



**Sara Isabel Costa Ferreira**

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

## **Relaxometria no estudo da doença de Parkinson**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Biomédica

Orientadora: Rita Gouveia Nunes, Prof<sup>a</sup>. Doutora  
Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

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

Júri:

Presidente: Prof. Doutor Mário Forjaz Secca

Arguente: Prof<sup>a</sup>. Doutora Patrícia Piedade Figueiredo

Vogais: Prof<sup>a</sup>. Doutora Rita Gouveia Nunes  
Mestre Sofia Coutinho Reimão



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro, 2013**



**Sara Isabel Costa Ferreira**

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

## **Relaxometria no estudo da doença de Parkinson**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Orientadora: Rita Gouveia Nunes, Professora Auxiliar, Departamento de Física da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Co-orientadora: Sofia Coutinho Reimão, Assistente Hospitalar de Neurorradiologia do Centro Hospitalar Lisboa Norte e Assistente Convidada de Imagiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

### Constituição do júri

Presidente: Prof. Doutor Mário Forjaz Secca, Professor Associado, Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Arguente: Prof<sup>a</sup>. Doutora Patrícia Piedade Figueiredo, Professora Auxiliar, Departamento de Física do Instituto Superior Técnico da Universidade Técnica de Lisboa

Vogal: Prof<sup>a</sup>. Doutora Rita Gouveia Nunes, Professora Auxiliar, Departamento de Física da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Vogal: Mestre Sofia Coutinho Reimão, Assistente Hospitalar de Neurorradiologia do Centro Hospitalar Lisboa Norte e Assistente Convidada de Imagiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa



### **Relaxometria no estudo da doença de Parkinson**

Copyright © 2013. Todos os direitos reservados. Sara Isabel Costa 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.



# Agradecimentos

O terminar deste projecto dita o fim de mais uma etapa académica. Tal não seria possível sem o apoio e amizade de diversas pessoas.

Gostaria de agradecer à minha orientadora, a Professora Rita Nunes, que ao longo deste percurso se demonstrou sempre disponível, e o seu entusiasmo, simpatia e dedicação foram com certeza uma inspiração. Agradeço igualmente à Dr<sup>a</sup> Sofia Reimão, o entusiasmo e incentivo que transmitiu, tendo sido a sua colaboração essencial para fazer a ponte entre a investigação e a prática clínica. Um muito obrigado às duas pela oportunidade de participar neste projecto. Agradeço também aos professores e colegas do IBEB que me acolheram no Instituto.

A todos os professores que se cruzaram neste percurso académico e contribuíram para a transmissão de perspectivas e ensinamentos.

A todos os meus colegas FCTenses que de uma forma ou outra partilharam comigo este percurso, enriquecendo-o, e fazendo com que tudo se tornasse mais fácil. Um obrigado especial à Ana Catarina, Carolina, Joana, Inês, Ricardo, Mateus, Queirós, Diana, Rémi, Filipa e Patrícia, pela amizade ao longo destes 5 anos. Que muitos mais momentos partilhados venham!

Aos meus amigos da Amora, que se cruzaram ao longo destes anos, destacando a Joana e Iolanda, um obrigada pela amizade.

Ao José Filhó, pelo apoio incondicional, paciência, por acreditar sempre em mim e por ter sempre uma palavra de conforto.

Quero também agradecer aos meus familiares pela preocupação e apoio! Um obrigado especial aos meus padrinhos Jorge e Cristina, aos avós Maria Luísa e Manuel, e à Tia Teresa.

E finalmente quero agradecer aos meus pais José e Sílvia, pelo carinho, compreensão e apoio! E ao meu irmão Luís pela ajuda e incentivo que desde sempre me deu!





# Resumo

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa que afecta cerca de 1-2% dos indivíduos com idade superior a 65 anos, num total de 5 milhões em todo o mundo. Durante os próximos 20 anos prevê-se que a incidência da DP duplique.

A alteração do conteúdo de ferro em certas estruturas cerebrais parece estar relacionada com distúrbios neurodegenerativos. A quantificação do conteúdo de ferro *in vivo* através da Imagem por Ressonância Magnética (IRM) tem sido estudada como biomarcador destas doenças. Uma vez que a presença de ferro afecta o campo magnético local, medições de variáveis físicas dos tecidos, nomeadamente da constante  $T2^*$ , através de técnicas de relaxometria, podem levar a algumas conclusões indirectas sobre o conteúdo de ferro nos tecidos.

O presente estudo teve como objectivo desenvolver um programa com interface gráfica que permitisse a medição da constante  $T2^*$  de uma forma prática, aplicável na clínica, e utilizá-lo num conjunto de imagens para comparar valores da constante de  $T2^*$  em determinadas regiões cerebrais, entre grupos de indivíduos com DP e controlos. Participaram neste estudo um total de 32 indivíduos, tendo sido medida a constante de  $T2^*$  em três regiões da *substantia nigra*, através da delimitação de ROIs.

Efectuaram-se simulações computacionais de forma a determinar qual o método mais robusto na obtenção dos valores de  $T2^*$ .

Após a análise e tratamento dos resultados obtidos observou-se uma ligeira diminuição do valor de  $T2^*$  (33%) na região rostral da SN, entre o grupo de doentes com DP e os controlos, de acordo com o esperado. Analisando a gravidade da doença, esta correlacionou-se com a assimetria característica da DP. No entanto, os resultados obtidos não foram estatisticamente significativos, sendo necessário no futuro aumentar a amostra em estudo ou alterar a abordagem de aquisição de imagens, de forma a que esta metodologia possa ser aplicável em ambiente clínico e constituir uma ferramenta no auxílio ao diagnóstico da DP.

**Palavras-chave:** Doença de Parkinson, Ferro, IRM, Relaxometria



# Abstract

Parkinson's disease (PD) is a neurodegenerative disease that affects about 1-2% of individuals older than 65 years, in a total of 5 million people worldwide. For the next 20 years the incidence of PD is expected to double.

Changes in the iron content in certain brain structures appear to be related to neurodegenerative disorders. The measurement of iron content in vivo by Magnetic Resonance Imaging (MRI) has been studied as a biomarker for these diseases. Since the presence of iron affects the local magnetic field, measurements of the physical variables of tissues, particularly of the constant  $T2^*$ , using relaxometry techniques, may provide some indirect insights into the iron content of tissues.

The present study aimed to develop a program with a graphical interface that allows the measurement of the  $T2^*$  constant in way that can be applicable in the clinic, and the use of these images to compare values of the constant  $T2^*$  in certain brain regions, between groups with PD and controls. In this study 32 individuals were studied, and the constant  $T2^*$  was measured in three regions of the *substantia nigra*, after delineation of these ROIs.

Firstly, computer simulations were performed to determine the most robust method to estimate  $T2^*$ .

After analyzing and processing the results, they showed a decrease in the value of  $T2^*$  (33%) between the group of patients with PD and controls, in the rostra region of SN, according to expectations. The severity of the disease correlates with the asymmetry characteristic of PD. However, the results were not statistically significant, and in the future it will be necessary to increase the sample of the study or change the image acquisition approach, so that this technique may be applicable in the clinical setting and provide a tool to aid the diagnosis of PD.

**Key-words:** Parkinson's disease, Iron, MRI, Relaxometry



# Índice de Conteúdos

Índice de Figuras.....	xv
Índice de Tabelas.....	xix
Acrónimos e Siglas.....	xxi
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Enquadramento e Estado de Arte.....	1
1.2 Estrutura da tese.....	3
1.3 Imagem por Ressonância Magnética.....	4
1.3.1 Princípios de Ressonância Magnética.....	4
1.3.2 Relaxometria.....	9
1.3.3 Sequências de impulsos – Eco de gradiente.....	10
1.4 Doença de Parkinson.....	11
1.4.1 O ferro e as estruturas cerebrais.....	13
1.5 Aplicações da IRM ao estudo da DP.....	15
<b>2. Simulações.....</b>	<b>17</b>
2.1 Comparação de algoritmos para estimativa de T2*.....	17
2.1.1 Métodos de ajuste com ponderação não-iterativa.....	18
2.1.2 Métodos de ajuste com ponderação iterativa.....	19
2.2 Metodologia.....	20
2.3 Apresentação de resultados.....	23
2.4 Discussão de resultados.....	26
<b>3. Estudo <i>in-vivo</i>.....</b>	<b>27</b>
3.1 Metodologia.....	27
3.1.1 Caracterização da amostra.....	27
3.1.2 Protocolo de aquisição das imagens de RM.....	28
3.1.3 Processamento de imagem.....	29
3.1.4 Segmentação da SN: marcação de ROIs.....	31
3.1.5 Tratamento estatístico.....	33
3.2 Apresentação de resultados.....	34
3.2.1 Regiões da SN.....	36

