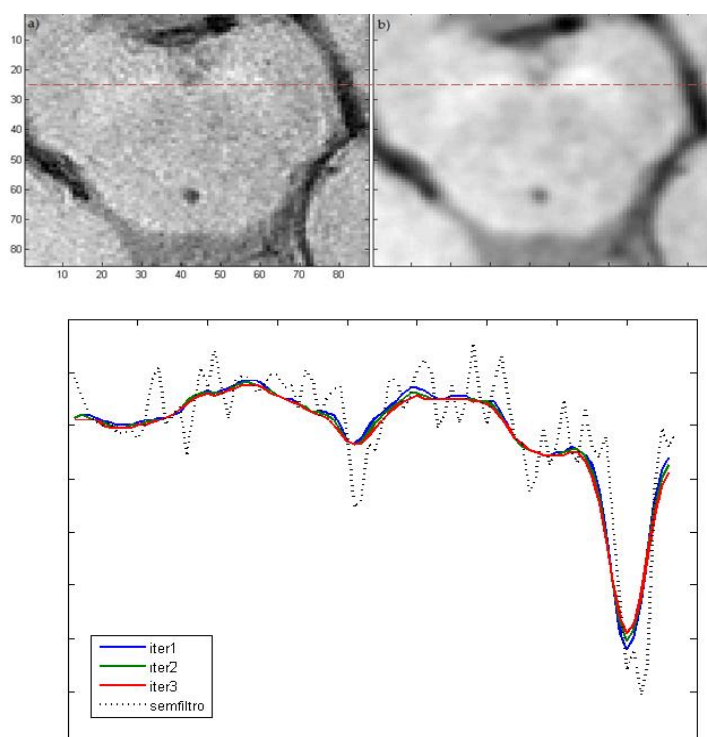


Figura 3.2: Aplicação do filtro *Edge preserving smoothing*.

a) Imagem inicial antes da aplicação do filtro b) Imagem resultante da sua aplicação e gráfico realizado em Matlab evidenciando as diferenças entre um perfil da imagem inicial, ao longo da linha assinalada a tracejado, após a aplicação do filtro (com 1 a 3 iterações) e sem a aplicação do mesmo.

Neste algoritmo são comparadas as intensidades de cada pixel e dos seus vizinhos mais próximos (imagem 2D). No processo de filtragem, a intensidade atribuída a esse pixel resulta de uma média ponderada das intensidades dos seus vizinhos, sendo a ponderação atribuída a cada pixel vizinho maior se a diferença entre as duas intensidades for reduzida e menor em caso contrário <sup>[42]</sup>.

### 3.1 Metodologia

O algoritmo de filtragem é aplicado de forma independente para cada pixel da imagem usando coeficientes de ponderação diferentes. Para o cálculo destes coeficientes, é calculada a distância ( $d_i$ ,  $i = 1, \dots, 8$ ), em termos de diferença de intensidade, entre o pixel central e os oito píxeis vizinhos, de acordo com a Equação 3.1:

$$d_i = \frac{|I_c - I_i|}{3 \times 255}, \quad 0 \leq d_i < 1 \quad \text{Equação 3.1}$$

onde  $I_c$  corresponde ao valor de intensidade do pixel central e  $I_i$  de cada um dos píxeis vizinhos.

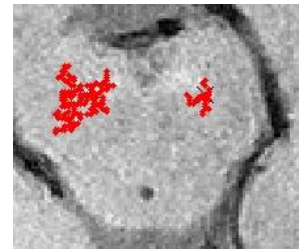
Posteriormente, são calculados os coeficientes de ponderação a utilizar na média ponderada, a partir da Equação 3.2:

$$c_i = (1 - d_i)^p, \quad p \geq 1 \quad \text{Equação 3.2}$$

sendo que  $p$  corresponde ao número de iterações utilizadas (que pode variar entre 1 e 10) [42].

Deste modo, relativamente à escolha do número de iterações a realizar pelo algoritmo, foi investigado o número de iterações necessárias na aplicação do filtro. Os resultados deste teste encontram-se no subcapítulo 3.2 - Resultados Experimentais.

Dada a baixa RSR das imagens processadas, é aconselhável a aplicação do filtro antes da realização da segmentação, como se pode verificar na Figura 3.3. Processo que foi realizado em todas as imagens avaliadas na análise de resultados (disponível ao clicar na tecla “Filtro Smoothing”).



**Figura 3.3: Resultado final da segmentação sem a aplicação do filtro.**

### 3.1.3.2 Segmentação semi-automática

O sistema de segmentação semi-automática foi implementado numa nova interface, disponível após o operador “cortar a imagem”.

Em primeiro lugar, é necessário realizar a marcação da ROI (*region of interest*). Convém que esta seja realizada na zona do pedúnculo cerebral, já que não é expectável que esta zona apresente grande variação de intensidade devido à presença de DP <sup>[12]</sup>. Este processo tem como objectivo a normalização da intensidade do sinal na SN, minimizando potenciais diferenças de intensidade entre os vários sujeitos <sup>[12]</sup>. Para tal, é calculado o quociente entre a imagem original e o valor médio de intensidade de sinal na ROI marcada.

Só após a marcação da ROI de normalização, é possível seleccionar o valor de limiar utilizado na segmentação (Figura 3.4), que pode tomar os valores: 3%, 3.5%, 4% da gama de valores de intensidade da imagem (por exemplo,  $t=0.035 \times (\text{valor máximo}_{\text{imagem}} - \text{valor mínimo}_{\text{imagem}})$ ). Este parâmetro é considerado o valor limite relativamente ao crescimento da região (como explicitado no Capítulo 2) e, como tal, é um dos valores mais relevantes do algoritmo *regionGrowing2D3D*, utilizado para segmentar a SN.

O crescimento da região vai-se processando enquanto a intensidade de pelo menos alguns dos píxeis na vizinhança imediata da ROI se encontrar dentro do intervalo de valores  $I_{seed} \pm t$ , onde  $I_{seed}$  é a intensidade da imagem no *seedpoint*; caso contrário, é terminado o processo de segmentação.

### 3.1 Metodologia



Figura 3.4: Escolha do valor de limiar.

Para escolher o valor de limiar a utilizar na análise efectuada, foram testados vários valores possíveis e a extensão da área segmentada foi avaliada visualmente. Pretendia-se que apenas a região hiperintensa correspondente à SN fosse seleccionada. Os resultados deste teste encontram-se no subcapítulo 3.2 - Resultados Experimentais.

A marcação do *seedpoint* é realizada manualmente, através de um cursor, e deve ser feita a meio da zona da SN (dos lados esquerdo e direito).

A área e o comprimento (distância máxima entre dois pontos na linha que limita a região segmentada) são calculados – Equações 3.3 e 3.4 - e apresentados ao utilizador na interface gráfica (Figura 3.5). Estes valores poderão também ser exportados para um ficheiro de formato Excel. Onde,

$$\text{Área} = N^{\circ}_{\text{pixeis\_zonasegmentada}} \times \text{Área}_{\text{pixel}} \quad \text{Equação 3.3}$$

$$\text{Comprimento} = \max\left(\sqrt{(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2}\right), \quad \text{Equação 3.4}$$

onde  $P_i(x_i, y_i)$  e  $P_j(x_j, y_j)$  corresponde a qualquer combinação de par de pontos na região segmentada.



Figura 3.5: Exemplo do resultado final da segmentação da SN de um paciente com DP.

### 3.1.4 Análise estatística

A análise estatística permite verificar, através da teoria de probabilidade, se os dados recolhidos estão de acordo com as hipóteses colocadas acerca da

### 3.2 Resultados Experimentais

amostra.

O objectivo do processamento estatístico deste trabalho é averiguar se existem diferenças entre os valores obtidos da área e do comprimento para os diferentes grupos em estudo, bem como a existência de assimetria destas medidas conforme a gravidade da doença e se estas são estatisticamente significativas. Os dados obtidos foram analisados no *software* SPSS (v.20, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Foi utilizado um teste não paramétrico, uma vez que a amostra tem dimensão reduzida e que a distribuição da variável não é conhecida e considerando amostras independentes, pois não existe qualquer relação entre os elementos dos diferentes grupos. Recorreu-se sempre ao teste *Kruskal-Wallis*.