3.2.2	Lateralidade da DP.....	36
3.2.3	Gravidade da DP: UPDRS.....	40
3.2.4	Idade.....	43
3.3	Discussão de resultados.....	45
4.	<b>Conclusões</b> .....	47
4.1	Trabalho futuro.....	49
	 Bibliografia.....	51
	 Apêndice A – Poster apresentado no “5th Workshop on Biomedical Engineering”, 2013.....	55
	Apêndice B – Caracterização da amostra.....	56
	Apêndice C – Resultados obtidos da marcação das ROIs.....	58

# Lista de Figuras

<b>Figura 1.1</b>	Concentração de ferro total (ng/mg tecidos moles) na SN, de diversos sujeitos saudáveis, em diferentes idades, resultante de um estudo pós-morte. Cada ponto no gráfico corresponde a um único sujeito. Entre os 16 e os 90 anos, a concentração de ferro manteve-se aproximadamente constante, entre os 109 e 199 ng/mg de ferro. Adaptado de [4].	2
<b>Figura 1.2</b>	Representação da precessão do átomo de hidrogénio. Adaptado de [13].	5
<b>Figura 1.3</b>	Representação da magnetização longitudinal (correspondente à componente no eixo Z) e da magnetização transversal (correspondente à componente no plano transversal), após a exposição do <i>spin</i> a radiação proveniente do impulso RF. Adaptado de [15].	5
<b>Figura 1.4</b>	Gráficos representativos da magnetização longitudinal e transversal. O T1 é definido como o tempo que a magnetização longitudinal demora a recuperar 63% do seu valor máximo. O T2 é definido como o tempo necessário para que a magnetização transversal decaia para 37% do seu valor máximo. Adaptado de [13].	7
<b>Figura 1.5</b>	Gráfico representativo do decaimento T2 e T2* com o FID. Adaptado de [16].	8
<b>Figura 1.6</b>	Efeito da presença de uma substância paramagnética num campo magnético. Adaptado de [13].	8
<b>Figura 1.7</b>	Exemplo de um estudo onde se adquiriu imagens respeitantes a 6 ecos. Adaptado de [17].	9
<b>Figura 1.8</b>	Exemplo ilustrativo de um decaimento exponencial para uma aquisição com 6 ecos.	9
<b>Figura 1.9</b>	Esquema da sequência eco de gradiente. Adaptado de [13].	10
<b>Figura 1.10</b>	Evolução da doença de Parkinson. À medida que a idade avança, a percentagem de neurónios dopaminérgicos vai diminuindo (linha verde). Em casos de sujeitos com DP idiopática (linha azul), com aparecimento da DP devido a causas ambientais ou genéticas (linha amarela), ou com aparecimento prematuro devido a	

possíveis mutações genéticas (linha vermelha), este decréscimo é consideravelmente mais acentuado. Adaptado de [20]. .....12

**Figura 1.11** A – Exemplo de uma secção axial do cérebro, evidenciando as regiões da SN compacta e SN reticular. B – Divisão da SN do hemisfério direito em RmedSNr (*Right medial SNr*), RlatSNr (*Right lateral SNr*), RmedSNc (*Right medial SNc*) e RlatSNc (*Right lateral SNc*). Representa-se de igual forma para o hemisfério esquerdo (left). C – Divisão da SN em regiões rostral, medial e caudal. Adaptado de [26,27]. .....13

**Figura 1.12** Representação das estruturas cerebrais relevantes no processo motor. Adaptado de [8]. .....14

**Figura 1.13** Representação de um corte axial do cérebro, evidenciando a diminuição da SN na Doença de Parkinson. Adaptado de [31]. .....14

**Figura 2.1** Representação gráfica das funções de probabilidade (P) em função dos valores de SNR de uma imagem de intensidade. Adaptado de [39]. .....21

**Figura 2.2** Representação gráfica dos valores médios estimados para T2\* com apresentação dos respectivos desvios padrão, utilizando os diferentes métodos estudados e variando o SNR entre 10 e 100 e sem simular a presença de *outliers*. .....24

**Figura 2.3** Representação gráfica das curvas de T2\*, utilizando os diferentes métodos estudados. Situação relativa a SNR=50. ....25

**Figura 3.1** Ilustração da interface gráfica desenvolvida, mostrando um exemplo de estudo de um indivíduo. ....30

**Figura 3.2** Representação da localização da SN, STN e RN (A) e a da divisão da SN em rostral e caudal (B). Adaptado de [7]. ....31

**Figura 3.3** Representação de um corte axial na parte dorsal (A) e na parte ventral (B), com a ilustração das ROIs na SN. Adaptado de [41]. ....32

**Figura 3.4** Exemplo da marcação das ROIs. Adaptado de [27]. ....32

**Figura 3.5** A – Exemplo de um indivíduo onde se observou ectasia dos espaços perivasculares na região da SN. B - Exemplo de um indivíduo onde não se observou ectasia dos espaços perivasculares na região da SN. ....34

**Figura 3.6** A - Corte axial nº14, onde se encontra evidenciado o núcleo rubro. B - Corte axial nº13, a partir do qual se efectuou o processamento do mapa de T2\*, na área delimitada com o rectângulo. C – Área da imagem onde se aplicou *zoom* de forma a se



delimitar as ROIs com maior precisão. D – Resultado do mapa de T2* gerado, com a respectiva barra de cores correspondendo aos valores de T2*.....	35
<b>Figura 3.7</b> Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNr, tendo sido obtido um valor de <i>p-value</i> de 0,34.....	38
<b>Figura 3.8</b> Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNm, tendo sido obtido um valor de <i>p-value</i> de 0,37.....	38
<b>Figura 3.9</b> Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNc, tendo sido obtido um valor de <i>p-value</i> de 0,75.....	39
<b>Figura 3.10</b> Representação gráfica da relação entre o score clínico de assimetria e a diferença do valor T2* entre lados, para a região SNm do grupo DP de novo.....	40
<b>Figura 3.11</b> Representação gráfica da correlação entre os valores de UPDRS total e os valores médios de T2*, para a região SNm do grupo DP de novo.....	41
<b>Figura 3.12</b> Representação gráfica da correlação entre os valores de UPDRS total e o somatório das diferenças de T2*, para a região da SN para o grupo DP de novo.....	42
<b>Figura 3.13</b> Representação gráfica da correlação entre a idade dos indivíduos com DP e a UPDRS total.....	43
<b>Figura 3.14</b> Representação gráfica da correlação entre a idade dos indivíduos com DP e o valor médio de T2*, para a região da SN para o grupo de indivíduos com DP.....	44



# Lista de Tabelas

<b>Tabela 2.1</b>	Apresentação dos valores da média de intensidade dos pixels, correspondentes à região da ROI, com o respectivo desvio padrão associado. Resultado das respectivas SNR, resultantes da divisão do valor da média pelo desvio padrão. A 1ª região corresponde à SN do lado direito e a 2ª região corresponde à SN do lado esquerdo.....	23
<b>Tabela 2.2</b>	Comparação do valor da média de T2* nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e sem presença de <i>outlier</i> .....	24
<b>Tabela 2.3</b>	Comparação do valor da média de T2* nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e presença de <i>outlier</i> no 6ºeco.....	25
<b>Tabela 2.4</b>	Comparação do valor da média de T2* nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e presença de <i>outlier</i> no 2º e 4º eco.....	26
<b>Tabela 3.1</b>	Tabela contendo o resumo dos dados dos indivíduos considerados no estudo.....	28
<b>Tabela 3.2</b>	Tabela contendo os parâmetros utilizados para obter as imagens em estudo.....	29
<b>Tabela 3.3</b>	Tabela contendo os valores das médias de T2* por regiões da SN, para os diferentes grupos.....	36
<b>Tabela 3.4</b>	Apresentação dos valores das médias de T2* para a região SNr, para os diferentes grupos.....	36
<b>Tabela 3.5</b>	Apresentação dos valores das médias de T2* para a região SNm, para os diferentes grupos.....	37
<b>Tabela 3.6</b>	Apresentação dos valores das médias de T2* para a região SNC, para os diferentes grupos.....	37
<b>Tabela 3.7</b>	Apresentação dos valores das médias de T2* para a SN, para os diferentes grupos.....	37
<b>Tabela 3.8</b>	Apresentação dos valores do <i>p-value</i> para as diferentes regiões da SN, considerando a média dos valores de T2* para a situação de análise bilateral, contralateral e ipsilateral.....	38

<b>Tabela 3.9</b>	Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e <i>p-value</i> para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos.....	40
<b>Tabela 3.10</b>	Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e <i>p-value</i> para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos.....	41
<b>Tabela 3.11</b>	Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e <i>p-value</i> para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos. Com o sinal * encontram-se as relações estatisticamente significativas ( <i>p-value</i> <0,05).....	42
<b>Tabela 3.12</b>	Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e <i>p-value</i> para o grupo de indivíduos com DP. O sinal * indica que a relação é estatisticamente significativa ( <i>p-value</i> <0,05).....	43
<b>Tabela 3.13</b>	Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e <i>p-value</i> para o grupo de indivíduos com DP.....	44