O nível de significância,  $\alpha$ , (probabilidade de rejeitar a hipótese nula -  $H_0$ , sabendo que  $H_0$  é verdadeira) utilizado foi de 5%, o que significa que o intervalo de confiança é de 95%. A partir do estabelecimento de um intervalo de confiança, um valor  $p$  é atribuído a cada resultado e considera-se que se o valor  $p$  for inferior ao nível de significância os resultados são considerados estatisticamente significativos; caso contrário, não existe relação estatisticamente significativa <sup>[43,44]</sup>.

### **3.2 Resultados Experimentais**

Verificou-se que a implementação do programa foi bem-sucedida e que a segmentação foi exequível.

No entanto, sentiu-se necessidade de retirar um participante do estudo (ID 30 – Grupo DP 2 a 5), pois o programa não era capaz de realizar devida-

mente a segmentação da zona de interesse, como se pode comprovar pela Figura 3.6.

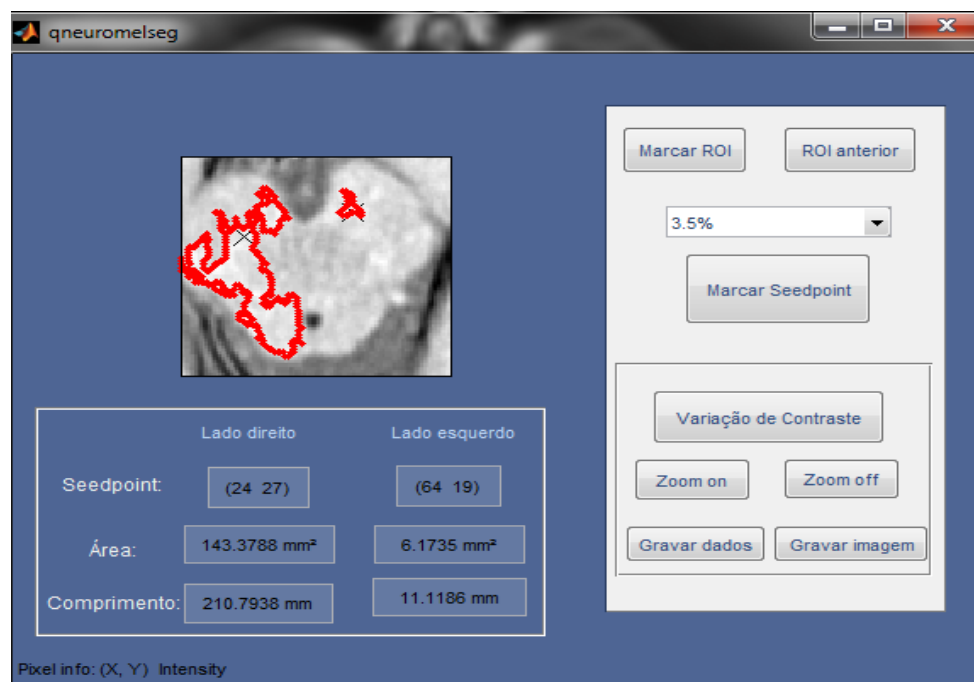


Figura 3.6: Resultado da segmentação obtida no caso do paciente de ID 30.

### 3.2.1 Optimização do algoritmo

Como referido no subcapítulo anterior, foi testado qual o número de iterações necessário na aplicação do filtro *Edge preserving smoothing*.

Concluiu-se que o melhor valor seria uma iteração, uma vez que o resultado não sofria grandes alterações em termos de processamento de imagem como se pode comprovar na Figura 3.7, mas que o tempo necessário na realização da filtragem aumentava consideravelmente à medida que se escolhia um número mais elevado de iterações. Nomeadamente para realizar uma iteração seria necessário aguardar aproximadamente 1,2 minutos, duas iterações 1,8 minutos, três iterações 2,4 minutos e 10 iterações 6,9 minutos.

### 3.2 Resultados Experimentais

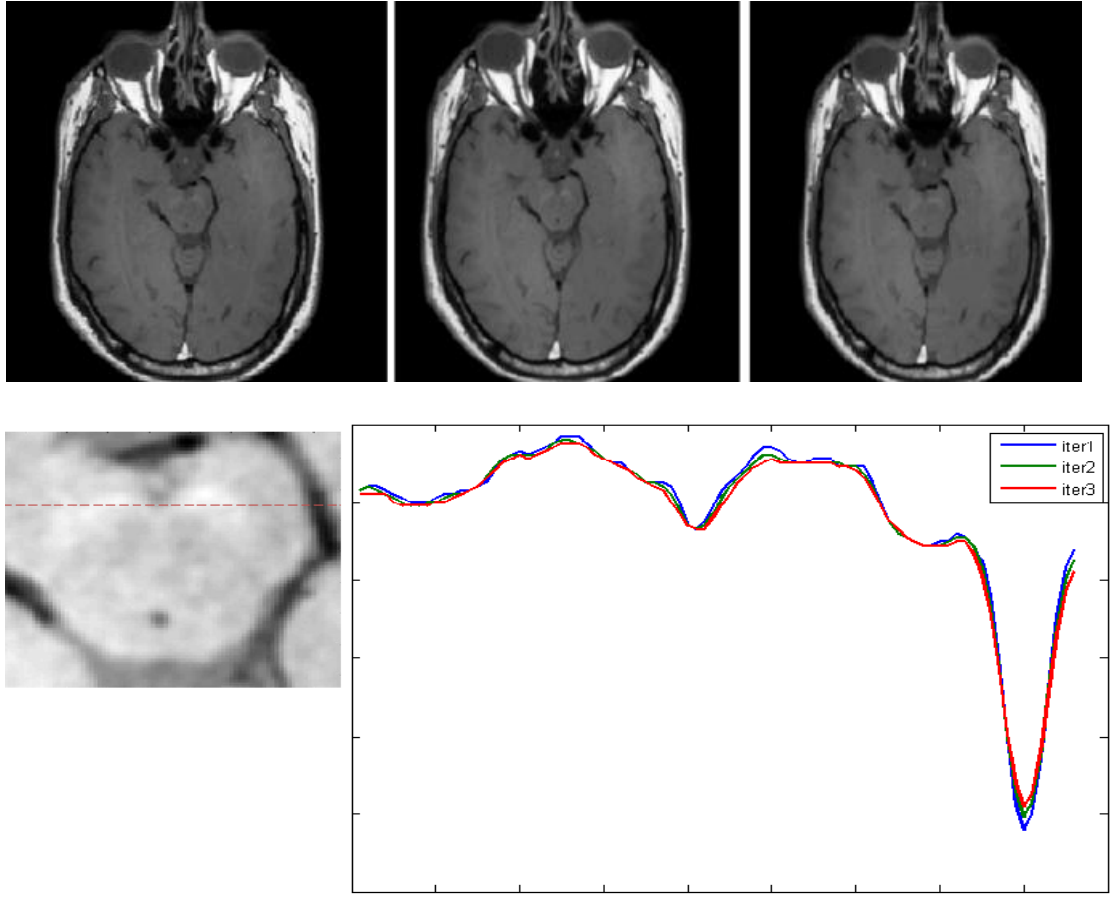


Figura 3.7: Resultados obtidos a partir da aplicação do filtro com 1 a 3 iterações (da esquerda para a direita) e gráfico realizado em Matlab evidenciando as diferenças entre um perfil da imagem após a aplicação do filtro, com o mesmo número de iterações (1 a 3).

Outro teste também realizado no âmbito do trabalho foi em relação ao valor de limiar, que define o critério de paragem para o crescimento da região.

Verificou-se experimentalmente, em todas as imagens em estudo, que um valor entre 3% e 4% seria o ideal, e que fora destes intervalos, o algoritmo não teria capacidade para reconhecer eficazmente a semelhança entre os píxeis da SN. Concluiu-se, assim, que 3.5% ( $t=0.035 \times (\text{máx}-\text{min})$ ) seria o valor que melhor se adaptava às imagens do estudo, como se pode comprovar na Figura 3.8.