## Acrónimos e Siglas

DICOM	<i>Digital Imaging and Communication in Medicine</i>
DP	Doença de Parkinson
DTI	<i>Diffusion Tensor Imaging</i>
FID	<i>Free Induction Decay</i>
FOV	<i>Field of View</i>
GE	Eco de Gradiente
IRM	Imagem por Ressonância Magnética
RF	Radiofrequência
RM	Ressonância Magnética
ROI	<i>Region of Interest</i>
SN	<i>Substantia nigra</i>
SNR	Relação sinal-ruído
SWI	Imagens ponderadas em susceptibilidade
T1	Tempo de relaxação longitudinal
T2	Tempo de relaxação transversal
TE	Tempo de Eco
TR	Tempo de Repetição
UPDRS	<i>Unified Parkinson's Disease Rating Scale</i>



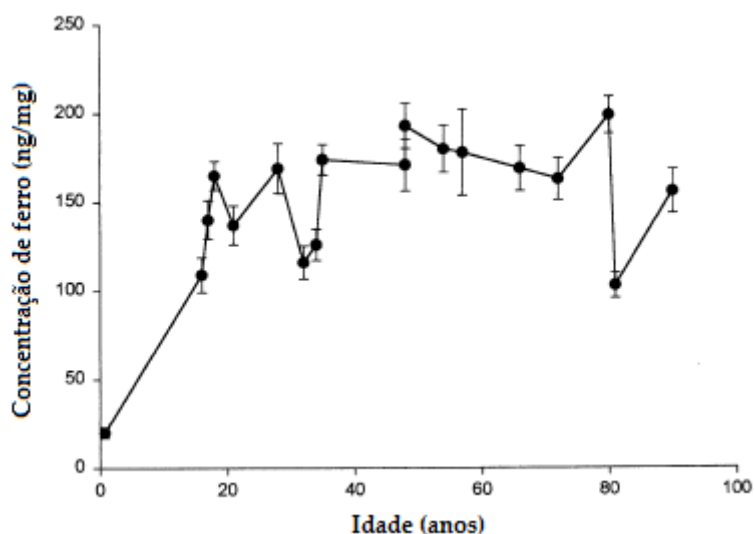


# Introdução

## 1.1 Enquadramento e Estado de Arte

Em diversos distúrbios neurodegenerativos, incluindo a doença de Parkinson (DP), parece haver uma perda dos mecanismos celulares que mantêm a homeostasia celular do ferro, e que são cruciais para a viabilidade dos neurónios. Esta perturbação da homeostasia pode levar à consequente acumulação excessiva de ferro no cérebro [1]. A libertação de ferro pode facilitar reacções oxidativas, levando a stress oxidativo e à neurodegeneração [2, 3].

Estes distúrbios no metabolismo ainda não são bem conhecidos, não se tendo ainda esclarecido se este aumento do conteúdo de ferro no cérebro é uma causa ou uma consequência da DP [4]. No caso da ausência de doenças neurodegenerativas, a concentração de ferro no cérebro parece manter-se relativamente estável ao longo da idade adulta (Figura 1.1).



**Figura 1.1** – Concentração de ferro total (ng/mg tecidos moles) na SN, de diversos sujeitos saudáveis, em diferentes idades, resultante de um estudo pós-morte. Cada ponto no gráfico corresponde a um único sujeito. Entre os 16 e os 90 anos, a concentração de ferro manteve-se aproximadamente constante, entre os 109 e 199 ng/mg de ferro. Adaptado de [4].

Contudo, em distúrbios neurodegenerativos, como a DP, a situação parece alterar-se. Estudos demonstram que na DP os níveis de ferro aumentam, principalmente em determinadas estruturas cerebrais [5, 6], como será abordado no subcapítulo 1.4.

A quantificação do conteúdo de ferro *in-vivo* tornou-se objecto de estudo, uma vez que uma alteração na sua concentração poderia indicar a presença de um distúrbio neurodegenerativo.

Nos últimos anos a técnica de Imagem por Ressonância Magnética (IRM) tem sido explorada de forma a estudar as alterações que ocorrem a nível cerebral, e que podem ser a chave para um melhor acompanhamento em diversas patologias. A relaxometria através de imagens ponderadas em T2\* é uma técnica em que se procede à medição de constantes características dos processos de relaxação. Uma vez que a presença de ferro afecta o campo magnético local, estas medições poderiam levar a conclusões indirectas sobre o conteúdo de ferro nos tecidos. Diversos estudos têm seguido esta abordagem, no entanto, as suas conclusões têm sido contraditórias. Alguns grupos de investigadores encontraram evidências de diferenças nos valores de T2\* com o surgimento da DP [7-9], enquanto que outros não identificaram quaisquer



variações [10]. No que diz respeito ao estágio da doença em que foram detectadas essas diferenças, nalguns estudos foram mais evidente na fase inicial da doença [9], enquanto que noutros a variação pareceu reflectir a progressão da doença, sugerindo que a constante de  $T2^*$  poderia ser um bom marcador para a avaliação da evolução da doença [7].

O presente dissertação ocorreu no âmbito de uma parceria entre o Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica (IBEB) e o Hospital de Santa Maria (HSM). O objectivo foi desenvolver um programa com interface gráfica que permitisse a medição da constante  $T2^*$  de uma forma prática, aplicável na clínica, e utilizá-lo num conjunto de imagens para comparar valores da constante de  $T2^*$  em determinadas regiões cerebrais, entre grupos de indivíduos com DP e controlos. Foram incluídos dois grupos de pacientes em diferentes fases da doença. Pretendia-se investigar se haveria variação do valor de  $T2^*$  relativamente ao grupo de controlo e se esta aconteceria sobretudo na fase inicial da doença ou se ocorreria de forma contínua à medida que a doença evolui. Será então discutida a hipótese desta abordagem ser utilizada em ambiente clínico, constituindo uma ferramenta no auxílio ao diagnóstico da DP, em especial em fases precoces de doença.

## 1.2 Estrutura da tese

Esta dissertação encontra-se dividida em 4 capítulos.

Primeiramente, no subcapítulo 1.1, é apresentado o estado de arte, explicando-se a motivação do trabalho e apresentando-se a pesquisa adjacente.

No subcapítulo 1.3 são explicados conceitos teóricos relativos à Imagem por Ressonância Magnética e à Relaxometria. A descrição da Doença de Parkinson, focando os tópicos essenciais para a percepção do trabalho, é abordada no subcapítulo 1.4.

De seguida, no Capítulo 2 é apresentado um estudo que se realizou utilizando simulações computacionais, com vista a determinar o método mais robusto a ser aplicado no cálculo do valor de  $T2^*$ . É apresentada a metodologia utilizada, bem como os resultados obtidos.

O Capítulo 3 incide num estudo *in-vivo*, onde o objectivo é a determinação da constante  $T2^*$  produzindo mapas quantitativos, para os diferentes indivíduos em

estudo. À semelhança do Capítulo 2, são descritos a metodologia e os resultados obtidos.

Por último, o Capítulo 4 é reservado à apresentação de conclusões e trabalho futuro.

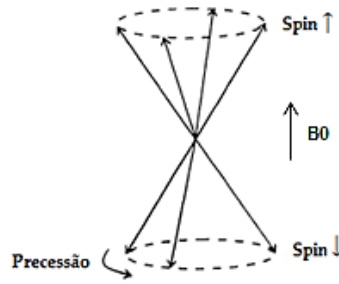
## 1.3 Imagem por Ressonância Magnética

A Ressonância Magnética (RM) é uma técnica de obtenção de imagens, que permite estudar propriedades dos tecidos, tendo uma vasta aplicação na área da Medicina, Engenharia e Biologia. Os exames de RM são realizados através de um equipamento específico, e exigem complexas técnicas de aquisição e processamento. Em 1977 foi publicada a primeira imagem de RM de corpo inteiro, e no princípio de 1980s já estavam disponíveis aparelhos de RM em hospitais [11]. A técnica de IRM revolucionou o diagnóstico médico, uma vez que é uma técnica não-invasiva, e ao contrário de outras técnicas, não utiliza radiação ionizante [12].

Pretende-se neste subcapítulo fazer uma breve abordagem aos conceitos teóricos relevantes para compreender o tema em estudo.

### 1.3.1 Princípios de Ressonância Magnética

Os princípios de RM são baseados no *spin* nuclear dos átomos. Em RM utiliza-se em geral o núcleo de hidrogénio [13], pois contém um único protão e é o elemento mais abundante no corpo humano, presente nas moléculas de água e gordura. Cada *spin* contém um pequeno campo magnético associado, resultando num vector de magnetização. Normalmente, a direcção do eixo em redor do qual os *spins* precessam é aleatória no espaço, sendo a magnetização total, quando se considera o conjunto de núcleos nos tecidos, nula. Mas quando sujeitos a um campo magnético externo ( $B_0$ ), os *spins* alinham-se com este campo, e passam a ter duas orientações possíveis: paralela ( $n\uparrow$ ) ou anti-paralela ( $n\downarrow$ ) (Figura 1.2).

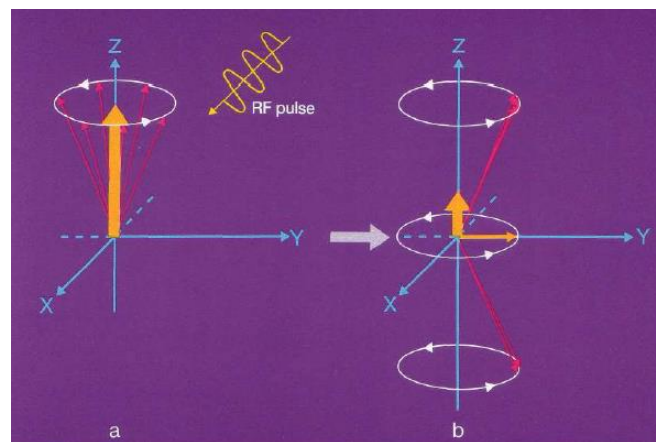


**Figura 1.2** – Representação da precessão do átomo de hidrogénio. Adaptado de [13].

A relação entre a frequência de precessão ( $\omega_0$ ), (frequência à qual os núcleos precessam), a intensidade do campo magnético externo ( $B_0$ ) e a razão giromagnética ( $\gamma$ ) (característica de cada elemento) é dada pela equação de Larmor (Equação 1.1):

$$\omega_0 = B_0 \times \gamma \quad \text{Equação 1.1}$$

A ressonância é um fenómeno que ocorre quando um objecto é exposto a uma perturbação oscilatória, que tem uma frequência próxima da sua frequência natural de oscilação. Nesta situação, quando os *spins* são submetidos a radiação electromagnética com a frequência apropriada, ocorre o fenómeno de excitação, sendo absorvida energia por parte do núcleo. Desta forma aumenta o número de núcleos com estado de energia mais alta (anti-paralelos) [14] (Figura 1.3 b). Para valores de  $B_0$  na ordem do Tesla tal como geralmente utilizado em equipamentos de RM, a energia da frequência de precessão do hidrogénio corresponde à banda de radiofrequência (RF) do espectro electromagnético.



**Figura 1.3** – Representação da magnetização longitudinal (correspondente à componente no eixo Z) e da magnetização transversal (correspondente à componente no plano transversal), após a exposição do *spin* a radiação proveniente do impulso RF. Adaptado de [15].

Como consequência da ressonância, o vector de magnetização total - *Net magnetisation vector* (NMV) - desalinha-se da orientação do campo magnético B0. Este vector possui duas componentes ortogonais: a componente longitudinal, que corresponde ao eixo Z e a componente transversal, que corresponde ao plano XY. O ângulo entre estas duas direcções chama-se ângulo de nutação.

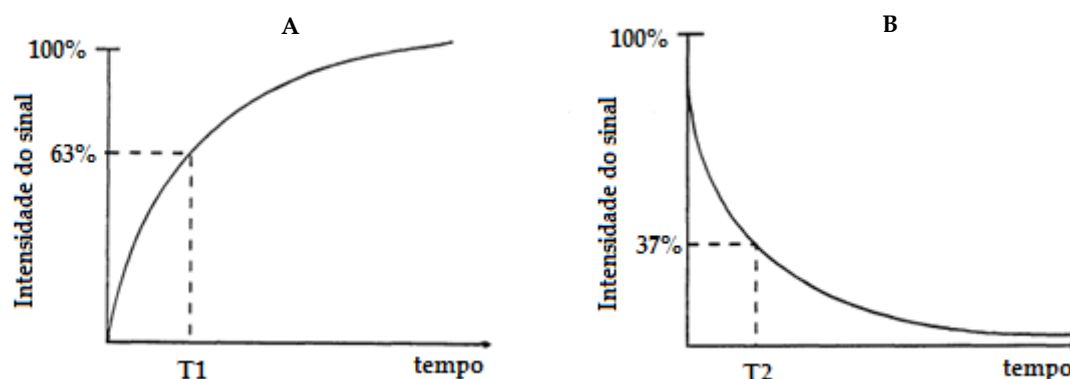
A alteração do NMV produz variações no campo magnético detectadas por antenas colocadas no plano transversal, e assim uma corrente é induzida resultando num sinal captado pelo aparelho de RM.

Quando o impulso de RF é desligado, o NMV volta a alinhar-se com o campo B0. O NMV perde assim energia, voltando ao estado de equilíbrio, e a este processo chama-se processo de relaxação (recordando a Figura 1.3 a). Os *spins* transitam do estado de maior energia para o de menor energia, havendo libertação de energia para o meio, ocorrendo a recuperação da magnetização longitudinal, caracterizada pelo tempo de relaxação spin/rede ou T1. Após a aplicação de um impulso de 90° que coloque o NMV no plano transversal, a sua componente longitudinal é nula, recuperando o seu valor de equilíbrio M<sub>0</sub> de acordo com a Equação 1.2. Esta constante de tempo corresponde ao tempo que a magnetização longitudinal demora a recuperar 63% do seu valor máximo (Figura 1.4 A).

$$M_z = M_0(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}) \quad \text{Equação 1.2}$$

Quando é desligado o impulso de RF existe uma perda gradual de fase nos *spins*, ocorrendo o decaimento da magnetização transversal, caracterizado pelo tempo de relaxação spin/spin ou T2 (Equação 1.3). Esta constante de tempo corresponde ao tempo que a magnetização transversal demora a perder 37% do seu valor máximo (Figura 1.4 B).

$$M_{xy} = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \quad \text{Equação 1.3}$$



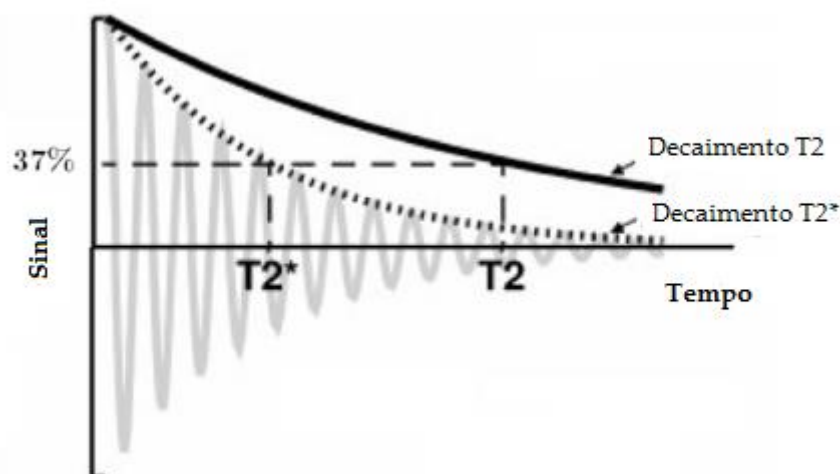
**Figura 1.4** – Gráficos representativos da magnetização longitudinal e transversal. A - O T1 é definido como o tempo que a magnetização longitudinal demora a recuperar 63% do seu valor máximo. B - O T2 é definido como o tempo necessário para que a magnetização transversal decaia para 37% do seu valor máximo. Adaptado de [13].

Os tempos de relaxação T1 e T2 são característicos de cada tecido. Modificando o tipo de sequência utilizada para adquirir as imagens é possível manipular o contraste das mesmas o que permite distinguir visualmente numa IRM diferentes tecidos.

Devido a variações temporais da magnetização transversal é possível medir o sinal eléctrico obtido. Se o campo magnético B0 aplicado fosse uniforme, o sinal decaia então com o tempo de relaxação T2. No entanto, o campo magnético aplicado apresenta heterogeneidades no espaço, contribuindo também desta forma, para acelerar o decaimento da magnetização transversal. O sinal vai então decair de uma forma mais acentuada, com um tempo de relaxação T2\* (Figura 1.5). A indução da perda de sinal chama-se *Free Induction Decay* (FID). A Equação 1.4 mostra a relação entre T2\* com T2 e T2':

$$\frac{1}{T2^*} = \frac{1}{T2} + \frac{1}{T2'} \quad \text{Equação 1.4}$$

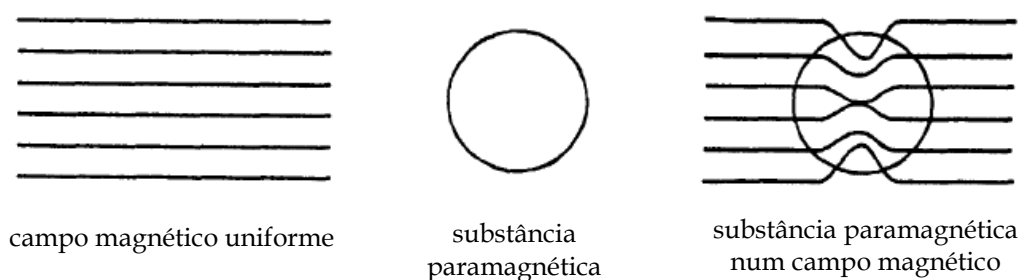
onde T2' é o tempo de relaxação devido às heterogeneidades de campo, e T2 resulta de propriedades intrínsecas dos tecidos.