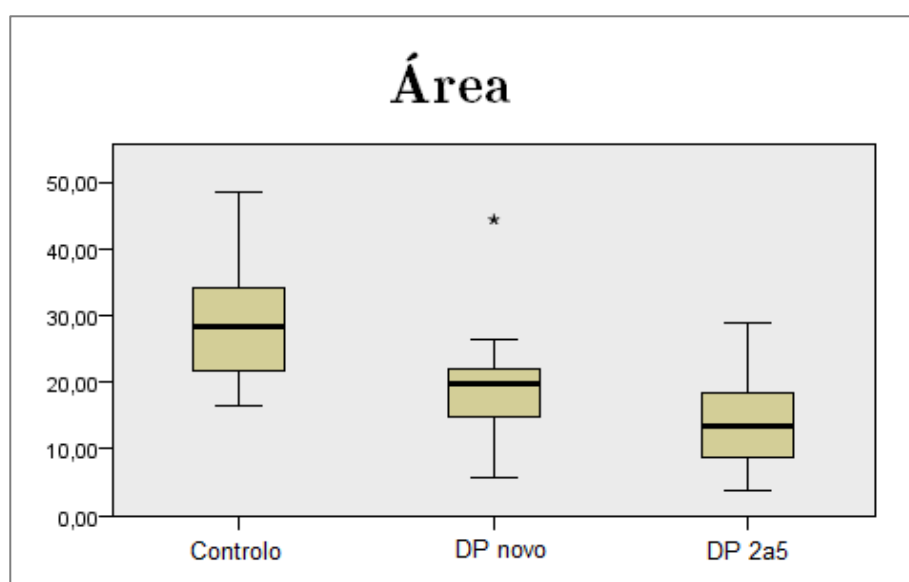


**Figura 3.8:** Resultados da segmentação obtidos a partir de limiares de 1%, 3.5% e 5%, respectivamente.

### 3.2.2 Quantificação da SN

Constam nas tabelas em apêndice, os resultados obtidos a partir do cálculo da área e distância máxima da SN dos lados esquerdo e direito, relativamente aos três grupos em estudo (Controlo, DP novo e DP 2 a 5 anos).

Procedendo-se à análise estatística dos dados, comparou-se o valor médio entre os lados esquerdo e direito com o respectivo grupo de cada sujeito, obtendo-se os gráficos apresentados abaixo para a área e para o comprimento (Figuras 3.9 e 3.10).



**Figura 3.9:** Diagrama de caixa dos valores da área da SN em função dos grupos em estudo.

### 3.2 Resultados Experimentais

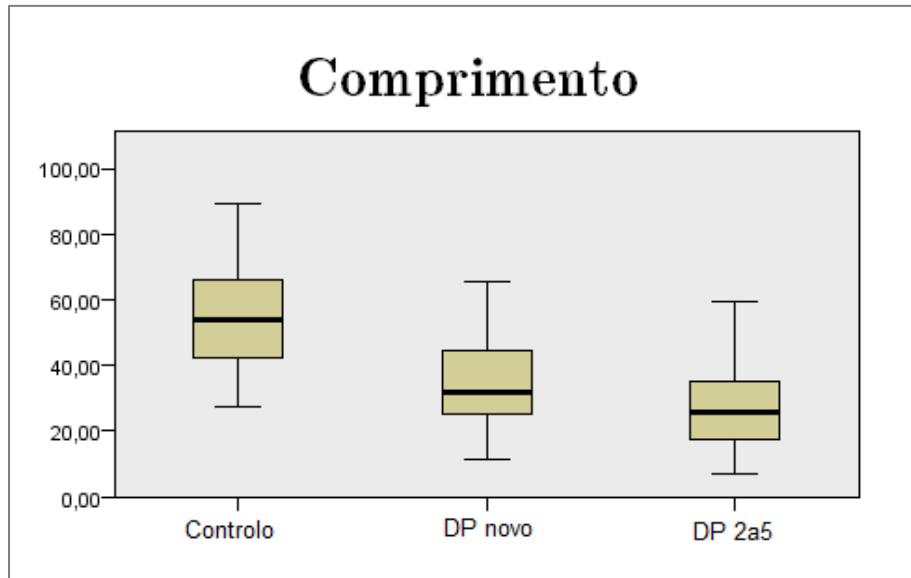


Figura 3.10: Diagrama de caixa dos valores do comprimento da SN em função dos grupos em estudo.

Verificou-se que tanto para a medida da área como do comprimento, a variação dos valores entre os diferentes grupos é estatisticamente significativa, uma vez que se obteve um valor p de 0.003 (valor  $p < 0.05$ ) para a variação da área e um valor p de 0.006 (valor  $p < 0.05$ ), para o comprimento.

Para cada grupo foram calculadas também as médias e respectivo desvio padrão da área e comprimento, sendo que a tabela se apresenta abaixo.

Tabela 3.2: Valores médios da área e comprimento da SN para os três grupos em estudo.

	<i>Área (mm<sup>2</sup>)</i>	<i>Comprimento (mm)</i>
<b>Controlo</b>	29 ± 11	54 ± 18
<b>DP novo</b>	20 ± 9	34 ± 14
<b>DP 2 a 5</b>	14 ± 8	27 ± 15

É possível verificar uma clara redução dos valores, revelando que as dimensões da SN vão diminuindo progressivamente para grupos com maior gravidade da DP.

### 3.2.2.1 Avaliação da assimetria

A assimetria entre os lados direito e esquerdo da SN é um dos parâmetro mais importante a avaliar no diagnóstico da doença. Assim, durante a avaliação clínica, no HSM, é calculada uma medida conhecida como “Score de assimetria” sendo possível ter-se conhecimento de qual o lado do paciente mais afectado clinicamente: se o valor for positivo, será o lado direito, caso contrário, o lado esquerdo.

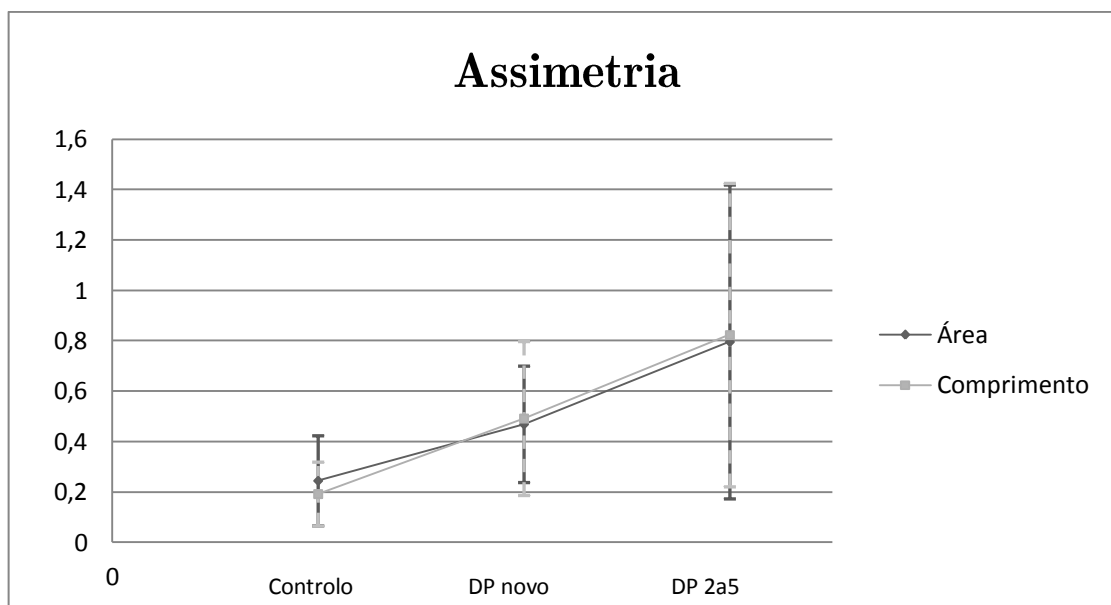
Foi analisada, para cada paciente e para as áreas e comprimentos medidos, a diferença entre os dois lados, à semelhança da avaliação clínica efectuada no HSM:

$$Score_{Assimetria} = \frac{Lado\ direito - Lado\ esquerdo}{Média\ (Lado\ direito,\ Lado\ esquerdo)}$$

Apesar de haver uma tendência para um aumento da assimetria à medida que a doença progride, segundo a análise estatística, a assimetria das áreas não variou de forma estatisticamente significativa entre os grupos, pois o valor p obtido foi de 0.07 (valor  $p > 0.05$ ). No entanto, no caso do comprimento, esta variação foi significativa uma vez que o valor p foi de 0.016 (valor  $p < 0.05$ ).

No gráfico da Figura 3.11 pode-se confirmar que as médias dos valores de  $Score_{Assimetria}$  para cada grupo aumentam consoante a gravidade da doença:

## 3.2 Resultados Experimentais



**Figura 3.11:** Gráfico que traduz a assimetria das medidas entre os lados direito e esquerdo em função dos grupos em estudo.

As linhas verticais referem-se às barras de erro com desvio padrão para cada grupo (Controlo, DP novo e DP 2 a 5), sendo a linha a cinzento-escuro a barra de erro para a área e a linha tracejada a cinzento-claro para o comprimento.

### 3.2.2.1.1 Comparação com a análise clínica

Comparando o sinal dos valores obtidos anteriormente com aqueles resultantes da avaliação no HSM (e assim comparando qual o lado clinicamente mais afectado) verificou-se que:

- Relativamente ao grupo DP novo, tanto para a área como para o comprimento, a percentagem de erro foi de 50%. Isto significa que em 12 casos, 6 foram concordantes com o lado clínico mais afectado e 6 não foram.

- Por outro lado, no grupo DP 2 a 5, a percentagem de erro para a área foi de 22% (2 em 9 casos) e 44% (4 em 9 casos), no caso do comprimento máximo. Comparativamente ao lado em que apareceram os primeiros sintomas

observou-se uma percentagem de erro de 11% (correspondendo a 1 paciente em 9), para a área, e 33% (3 em 9 casos), no caso do comprimento.

Realizou-se também uma comparação entre os resultados obtidos através da segmentação semi-automática com a avaliação qualitativa realizada no HSM: relacionou-se a informação obtida para as áreas medidas com a identificação visual de qual o lado mais reduzido.

Logo, no grupo DP novo, a percentagem de erro foi igual a 50% e no caso do grupo DP 2 a 5 foi de 11% (1 caso em 9) para a área e para o comprimento.

De referir que a avaliação visual no HSM é realizada sem qualquer conhecimento prévio da avaliação clínica, não havendo portanto qualquer influência nos resultados da inspecção visual das imagens.

Foi também calculado o coeficiente de correlação entre o nível de gravidade da doença para cada indivíduo, pela escala UPDRS, com os dados obtidos: esperar-se-ia que o paciente com o índice mais elevado apresente menores dimensões da SN e maior assimetria.

Em primeiro lugar, relacionou-se o nível de gravidade com as dimensões (área) da SN, para o grupo DP novo e DP 2 a 5:

**Tabela 3.3:** Índice de correlação e respectivo valor p entre o nível de gravidade UPDRS e as dimensões da SN.

	<b>Correlação</b>	<b>Valor p</b>
<b>DP novo</b>	-39%	0.22
<b>DP 2 a 5</b>	-45%	0.27

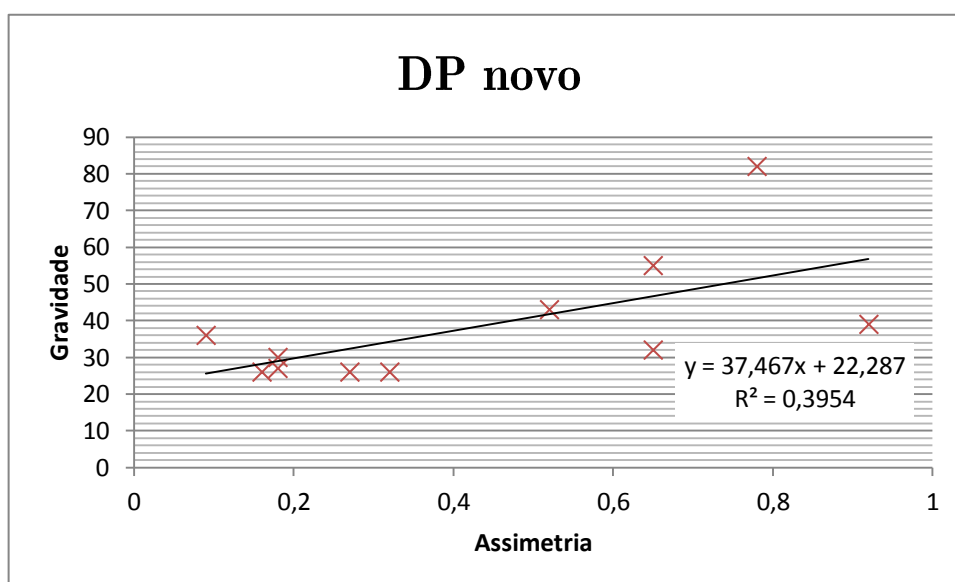
### 3.2 Resultados Experimentais

De seguida, obteve-se um índice de correlação entre o nível de gravidade e assimetria dos dois lados da SN, no caso da área, para o grupo DP novo e DP 2 a 5:

**Tabela 3.4:** Índice de correlação e respectivo valor p entre o nível de gravidade UPDRS e a assimetria da SN.

	Correlação	Valor p
<b>DP novo</b>	69%	0.01
<b>DP 2 a 5</b>	-0.6%	0.99

Apresenta-se graficamente o resultado da relação existente entre o nível de gravidade UPDRS com a assimetria da SN:



**Figura 3.12:** Gráfico que traduz a relação entre o índice de gravidade UPDRS com a assimetria da SN.

Pode-se comprovar pelo valor negativo do índice de correlação na Tabela 3.3 que o nível de gravidade UPDRS é inversamente proporcional às dimensões da área, o que corrobora os estudos anteriores. No entanto, estes valores de correlação não são estatisticamente significativos, já que valor  $p > 0.05$ .

Por outro lado, pela Tabela 3.4 e pelo valor de  $R^2$  do gráfico da Figura

3.12 é possível constatar que, para o grupo DP novo, existe uma forte correlação entre o índice de gravidade UPDRS e a assimetria entre os dois lados da SN, sendo este valor estatisticamente significativo (valor  $p < 0.05$ ). O mesmo não é válido para o grupo DP 2 a 5, que apresenta um índice de correlação muito reduzido e negativo.

### **3.3 Discussão de resultados**

A optimização da metodologia empregue foi bem conseguida: a eficácia e importância da utilização do filtro *Edge preserving smoothing* foram comprovadas, concluindo que o processo de segmentação não seria possível sem o seu uso, como apresentado nas Figuras 3.2 e 3.3. É possível admitir também que o valor de limiar do algoritmo *regionGrowing2D3D* influencia fortemente o resultado final da segmentação, tendo sido encontrado o valor ideal a utilizar para o conjunto de imagens avaliadas. No entanto, este poderia ser alvo de um estudo de optimização mais detalhado, nomeadamente no que diz respeito ao uso de um parâmetro do algoritmo, “*tfMean*”, que permite actualizar o valor limite (*threshold value*) consoante o crescimento da zona segmentada. Neste trabalho não foi considerada esta opção, pois atrasa bastante o decorrer do programa.

Conclui-se que as dimensões da SN diminuem consoante a evolução da doença, o que corrobora os estudos anteriores. Conclui-se que a assimetria entre os dois lados da SN vai aumentando conforme a gravidade, embora para a área os resultados não sejam estatisticamente significativos.

Relativamente às comparações dos resultados obtidos com a avaliação clínica e avaliação qualitativa levada a cabo no HSM, verifica-se que o erro foi maior para o grupo DP novo do que para o grupo DP 2 a 5, o que pode ser

### 3.3 Discussão de resultados

justificável pelo estado mais avançado da doença. O erro consideravelmente elevado, principalmente no grupo DP novo, pode ser justificável pela reduzida dimensão da amostra e pelo facto de existirem alguns valores limite relativamente ao Score de Assimetria calculado clinicamente (-1 e 1). Segundo a análise também realizada entre o nível de gravidade pela escala UPDRS e a redução das dimensões da SN e a assimetria, estes parâmetros não apresentam uma forte relação entre eles (exceptuando o caso da assimetria para o grupo DP novo), como se pode comprovar pelos níveis de correlação, nas Tabelas 3.3 e 3.4.