**Figura 1.5** – Gráfico representativo do decaimento T2 e T2\* com o FID. Adaptado de [16].

O decaimento mais rápido de T2\* é causado por heterogeneidades do campo magnético, provenientes da diferença de susceptibilidade entre tecidos, que levam a um aceleração do decaimento do sinal.

As heterogeneidades do campo magnético podem ser macroscópicas (constante ao longo de um *voxel*) ou microscópicas (variando na escala do *voxel*). A falta de homogeneidade a nível macroscópico pode ser causada por interfaces ar-tecido ou por implantes metálicos. A falta de homogeneidade a nível microscópico pode ser devida a agentes de contraste paramagnéticos ou depósitos de ferro (Figura 1.6). Desta forma o estudo do decaimento de T2\* pode revelar variações no conteúdo de ferro *in-vivo*.



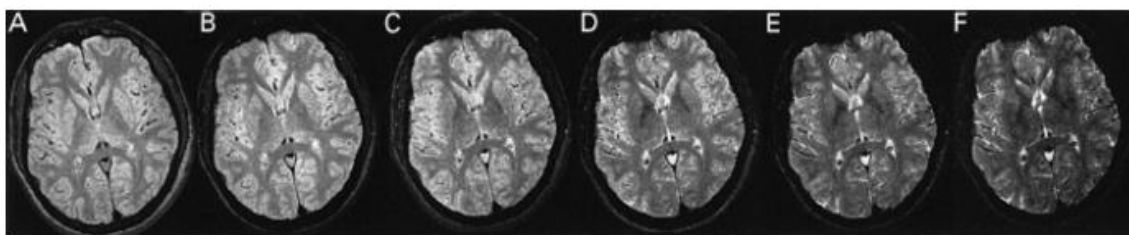
**Figura 1.6** – Efeito da presença de uma substância paramagnética num campo magnético. Adaptado de [13].

De salientar que a relação  $T1 > T2 > T2^*$  aplica-se a todos os tecidos.

### 1.3.2 Relaxometria

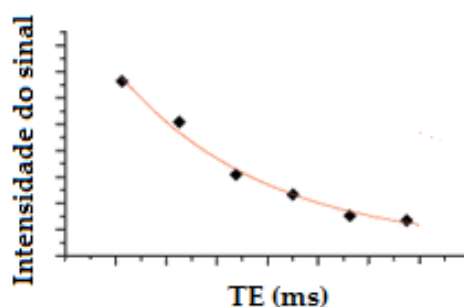
O uso da técnica de IRM quantitativa (qIRM) tem suscitado interesse ao nível da investigação. A relaxometria combina as técnicas de aquisição e análise para estimar as constantes de tempo de relaxação, que reflectem características específicas dos tecidos. Dada a sua sensibilidade a alterações na microestrutura dos tecidos, a relaxação em  $T2^*$  pode fornecer, neste caso de estudo, uma ferramenta útil no estudo da DP.

É possível a construção de mapas da distribuição dos tempos de relaxação  $T2^*$ . Para tal, a aquisição de imagens é realizada para múltiplos tempos de eco (TE) (Figura 1.7). O número de ecos pode variar consoante os protocolos de aquisição, no entanto há que se proceder a um compromisso: quanto maior for o número de ecos melhor será à partida o ajuste matemático da curva de decaimento, mas maior será o tempo de aquisição das imagens. Por outro lado convém garantir que as imagens adquiridas com TE mais longos possuem uma relação sinal-ruído (SNR) suficiente, uma vez que a SNR diminui à medida que o TE aumenta.



**Figura 1.7** – Exemplo de um estudo onde se adquiriu imagens respeitantes a 6 ecos. Adaptado de [17].

Para cada TE tem-se um valor de intensidade do sinal (Figura 1.8), relativo a cada *pixel*. A partir desses pontos, obtém-se um decaimento exponencial, sendo retirado daí a constante  $T2^*$ . É realizada uma análise *pixel-a-pixel* percorrendo toda a imagem, para cada corte, de modo a obter os mapas de  $T2^*$ .



**Figura 1.8** – Exemplo ilustrativo de um decaimento exponencial para uma aquisição com 6 ecos.

Uma das hipóteses para estimar esse valor é obter uma aproximação através de um modelo linear [5], utilizando a Equação 1.5:

$$S_i = S_0 e^{-TE_i/T2^*} \Rightarrow \ln(S_i) = \ln(S_0) - \frac{TE_i}{T2^*} \quad \text{Equação 1.5}$$

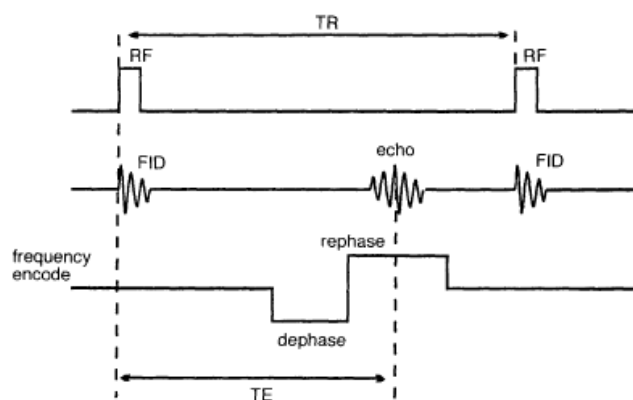
onde  $S_0$  é o sinal de equilíbrio e  $S_i$  é o sinal obtido para o TE número  $i$  ( $TE_i$ ).

Desta forma, poder-se-ia obter o valor de  $T2^*$  de duas formas: através de um ajuste linear ou não-linear. Este tema será explorado no Capítulo 2.1.

De seguida será feita referência a um tipo de sequência de impulsos, o eco de gradiente, que é utilizada para a obtenção de imagens ponderadas em  $T2^*$ .

### 1.3.3 Sequências de impulsos – Eco de Gradiente

Uma sequência é uma combinação de impulsos de radiofrequência (RF) e de gradientes de campo magnético. O eco de gradiente (GE) é uma classe de sequência de impulsos utilizada em imagem rápida [18]. É utilizada em volumes de imagens 3D e outras aplicações que necessitem de rápida aquisição. A Figura 1.9 mostra um típico diagrama de impulsos para uma sequência de eco de gradiente.



**Figura 1.9** – Esquema da sequência eco de gradiente. Adaptado de [13].

O tempo de eco (TE) é o intervalo de tempo que decorre entre a aplicação do impulso inicial de RF e o eco. O tempo de repetição (TR) é o intervalo de tempo que



decorre entre dois impulsos consecutivos de RF. As aquisições GE são rápidas pois o ângulo de nutação do impulso de excitação é normalmente menor do que  $90^\circ$ , resultando numa recuperação mais rápida da magnetização longitudinal, que permite um TR/TE mais baixo, diminuindo o tempo de aquisição.

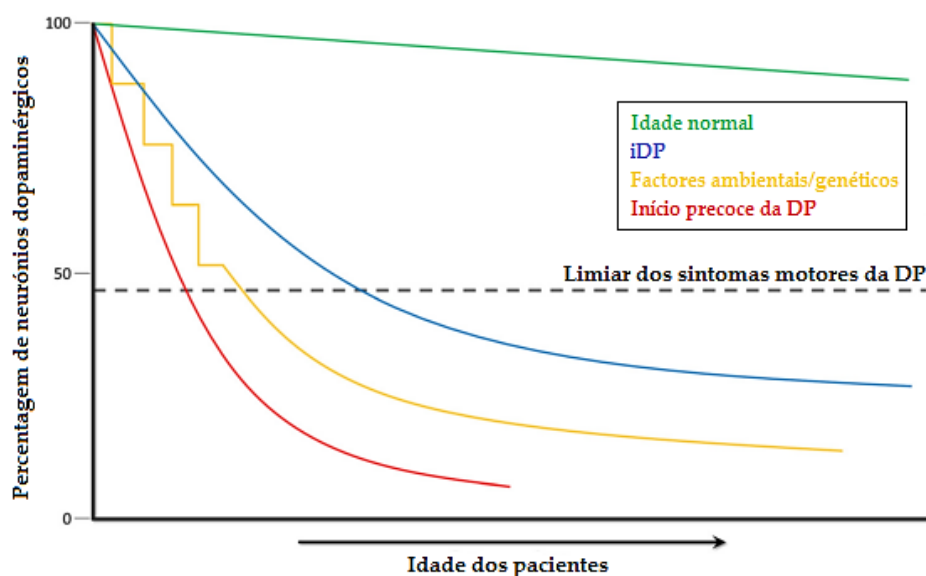
Embora a ponderação em T2\* seja vantajosa para algumas aplicações, pode haver artefactos devido à perda de sinal. Por exemplo, as imagens de eco de gradiente são mais susceptíveis à perda de sinal do que as de eco de *spin*, particularmente em localizações próximas de implantes metálicos. Ou seja, são mais susceptíveis a heterogeneidades do campo magnético e a variações na susceptibilidade magnética. Por sua vez, as aquisições de eco de *spin* permitem a aquisição de imagens ponderadas em T2, sendo utilizado um impulso de excitação com um ângulo de  $90^\circ$ , seguido por um de  $180^\circ$ .