# 4

## Análise de imagens sintéticas

### 4.1 Metodologia

Foram sintetizadas imagens, utilizando como base de partida a imagem da Figura 2.6 a), correspondente a um sujeito saudável. A SN e as margens do pedúnculo cerebral foram delimitadas manualmente e foram então simulados diferentes níveis de contraste: com 10% a 110% mais sinal do que as regiões circundantes (intervalo de 20% num total de 6 imagens: 10, 30, 50, 70, 90 e 110%). Para cada nível de contraste, foram simulados valores de RSR de 10, 20, 30, 40 e 50. Ruído gaussiano foi adicionado às componentes real e imaginária do sinal antes de se calcular a intensidade da imagem. Assim, a intensidade final das imagens simuladas seguia uma distribuição de Rician, característica das imagens adquiridas por RM <sup>[45]</sup>.

O processo de segmentação foi realizado de modo idêntico à das imagens reais para que se mantivessem as condições de estudo.

Assim, o valor de limiar escolhido foi de 3.5% da gama de valores de intensidade da imagem e os *seedpoint's* foram mantidos, em todas as imagens, com as mesmas coordenadas para os lados direito e esquerdo. O processo foi

## 4.1 Metodologia

repetido com e sem aplicação de filtragem utilizando o filtro *Edge preserving smoothing* (com uma iteração).

No final do processo, foram obtidos os valores de área e comprimento dos lados direito e esquerdo. Todos os valores foram comparados com aqueles obtidos no caso da imagem com maior contraste e RSR (contraste de 110% e RSR de 50), obtendo-se uma percentagem de erro para cada caso. Sendo que o cálculo da percentagem de erro foi calculado do seguinte modo:

$$Percentagem\ de\ erro(\%) = 100 - \frac{Área\ região\ segmentada\ de\ cada\ imagem}{Área\ região\ segment.\ imagem\ contraste = 110, RSR = 50}$$

De modo a aferir quais os valores aproximados do contraste e RSR das imagens utilizadas no estudo, primeiramente foi marcada uma ROI na SN, de seguida na zona circundante e foram calculadas as médias e desvio padrão nestas regiões <sup>[46]</sup>. Esta metodologia foi seguida pelo facto de ter sido utilizada uma bobina com vários canais para acelerar a aquisição das imagens, o que resulta numa RSR especialmente variável. De notar que esta estimativa pressupõe que a região onde são efectuadas as medições é homogénea.

Assim, foram calculados os valores referentes à RSR e ao contraste de seis imagens, duas de cada grupo em estudo, a partir das equações 4.1 e 4.2 <sup>[46]</sup>:

$$RSR = \frac{Média(ROI_{SN})}{\sigma(ROI_{SN})} \quad \text{Equação 4.1}$$

$$Contraste = \frac{Média(ROI_{SN}) - Média(ROI_{z.circundante})}{Média(ROI_{SN})} \quad \text{Equação 4.2}$$

Os resultados apresentar-se-ão na secção seguinte.

## 4.2 Resultados Experimentais

Constam nas tabelas em apêndice, todos os resultados relativos ao processo de segmentação deste grupo de imagens.

De seguida apresentam-se algumas figuras exemplificativas do processo de segmentação no caso de imagens sem a aplicação do filtro *Edge preserving smoothing* – Figura 4.1 – e com a aplicação do mesmo – Figura 4.2, onde se verifica a importância da sua utilização neste tipo de imagens.

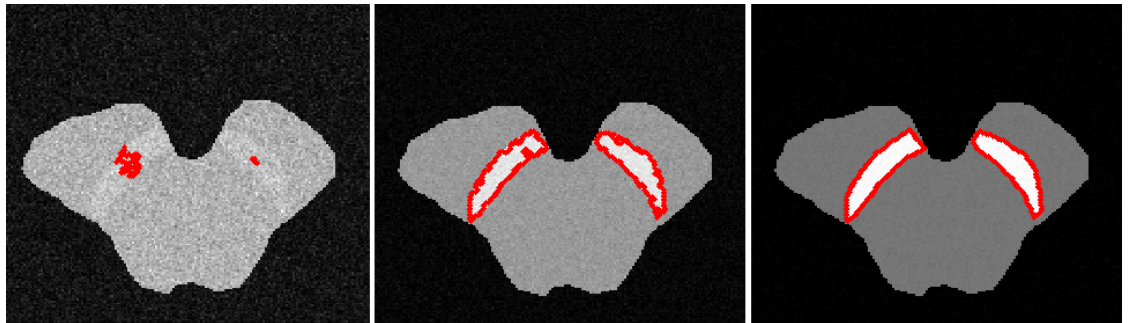


Figura 4.1: Imagens com níveis de contraste 10% e RSR de 10, contraste 50% e RSR de 30 e contraste 110% e RSR de 50, respectivamente.

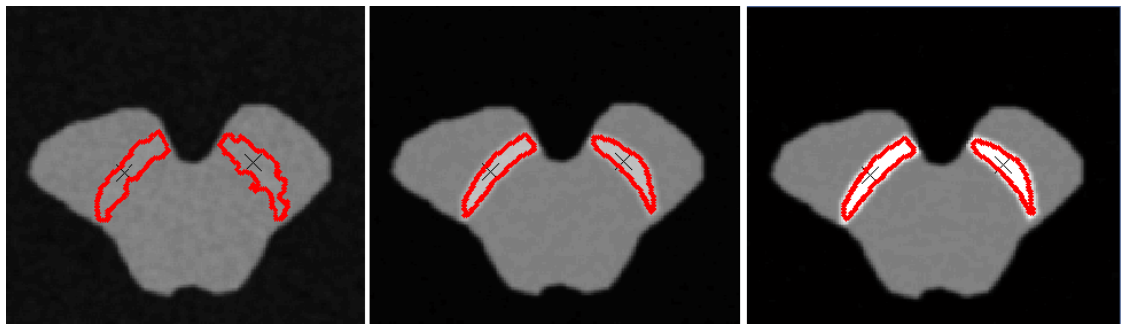


Figura 4.2: Imagens filtradas com níveis de contraste 10% e RSR de 10, contraste 50% e RSR de 30 e contraste 110% e RSR de 50, respectivamente.

Apresentam-se agora os gráficos referentes à percentagem de erro normalizada relativamente à imagem com maior índice de contraste e RSR (sem sofrer processo de filtragem).

## 4.2 Resultados Experimentais

Primeiramente para o caso das imagens sem processo de filtragem (Figura 4.3) e de seguida com a aplicação do filtro (Figura 4.4).

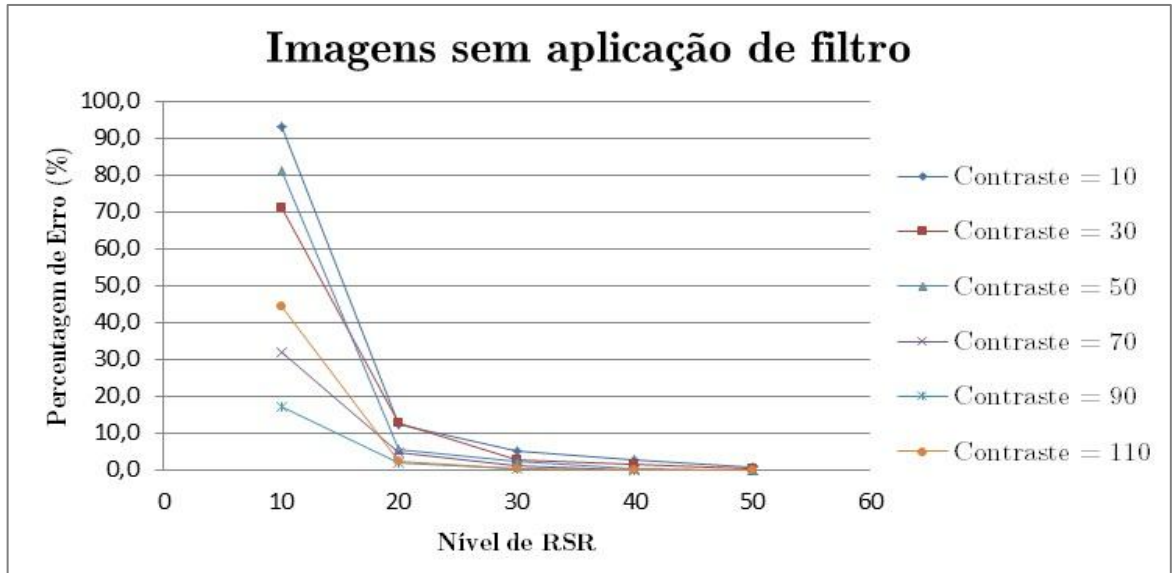


Figura 4.3: Gráfico relativo às percentagens de erro para cada nível de contraste e RSR comparativamente à imagem com RSR de 50 e contraste de 110%, no caso de não ser aplicado o filtro.

Pode-se verificar que se a imagem possuir um nível de contraste de 10% e RSR de 10, a percentagem de erro é superior a 90%. Este valor vai diminuindo progressivamente com o incremento da RSR, aproximando-se do valor 0%. Para uma RSR de 30, o erro é inferior a 10% independentemente do nível de contraste.

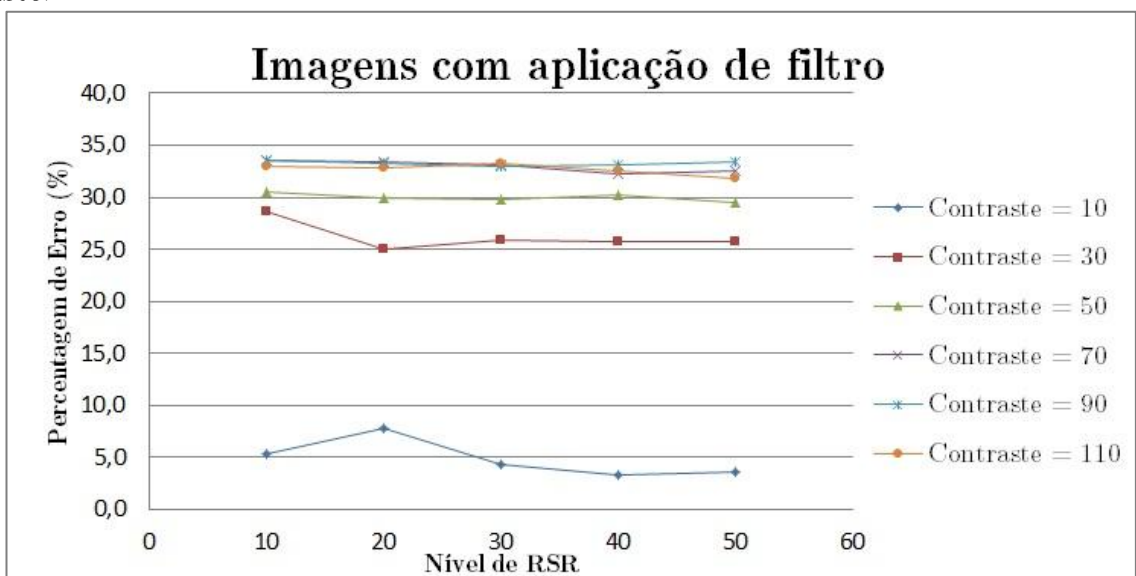


Figura 4.4: Gráfico relativo às percentagens de erro para cada nível de contraste e RSR comparativamente à imagem com RSR de 50 e contraste de 110% no caso de imagens filtradas.

Em relação às imagens filtradas, é possível constatar que a percentagem de erro aumenta consideravelmente a partir de valores de contraste acima de 30%, sendo mais vantajoso utilizar este tipo de filtro para imagens com contraste igual a 10%, caso em que a percentagem de erro se situa entre 3.4% e 7.8%.

Como referido na subsecção 4.1, foram calculados a RSR e o contraste de seis imagens pertencentes ao estudo, distribuídas de modo equitativo pelos três grupos. Deste modo, pretende-se obter informação acerca de melhoramentos futuros a nível de aquisição com vista a tornar mais robusto o estudo *in vivo*. Os valores apresentam-se na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1: Valores da RSR e do contraste de seis imagens.**

	<b><i>RSR</i></b>	<b><i>Contraste (%)</i></b>
<b>Imagem 1</b>	13	14
<b>Imagem 2</b>	17	11
<b>Imagem 3</b>	14	14
<b>Imagem 4</b>	13	14
<b>Imagem 5</b>	18	12
<b>Imagem 6</b>	8	11

É possível verificar que o valor médio de RSR das imagens usadas no estudo é de aproximadamente 14 e de contraste 12%, o que é relativamente baixo.

### ***4.3 Discussão de resultados***

Através do estudo deste grupo de imagens sintetizadas, é possível comprovar a eficácia do algoritmo de segmentação escolhido, demonstrando a relevância que os níveis de RSR e de contraste das imagens apresentam nos resultados finais da segmentação. Tendo em conta os valores de RSR e de contraste estimados para as imagens analisadas, pode-se também confirmar a importân-

### 4.3 Discussão de resultados

cia da realização do pré-processamento, nomeadamente através do filtro *Edge preserving smoothing*. Tal é visível não só pela observação das imagens resultantes, mas também pelo facto de a percentagem de erro obtida por simulação se situar, após aplicação do filtro, entre os 3.4% e 33%, em contraste com o caso em que as imagens não sofreram filtragem, em que o erro alcança os 90%.

Analisando o gráfico da Figura 4.3, pode-se concluir que o nível da RSR e contraste das imagens são factores preponderantes nos resultados de segmentação, uma vez que para valores de contraste igual a 10% e RSR de 10, o erro estimado é de 93%. À medida que a RSR vai aumentando, a percentagem de erro decresce, aproximando-se de 0%. Para um valor de RSR de 50 e contraste de 70%, a percentagem de erro já é igual a 0%.

Verifica-se que com a aplicação do filtro, Figura 4.4, a relevância da RSR é atenuada, o que comprova a eficácia do filtro, e que para valores de contraste acima de 30% talvez este algoritmo de filtragem não seja o mais vantajoso. Após filtragem, verifica-se que a intensidade da imagem nas regiões de interface da SN é reduzida, pelo que apenas a porção mais interior da SN é correctamente segmentada – Figura 4.2. Para que este processo possa ser aplicado a quaisquer imagens, independentemente da sua RSR, será aconselhável testar pormenorizadamente outros algoritmos, ou pelo menos re-optimizar o algoritmo utilizado de forma a colmatar esta limitação.

Os níveis médios de RSR e de contraste das imagens usadas no estudo *in vivo* são de, respectivamente, 14 e 12%. Note-se, no entanto, que por questões de limitação de tempo estes valores não foram medidos nas 32 imagens, mas apenas em 6.

Ainda assim, pode-se constatar que para valores tão baixos de RSR e

contraste, a segmentação sem a aplicação de filtro não seria realizável. De acordo com estas simulações, com a aplicação de filtro os resultados são notavelmente melhorados embora continue a existir uma determinada percentagem de erro.



# 5

## Conclusões e perspectivas

O presente trabalho teve como primordial objectivo o desenvolvimento de um programa de análise de imagem que permitisse a quantificação das dimensões da SN de um modo semi-automático, com vista a investigar o seu potencial auxílio no diagnóstico médico. Posteriormente foi também realizado um estudo em imagens sintetizadas a fim de avaliar a eficácia do algoritmo de segmentação e de filtragem e de obter alguma informação acerca de melhoramentos necessários, de modo a tornar mais robustas futuras análises.

A implementação do programa foi efectuada com sucesso, sendo que os resultados do estudo *in vivo* demonstram que as dimensões da SN diminuíram consoante a gravidade da doença e que a assimetria entre os dois lados aumentou. As comparações entre os resultados obtidos e as avaliações clínicas realizadas no hospital não apresentaram resultados tão positivos, atingindo uma percentagem de erro de 50%.