Variando os parâmetros de aquisição TR e TE, a sequência de GE pode ser utilizada para obter imagens ponderadas em T2\*, T1 ou densidade protónica.

## 1.4 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson é uma doença neurodegenerativa, causada pela degeneração dos neurónios dopaminérgicos. Uma das funções destes neurónios é produzir dopamina, um neurotransmissor que tem um papel fundamental nas acções motoras, de comportamento e cognitivas [19], produzido pela *substantia nigra* (SN), localizada na base do mesencéfalo, sendo portanto o principal local de degeneração celular. Tipicamente a DP tem maior prevalência em sujeitos com idade avançada, estando a idade média de aparecimento da doença acima dos 60 anos.

As causas da doença são ainda desconhecidas. Contudo sabe-se que existem factores ambientais, como a exposição a toxinas que, associados a uma maior predisposição genética do indivíduo, podem promover a expressão da doença. Podem ocorrer também mutações em inúmeros genes que se associam ao desenvolvimento da doença [20] (Figura 1.10).



**Figura 1.10** – Evolução da doença de Parkinson. À medida que a idade avança, a percentagem de neurónios dopaminérgicos vai diminuindo (linha verde). Em casos de sujeitos com DP idiopática (linha azul), com aparecimento da DP devido a causas ambientais ou genéticas (linha amarela), ou com aparecimento prematuro devido a possíveis mutações genéticas (linha vermelha), este decréscimo é consideravelmente mais acentuado. Adaptado de [20].

Relativamente aos sintomas da doença, estes podem ser motores, como o tremor, bradicinesia (que se caracteriza pela diminuição da rapidez dos movimentos), rigidez muscular, instabilidade postural, mas também sintomas não motores, como demência, distúrbios de sono, depressão e alucinações [21]. De referir que nem todos estes sintomas são manifestados em doentes com DP, variando de caso para caso. Esta doença tem manifestações motoras caracteristicamente assimétricas, sendo usualmente um lado do corpo mais afectado que o outro, persistindo esta assimetria ao longo da doença [22].

De forma a quantificar a gravidade da patologia, foi criada uma escala – UPDRS (*Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) – [23], que é actualmente a escala mais utilizada na prática clínica, permitindo aos médicos e investigadores acompanhar a progressão da doença. O resultado é obtido com base na análise de vários pontos: actividade mental, comportamento e humor (Parte I); actividades do dia-a-dia (Parte II); exame motor (Parte III); outras complicações (Parte IV).

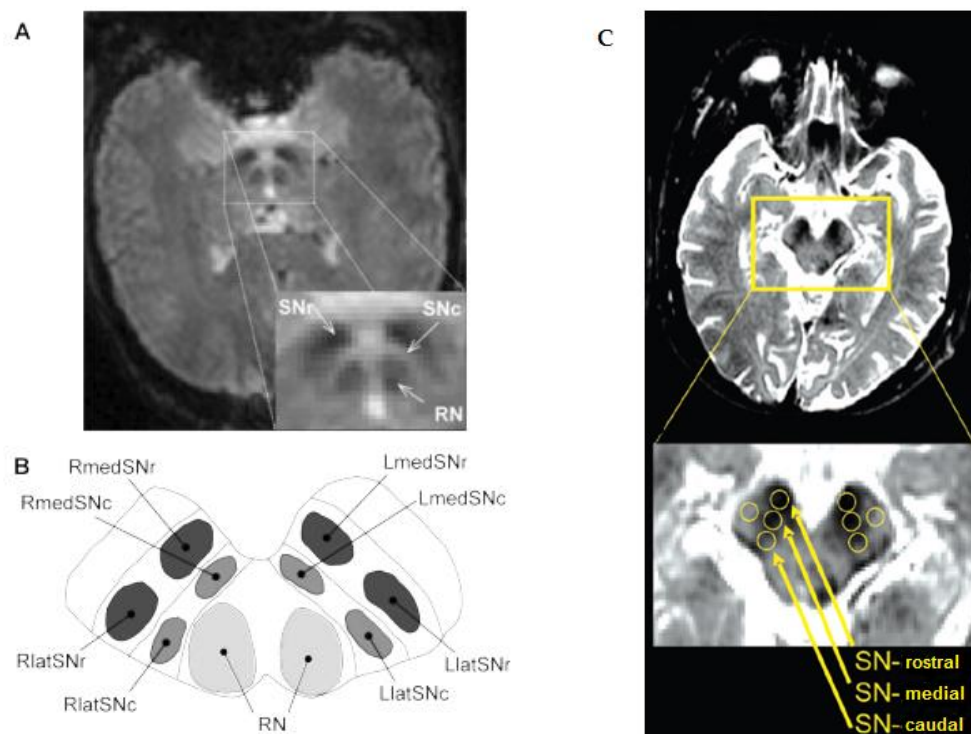
Presentemente o diagnóstico baseia-se em critérios clínicos, sendo contudo difícil em fases muito precoces de doença, em que pode ser difícil o diagnóstico diferencial nomeadamente com síndromas parkinsonícos atípicos. Surge assim a necessidade de investigar biomarcadores de imagem que auxiliem no diagnóstico precoce da DP.

### 1.4.1 O ferro e as estruturas cerebrais

O ferro é um elemento presente no cérebro humano com propriedades paramagnéticas, contudo, existem iões no cérebro que também possuem estas propriedades, como o cobre ( $\text{Cu}^{2+}$ ) e o manganésio ( $\text{Mn}^{2+}$ ). No entanto, alguns estudos referem que as concentrações destes iões não são suficientes para produzir suficiente contraste de forma a serem detectáveis em imagens de IRM [24].

O ferro pode encontrar-se na forma  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ . Sofic *et. al* [25] encontraram diferenças significativas, num estudo *post-mortem*, entre indivíduos com DP. Foi descrito um aumento de 176% nos níveis de ferro total (soma de  $\text{Fe}^{2+}$  e  $\text{Fe}^{3+}$ ), na *substantia nigra*, sendo o maior aumento da forma  $\text{Fe}^{3+}$ , que sofreu um aumento de 255%.

A SN situa-se no mesencéfalo, dividindo-se principalmente em duas porções: compacta e reticular. (Figura 1.11 A e B). Também se pode considerar a divisão em SN rostral, medial e caudal (Figura 1.11 C).



**Figura 1.11** - **A** - Exemplo de uma secção axial do cérebro, evidenciando as regiões da SN compacta e SN reticular. **B** - Divisão da SN do hemisfério direito em RmedSNr (*Right medial SNr*), RlatSNr (*Right lateral SNr*), RmedSNC (*Right medial SNC*) e RlatSNC (*Right lateral SNC*). Representa-se de igual forma para o hemisfério esquerdo (left). **C** - Divisão da SN em regiões rostral, medial e caudal. Adaptado de [26, 27].

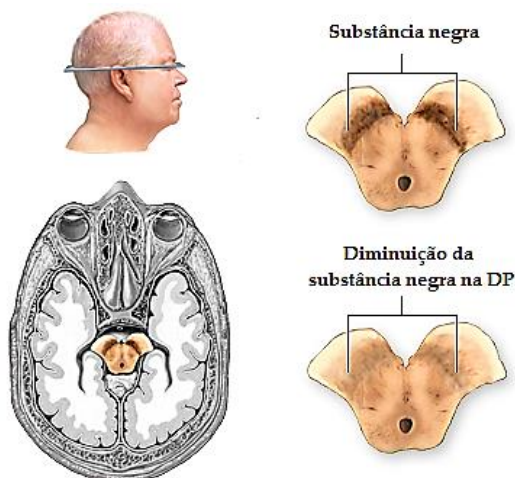
Estudos histopatológicos demonstraram que aproximadamente 90% das células dopaminérgicas é perdida na região caudal da SN, enquanto que na região rostral a perda é de aproximadamente 50% [28].

Para além da SN, outras estruturas como o globo pálido, putamen, núcleo caudado e o núcleo rubro também estão envolvidas no controlo dos movimentos (Figura 1.12). As maiores concentrações de ferro cerebrais (superiores a 200  $\mu\text{g/g}$  tecidos moles) estão presentes no globo pálido, putamen e núcleo rubro e SN, segundo estudos *post-mortem* [24, 29].



**Figura 1.12** – Representação das estruturas cerebrais relevantes no processo motor. Adaptado de [8].

Tem sido estudada a possibilidade de avaliar o diagnóstico da DP através da análise das imagens de IRM, pois como já foi referido anteriormente, os níveis de ferro aumentam no interior da SN, ao contrário do volume da SN que diminui [8, 30] (Figura 1.13).



**Figura 1.13** – Representação de um corte axial do cérebro, evidenciando a diminuição da SN na Doença de Parkinson. Adaptado de [31].

Esta análise *in-vivo* da quantificação de depósitos de ferro pode ser feita através de um parâmetro biológico da IRM, o tempo de relaxação  $T2^*$ , como já referido anteriormente. No entanto, outras formas poderão auxiliar o diagnóstico da DP, baseando-se na IRM, como será abordado no subcapítulo seguinte.

## 1.5 Aplicações da IRM ao estudo da DP

Um biomarcador é definido como “uma característica que pode ser objectivamente medida e avaliada como um indicador do processo biológico, patológico e de resposta a uma intervenção terapêutica” [21]. É assim útil tanto para auxiliar o diagnóstico, como para avaliar a eficiência da terapêutica em estudo.

No estudo da DP têm sido utilizados biomarcadores clínicos, nomeadamente através de exames que avaliam alterações na parte estrutural, como técnicas de RM, incluindo técnicas convencionais de IRM e outras tais como DTI (*Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging*) [32]. A DTI é uma modalidade que tem por base o movimento de difusão das moléculas de água (magnitude e anisotropia), possibilitando retirar conclusões sobre a orientação e integridade das estruturas cerebrais.

Uma das particularidades da IRM consiste na sua versatilidade. Existem diversas sequências de aquisição de imagens, e cada uma permite a visualização de estruturas/problemas diferentes.

Como foi referido anteriormente, o ferro tem sido descrito como um elemento importante nos processos neurodegenerativos, sendo este trabalho centrado na técnica de relaxometria com imagens ponderadas em  $T2^*$  para estudar este efeito. No entanto, técnicas utilizando imagens ponderadas em susceptibilidade (SWI) também têm sido exploradas [33]. Esta modalidade combina a informação das imagens de intensidade do sinal de RM com a sua fase, sensível a diferenças locais em susceptibilidade magnética.

Num estudo realizado por Rossi *et. al* [34] compararam-se sequências para o mapeamento de  $T2^*$  e SWI, tendo-se concluído que o método de quantificação através de mapas de  $T2^*$  era preferível, uma vez que conferia um melhor contraste entre estruturas.

A relaxometria através da quantificação da constante T2 foi uma técnica também utilizada por alguns investigadores para a quantificação de ferro [35]. No entanto a aquisição das imagens de T2 é mais demorada, uma vez que a sequência é mais longa. Por outro lado, os métodos de quantificação através de T2\* parecem ser mais sensíveis à concentração de ferro, uma vez que esta afecta a heterogeneidade do campo magnético [6].

Como já tinha sido referido, a técnica de DTI poderia ser utilizada também como um biomarcador para a DP. Num estudo combinado de R2\* (equivalente a  $1/T2^*$ ) e DTI (através da FA (*Fractional Anisotropy*)) realizado por Du *et. al* [7], é sugerido que o R2\* seria um bom marcador quantitativo da progressão da doença, enquanto que a análise do DTI poderia permitir detectar mudanças patológicas precoces. Nesse estudo registou-se um aumento de R2\* na SN caudal e rostral, nos estados médio e avançado da doença, havendo também uma boa correlação com a pontuação UPDRS [7].

Outro estudo realizado por Péran *et. al* [8] tentou combinar 3 biomarcadores, T1, T2\* e FA, tendo sido conseguida uma precisão de 95% na separação de doentes com DP e voluntários saudáveis.

Um aspecto que foi tido em conta nos estudos referidos foi a assimetria da doença. Alguns focaram apenas o lado mais afectado do cérebro [36], enquanto que outros retiraram dados para os dois hemisférios [8].

Analisar a variação de volume na SN também se mostrou útil no estudo da DP, tendo sido registada uma diminuição deste volume com o aparecimento da doença [8, 30].



## Simulações

Antes de se realizar o estudo *in-vivo*, relativo à análise das imagens cerebrais de IRM de diversos indivíduos, abordado no Capítulo 3, realizou-se primeiramente um estudo com o objectivo de comparar diferentes algoritmos para a estimativa de  $T2^*$ . Será apresentada a metodologia e os respectivos resultados obtidos. No **Apêndice A** encontra-se um *poster* apresentado em Abril de 2013, na “Poster Session” do workshop “5th Workshop on Biomedical Engineering”, no âmbito do tema explorado neste capítulo da dissertação.

### 2.1 Comparação de algoritmos para estimativa de $T2^*$

Como foi explicado nos fundamentos teóricos, existem diversas abordagens para obter os mapas quantitativos de  $T2^*$ .

Desta forma, um ponto importante será analisar o melhor método para obter os mapas. Realizou-se assim um estudo de forma a comparar diferentes algoritmos para a estimativa do  $T2^*$ , através de simulações no software *Matlab*.

O decaimento exponencial ao longo dos vários ecos é dado pela Equação 2.1:

$$S_i = S_0 e^{-TE_i/T2^*} \Leftrightarrow \ln(S_i) = \ln(S_0) - \frac{TE_i}{T2^*} \quad \text{Equação 2.1}$$

De forma a estimar o valor de  $T2^*$ , pode-se fazer o ajuste à curva segundo dois tipos de métodos: métodos não-lineares, utilizando a forma exponencial, ou métodos lineares. Para cada um destes métodos, existe uma abordagem com ponderações iterativas ou não iterativas. Consoante o tipo de método escolhido, a ponderação ou peso dado a cada ponto no ajuste é ajustável ou não.

### 2.1.1 Métodos de ajuste com ponderação não-iterativa

Consideremos um **modelo linear** a ajustar:

$$f(x) = bx + a$$

Sabe-se que o resíduo  $r_i$  é definido como a diferença entre o valor obtido  $y_i$  e o valor esperado  $f(x_i)$ , na observação  $i$ :

$$r_i = y_i - f(x_i)$$

Um dos métodos mais utilizados é o algoritmo *Least squares minimization algorithm*. Este algoritmo procura a solução que minimiza a soma do quadrado dos resíduos, ou seja,  $S$  na equação abaixo. De forma a resolver a equação, escreve-se  $S$  como um sistema de equações lineares de duas variáveis desconhecidas,  $b$  e  $a$  (Equação 2.2):

$$S = \sum_{i=1}^n (y_i - (bx_i + a))^2 \quad \text{Equação 2.2}$$

Derivando a expressão para determinar os valores das variáveis correspondentes ao seu mínimo, obtém-se:

$$b = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}$$

Utilizando o valor de  $b$ , tem-se:

$$a = \frac{1}{n} \left( \sum y_i - b \sum x_i \right)$$



Aplicando este método para estimar  $T2^*$ , o valor de  $b$  corresponderia a  $1/T2^*$ ,  $y_i$  a  $\ln(S_i)$ ,  $x_i$  à variável  $TE_i$  e a variável  $a$  corresponderia a  $\ln(S_0)$ , fazendo a correspondência com a Equação 2.1.

Na **abordagem não linear**, dado um conjunto de  $n$  dados de variáveis independentes e dependentes  $(x_i, y_i)$ , o algoritmo encontra os parâmetros  $b$  do modelo  $f(x, b)$ , de forma a que a soma dos quadrados dos resíduos seja mínima (Equação 2.3).

$$\min \sum_{i=1}^n [y_i - f(x_i, b)]^2 \quad \text{Equação 2.3}$$

em que  $y_i$  corresponde a  $S_i$ , o modelo  $f$  corresponde no problema em estudo a  $S_0 \exp(-TE_i/T2^*)$ , sendo  $x_i$  a variável  $TE_i$  e  $b$  a variável  $1/T2^*$ , fazendo a correspondência com a Equação 2.1.

Os algoritmos não-lineares são mais complexos do que os lineares, porque os coeficientes do modelo não podem ser estimados por técnicas matriciais simples. É então utilizada uma aproximação iterativa.

Este modelo pode ser aplicado através do algoritmo *Trust-region-reflective*, utilizado na função do *Matlab* - *lsqcurvefit*. Supondo que se pretende minimizar a função de custo  $g(x)$  e que se toma inicialmente um ponto  $x$  no espaço, e que se quer deslocar para um ponto com um menor valor de  $g(x)$ . O que este algoritmo faz é definir uma região de confiança na vizinhança de  $x$ , com um determinado raio  $N$ . Se o valor da função  $g(x)$  noutro ponto for menor que o valor inicial, então diminuimos a região de confiança (valor de  $N$ ), em torno do novo ponto  $x$ . Vai-se ajustando o valor de  $x$ , num processo iterativo, até que se encontre um mínimo da função  $g(x)$ .

### 2.1.2 Métodos de ajuste com ponderação iterativa

Um outro método é o *iteratively reweighted least squares* (IRLS). A principal diferença deste método para o referido anteriormente, é que enquanto o anterior atribuiu “pesos” iguais para todos os pontos, este estima um peso específico para cada ponto, consoante os resíduos absolutos (diferença entre o valor esperado e o obtido).

Este é um processo iterativo, em que os pesos são recalculados em cada iteração e o processo é repetido até que convirja. Desta forma, aos pontos com valores de resíduos absolutos mais baixos, são atribuídos “pesos” maiores do que os que obtiveram valores de resíduos absolutos mais elevados.