Ao longo do trabalho foram encontradas algumas limitações, que poderão ser alvo de um estudo futuro:

## Conclusões e perspectivas

- Baixo nível de RSR e do contraste das imagens, como relatado no Capítulo 4, o que dificulta o processo de segmentação. Seria por isso desejável otimizar a sequência de imagens ponderadas em  $T_1$ , principalmente no que diz respeito a incrementar o nível de RSR e de contraste;

- Este estudo contou com a participação de 32 indivíduos, o que faz com que a amostra seja reduzida (principalmente no que diz respeito ao grupo DP 2 a 5 que contou apenas com 9 doentes) pelo que no futuro seria bom aumentar o tamanho da mesma. Poderia ser igualmente interessante incluir um novo grupo de estudo, de doentes num estágio mais avançado (doentes há mais de 5 anos), de modo a avaliar a robustez do programa;

- Embora a segmentação tenha sido exequível, sabe-se que esta poderia ser beneficiada com uma optimização dos algoritmos do filtro e *regionGrowing2D3D*. Relativamente a este último, propõe-se um estudo mais detalhado do valor limite (*threshold value*), tal como descrito na secção 3.3 - Discussão de resultados;

- Seria útil, num trabalho futuro, realizar o estudo da volumetria da SN e não somente da área e comprimento, de modo a haver uma maior aproximação com a estrutura anatómica real. Para tal, será necessário fazer algumas alterações ao código do programa, de modo a realizar a análise de imagens 3D;

- Seria também importante realizar um estudo longitudinal, de modo a analisar a evolução da doença individualmente para cada paciente.

# Bibliografia

1. Auer, D.P., *In vivo imaging markers of neurodegeneration of the substantia nigra*. Experimental Gerontology, 2009. **44**(1–2): p. 4-9.
2. Kashihara, K., T. Shinya, and F. Higaki, *Reduction of Neuromelanin-Positive Nigral Volume in Patients with MSA, PSP and CBD*. Vol. 50. 2011. 1683-7.
3. Andrew J Lees, J.H., Tamas Revesz, *Parkinson's disease*. Lancet, 2009.
4. Kashihara, K., T. Shinya, and F. Higaki, *Neuromelanin magnetic resonance imaging of nigral volume loss in patients with Parkinson's disease*. Journal of Clinical Neuroscience, 2011. **18**(8): p. 1093-1096.
5. Sasaki, M., et al., *Neuromelanin-Sensitive MRI*. Clinical Neuroradiology, 2008. **18**(3): p. 147-153.
6. Menke, R.A., et al., *MRI characteristics of the substantia nigra in Parkinson's disease: A combined quantitative T1 and DTI study*. NeuroImage, 2009. **47**(2): p. 435-441.
7. Ohtsuka, C., et al., *Changes in substantia nigra and locus coeruleus in patients with early-stage Parkinson's disease using neuromelanin-sensitive MR imaging*. Neuroscience Letters, 2013. **541**(0): p. 93-98.
8. Baudrexel, S., et al., *Quantitative mapping of T1 and T2\* discloses nigral and brainstem pathology in early Parkinson's disease*. NeuroImage, 2010. **51**(2): p. 512-520.

9. Schwarz, S.T., et al., *T1-weighted MRI shows stage-dependent substantia nigra signal loss in Parkinson's disease*. *Mov Disord*, 2011. **26**(9): p. 1633-8.
10. Sasaki, M., et al., *Monoamine neurons in the human brain stem: anatomy, magnetic resonance imaging findings, and clinical implications*. *NeuroReport*, 2008. **19**(17): p. 1649-1654 10.1097/WNR.0b013e328315a637.
11. Lehericy, S., et al., *Magnetic resonance imaging of the substantia nigra in Parkinson's disease*. *Movement Disorders*, 2012. **27**(7): p. 822-830.
12. Ogisu, K., et al., *3D neuromelanin-sensitive magnetic resonance imaging with semi-automated volume measurement of the substantia nigra pars compacta for diagnosis of Parkinson's disease*. *Neuroradiology*, 2013. **55**(6): p. 719-724.
13. Sasaki, M., et al., *Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson's disease*. *NeuroReport*, 2006. **17**(11): p. 1215-1218 10.1097/01.wnr.0000227984.84927.a7.
14. Kempster PA, G.W., Stern GM, Lees AJ., *Asymmetry of substantia nigra neuronal loss in Parkinson's disease and its relevance to the mechanism of levodopa related motor fluctuations*. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. , 1989: p. 72-6.
15. Giorgio, A. and N. De Stefano, *Clinical use of brain volumetry*. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 2013. **37**(1): p. 1-14.
16. Ashburner, J., *A fast diffeomorphic image registration algorithm*. *NeuroImage*, 2007. **38**(1): p. 95-113.

17. Pina, J.A.E., *Anatomia da Relação Humana*. 4<sup>a</sup> ed. 2009.
18. Vaillancourt, D., et al., *High-resolution diffusion tensor imaging in the substantia nigra of de novo Parkinson disease*. *Neurology*, 2009. **72**(16): p. 1378-84.
19. *Degeneração da neuromelanina e consequente redução da SN no caso de DP a*). Available from: [http://3.bp.blogspot.com/\\_XTOr-5gek/S9CFt1gtHtI/AAAAAAAAAAk/eZPA2WGkrTI/s320/parkinson.jpg](http://3.bp.blogspot.com/_XTOr-5gek/S9CFt1gtHtI/AAAAAAAAAAk/eZPA2WGkrTI/s320/parkinson.jpg)
20. *Degeneração da neuromelanina e consequente redução da SN no caso de DP b*). Available from: <http://dorescronicas.com.br/wp-content/uploads/2010/08/slide199.jpg>.
21. *Redução dos níveis de dopamina no caso de neurónios afectados pela doença de Parkinson*. Available from: [http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g65\\_ldopa/imagem%202.jpg](http://www.ff.up.pt/toxicologia/monografias/ano0708/g65_ldopa/imagem%202.jpg).
22. Vaz, R., *Doença de Parkinson*. 2006-2009. 115.
23. Péran, P., et al., *Magnetic resonance imaging markers of Parkinson's disease nigrostriatal signature*. *Brain*, 2010. **133**(11): p. 3423-3433.
24. Dominik Weishaupt, V.D.K., Borut Marincek, *How does MRI work? An Introduction to the Physics and Function of Magnetic Resonance Imaging*. 2nd ed. 2006: Springer.
25. Lufkin, R.B., *The MRI Manual*. 2nd ed.: Mosby-Year Book, Inc.
26. *Quantitative MRI of the Brain: Measuring Changes Caused by Disease* ed. Wiley. 2004: John Wiley & Sons, Ltd.
27. Hornak, J.P. *The Basics of MRI*. Available from: <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside.htm>.

28. Viani, T. *Sequências de pulso*. Available from:  
<http://pt.scribd.com/doc/54160445/Sequencias-de-pulso-ressonancia>.
29. Jankovic J, R.A.H.M.M.P.P.D.P. and et al., *The evolution of diagnosis in early parkinson disease*. Archives of Neurology, 2000. **57**(3): p. 369-372.
30. Torres, A.S.A., *Segmentação de Imagens Médicas Visando a Construção de Modelos Médicos*. 2012, Escola Superior de Tecnologia e Gestão - Instituto Politécnico de Bragança.
31. Faria, D.A.B., *Segmentação, Reconstrução e Quantificação 3D de Estruturas em Imagens Médicas – Aplicação em Imagem Funcional e Metabólica*. 2010, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.
32. Davi Garcia, I.P. *Segmentação de Imagem*. Available from:  
<http://www.slideshare.net/iorgama/segmentao-de-imagem>.
33. Mancas, M., B. Gosselin, and B. Macq, *Segmentation using a region-growing thresholding*. 2005: p. 388-398.
34. Kapur, T., et al., *Segmentation of brain tissue from magnetic resonance images*. Medical Image Analysis, 1996. **1**(2): p. 109-127.
35. Sobral, J.L., *Segmentação de Imagem*. 2002.
36. Sun, X., H. Zhang, and H. Duan, *3D Computerized Segmentation of Lung Volume with Computed Tomography*. Academic radiology, 2006. **13**(6): p. 670-677.
37. Samuel Clayton Maciel Neves, P.D.E.G.P., *Estudo e Implementação de Técnicas de Segmentação de Imagens*, Revista Virtual de Iniciação Acadêmica da UFPA, 2001. **1**.

38. Lu, Y., T. Jiang, and Y. Zang, *Region growing method for the analysis of functional MRI data*. NeuroImage, 2003. **20**(1): p. 455-465.
39. Clarke, L.P., et al., *MRI segmentation: Methods and applications*. Magnetic Resonance Imaging, 1995. **13**(3): p. 343-368.
40. Regina Pohle, K.D.T., *Segmentation of medical images using adaptive region growing*. Otto-von-Guericke University Magdeburg, Department of Simulation and Graphics.
41. Vagner Morais, C.V., *Matlab - curso completo*. FCA - Editora de Informática, Lda.
42. Nikos Nikolaou, N.P., *Color Reduction for Complex Document Images*. International Journal of Imaging Systems and Technology, March 2009. **19**(1): p. 14-26.
43. Marôco, J., *Análise Estatística com Utilização do SPSS*. 3 ed, ed. E. Silabo. 2007.
44. Diabetes, D.A.P.N.-S.B.d. *Como Interpretar a Significância Estatística*. 2007; Available from: <http://www.diabetes.org.br/colunistas-da-sbd/debates/1106>.
45. Gudbjartsson, H. and S. Patz, *The rician distribution of noisy mri data*. Magnetic Resonance in Medicine, 1995. **34**(6): p. 910-914.
46. Heverhagen, J.T., *Noise Measurement and Estimation in MR Imaging Experiments1*. Radiology, 2007. **245**(3): p. 638-639.



# Apêndice A

## Caracterização da amostra

Controlos				DP novo						DP 2 a 5					
	Sexo	Idade	UPDRS total		Sexo	Idade	UPDRS total	Score Assimetria	Lado dos primeiros sintomas		Sexo	Idade	UPDRS total	Score Assimetria	Lado dos primeiros sintomas
1	M	48	0	11	F	61	26	-1	Esquerdo	23	F	64	27	4	Direito
2	F	55	0	12	F	76	32	-1	Esquerdo	24	M	62			Direito
3	M	63	0	13	M	52	39	8	Direito	25	M	75	49	-1	Esquerdo
4	F	70	0	14	F	67	26	-2	Esquerdo	26	M	70	52	-6	Esquerdo
5	M	72	68	15	M	64	30	-1	Esquerdo	27	M	78	44	2	Direito
6	M	59	0	16	F	81	82	4	Direito	28	F	56	39	3	Direito
7	F	55	13	17	F	82	55	-3	Esquerdo	29	M	68	67	1	Direito
8	M	69	0	18	M	47	43	-6	Esquerdo	30	M	64	25	3	Direito
9	F	60	0	19	F	57	36	-12	Esquerdo	31	M	64	60	-1	Direito
10	M	60	0	20	M	54	27	6	Direito	32	M	68	60	4	Direito

	21	F	46	26	-7	Esquerdo	
	22	M	65	114	-11	Esquerdo	

# Apêndice B

## *Estudo in vivo*

	Área dir.	Área esq.	Média	Comp. dir.	Comp. esq.	Média		Área dir.	Área esq.	Média	Comp. dir.	Comp. esq.	Média		Área dir.	Área esq.	Média	Comp. dir.	Comp. esq.	Média
Controles							DP novo							DP 2a5						
1	51,5	45,4	48,5	79,1	51,2	65,2	11	19,6	25,6	22,6	33,4	47,1	40,3	23						
2	23,0	36,0	29,5	42,0	48,5	45,3	12	22,5	11,4	17,0	33,2	18,0	25,6	24	22,8	4,3	13,6	56,7	8,9	32,8
3	24,4	36,7	30,6	49,7	50,9	50,3	13	10,6	28,7	19,7	25,0	36,7	30,8	25	21,5	2,3	11,9	45,7	5,8	25,7
4	24,5	30,1	27,3	69,9	66,9	68,4	14	40,9	47,8	44,4	62,8	67,9	65,4	26	21,1	25,3	23,2	37,8	36,3	37,1
5	14,5	19,1	16,8	28,6	44,1	36,3	15	28,7	23,9	26,3	58,2	33,4	45,8	27	8,5	11,9	10,2	15,0	17,8	16,4
6	21,5	25,0	23,3	54,3	61,7	58,0	16	8,6	19,8	14,2	16,5	31,9	24,2	28	30,7	27,2	28,9	55,7	63,1	59,4
7	28,7	20,8	24,8	55,2	34,0	44,6	17	26,4	13,4	19,9	38,2	19,4	28,8	29	16,4	10,6	13,5	28,5	13,1	20,8
8	44,2	45,8	45,0	86,2	92,8	89,5	18	19,0	20,8	19,9	45,8	51,7	48,7	31	2,9	4,8	3,9	4,7	8,9	6,8
9	25,8	35,0	30,4	59,8	57,2	58,5	19	21,9	18,4	20,1	38,9	26,5	32,7	32	21,5	5,9	13,7	48,1	11,5	29,8
10	17,9	14,8	16,4	29,2	25,5	27,3	20	6,6	4,8	5,7	15,7	7,4	11,5		1,9	13,3	7,6	4,8	32,5	18,6
							21	6,5	17,1	11,8	15,7	35,2	25,4							
							22	14,5	24,7	19,6	22,0	45,8	33,9							
Média			29,2			54,3				20			34,4				14			27,5
Desvio padrão			10,5			17,7				9,3			14				7,7			15



# Apêndice C

## *Análise de imagens sintéticas*

Sem filtro (contraste %, RSR)		Lado direito	Lado esquerdo	Com filtro (contraste %, RSR)		Lado direito	Lado esquerdo
10,10	Área	79,0	5,0	10,10	Área	589	605
	Comp.	83,0	6,1		Comp.	311	316
10,20		549,0	488,0	10,20		574	517
		431,0	399,4			301	283
10,30		578,0	541,0	10,30		595	537
		360,7	331,9			295	283
10,40		598,0	554,0	10,40		595	548
		334,0	319,7			290	285
10,50		608,0	564,0	10,50		587	552
		310,1	297,4			294	282
30,10		205,0	137,0	30,10		470	377
		180,5	170,0			261	269
30,20		531,0	500,0	30,20		459	428
		392,9	354,1			269	255
30,30		604,0	547,0	30,30		462	415
		309,0	325,8			260	255
30,40		603,0	561,0	30,40		460	418
		312,8	302,9			259	255
30,50		613,0	566,0	30,50		459	419
		305,2	294,3			259	252
50,10		164,0	64,0	50,10		430	392
		168,6	76,0			255	242
50,20		581,0	536,0	50,20		437	392
		349,8	329,7			259	244
50,30		602,0	554,0	50,30		436	395
		318,2	312,6			259	252
50,40		611,0	565,0	50,40		429	396
		309,1	287,1			259	253
50,50		615,0	567,0	50,50		436	398
		305,1	294,3			259	244
70,10		378,0	423,0	70,10		413	374
		406,4	401,8			244	253
70,20		580,0	545,0	70,20		420	368
		341,9	304,6			258	238
70,30		610,0	560,0	70,30		414	377
		308,1	296,0			254	240
70,40		613,0	568,0	70,40		417	384

	305,2	294,3		256	243
<b>70,50</b>	615,0	568,0	<b>70,50</b>	418	380
	305,1	294,3		254	243
<b>90,10</b>	512,0	468,0	<b>90,10</b>	415	373
	374,6	317,3		258	241
<b>90,20</b>	600,0	559,0	<b>90,20</b>	418	374
	331,0	297,3		256	246
<b>90,30</b>	613,0	564,0	<b>90,30</b>	418	376
	307,1	294,0		254	243
<b>90,40</b>	613,0	568,0	<b>90,40</b>	411	379
	309,1	294,3		254	243
<b>90,50</b>	615,0	568,0	<b>90,50</b>	413	373
	305,1	294,3		256	240
<b>110,10</b>	206,0	441,0	<b>110,10</b>	418	388
	209,9	420,7		258	246
<b>110,20</b>	602,0	553,0	<b>110,20</b>	421	378
	314,2	316,0		254	245
<b>110,30</b>	612,0	566,0	<b>110,30</b>	410	379
	308,8	297,2		254	240
<b>110,40</b>	615,0	567,0	<b>110,40</b>	416	378
	305,1	296,6		256	243
<b>110,50</b>	615,0	568,0	<b>110,50</b>	421	372
	305,1	294,3		256	240