Esta é uma estratégia que por um lado não exclui nenhum ponto do ajuste, mas também não atribuiu a mesma importância a todos eles. O objectivo é diminuir o impacto no ajuste de potenciais *outliers*, mas tem a desvantagem de poder ser uma abordagem mais demorada.

No método *Least-squares* o valor da contribuição de cada resíduo é dado por:

$$\omega(r_i) = 1$$

No método *iteratively reweighted least squares* o valor dessa contribuição é variável e ajustado iterativamente. Adaptando a equação 2.2, tem-se desta forma a influência de um peso  $\omega$ :

$$s = \sum_{i=1}^n \omega(r_i) = \sum_{i=1}^n \omega(y_i - x_i B)$$

onde a função  $\omega$  atribuiu uma contribuição relativa a cada ponto  $i$ , determinada pelo seu resíduo.

Os parâmetros são assim ajustados até o ajuste convergir.

Caso se trate da abordagem não-linear, segue-se uma metodologia semelhante, adaptada ao modelo não-linear.

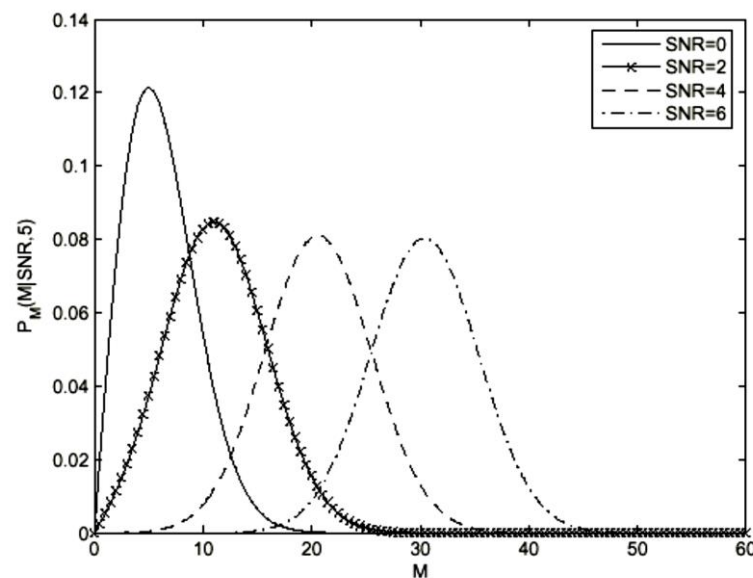
Os algoritmos descritos estão de acordo a documentação do *Matlab*, presentes no site da *Mathworks* [37].

## 2.2 Metodologia

De forma a determinar qual o método mais adequado para ser aplicado no processamento dos mapas de T2\* na clínica, procurou-se investigar qual seria o mais

robusto em relação à adição de ruído e à presença de *outliers*. Na metodologia seguida decidiu-se investigar a influência destes factores, uma vez que as imagens de IRM têm tipicamente ruído associado, e verificou-se através de alguns exemplos (de ajuste à curva exponencial para obter a constante de  $T2^*$ ) obtidos através de imagens reais que existiam *outliers* em alguns pontos.

A SNR define-se como a relação sinal-ruído. Quanto maior for o valor de SNR, menores as flutuações observadas no sinal devido à presença de ruído e vice-versa. De forma a estudar o impacto da SNR adicionou-se ruído nas simulações. Para tal assumiu-se que o ruído em imagens de IRM é descrito por uma distribuição de Rice [38]. Para valores elevados de SNR a distribuição de Rice aproxima-se da distribuição Gaussiana (Figura 2.1). A razão pela qual a distribuição Gaussiana não é adequada para descrever o ruído associado ao sinal de IRM reside no facto de que poderia levar a que o sinal de IRM assumisse valores negativos para baixos valores de SNR, enquanto a intensidade de sinal das imagens de RM toma apenas valores positivos. Desta forma utilizou-se nas simulações a distribuição de Rice, adicionando-se ruído às componentes real e imaginária do sinal, antes de se calcular a sua intensidade. O ruído foi gerado de forma aleatória, através de uma rotina de gerador de números aleatórios do *Matlab* (*random*).



**Figura 2.1** – Representação gráfica das funções de probabilidade ( $P$ ) em função dos valores de SNR de uma imagem de intensidade. Adaptado de [39].

Simulou-se 1000 repetições para cada valor de SNR e variou-se o SNR entre 10 e 100, em intervalos de 10.

Nas simulações assumiu-se um valor pré-definido de  $T2^* = 40$  ms (*true value*), pois encontrava-se dentro do intervalo de valores obtidos em estudos anteriores [9], sendo uma tentativa de gerar uma situação o mais próxima da realidade possível.

Relativamente aos restantes parâmetros, utilizaram-se valores de TE retirados do protocolo de aquisição das imagens IRM (TE=13,816 ms e  $\Delta TE=4,7$  ms) num total de 7 ecos. Para simplificar as simulações, foi atribuído a  $S_0$  o valor de 1.

O efeito da presença de *outliers* em diferentes posições foi simulado multiplicando a intensidade de sinal por um factor de 1.5, para diferentes ecos: no 2º, 4º ou 6º ecos.

O valor de  $T2^*$  foi estimado para cada conjunto de dados obtidos, e a média desses valores provenientes das 1000 repetições foi calculada, assim como o desvio padrão associado, para cada SNR. Os desvios do valor pré-definido de  $T2^*$  foram também calculados. Os algoritmos utilizados requerem que sejam fornecidas estimativas iniciais, tendo sido escolhidos os valores de  $T2^*=32$  e  $S_0=0,8$ .

O tempo que cada simulação demorou foi também medido, uma vez que é um factor importante a ter em conta no processamento dos mapas.

De forma a testar os diferentes métodos referidos anteriormente, utilizaram-se funções da *Statistics Toolbox* do *Matlab*: *robustfit* (método linear com ponderação iterativa, com método *Bisquare*), *nlinfit* (método não-linear com ponderação iterativa, com método *Bisquare*), e da *Optimization Toolbox*: *regression* (método linear com ponderação não-iterativa) e *lsqcurvefit* (método não-linear com ponderação não-iterativa).

De forma a verificar em que gama de valores das simulações estavam as medidas reais, procurou-se medir o valor de SNR das imagens reais adquiridas no estudo. Uma vez que foi utilizada imagem paralela, a forma mais correcta de medir o SNR seria adquirir uma mesma imagem duas vezes e subtraí-las. O sinal resultante corresponderia apenas a ruído na imagem. Contudo, uma vez que a aquisição não foi repetida, obteve-se apenas uma estimativa dos valores de SNR das imagens adquiridas, aplicando-se o seguinte método.

O SNR pode ser aproximado pela seguinte relação:  $SNR = \frac{\text{média (ROI)}}{\text{desvio padrão (ROI)}} [40]$ .

Preferivelmente deve-se fazer a marcação da ROI (*region of interest*) numa região o mais homogénea possível, pertencente ao mesmo tecido, tendo sido escolhida a SN, uma vez que se trata da região cerebral em estudo. Efectuou-se a marcação de ROIs em cinco

indivíduos, na região da SN do lado do hemisfério direito e esquerdo, num total de dez regiões. O procedimento efectuou-se na imagem correspondente ao 1º eco.

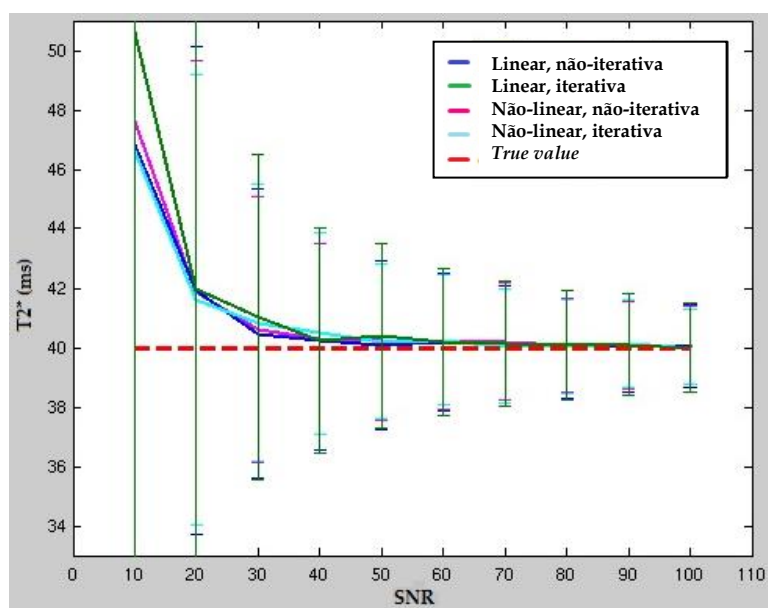
## 2.3 Apresentação de resultados

Como descrito na metodologia, procurou-se estimar o SNR das imagens adquiridas no estudo. Através do método de marcação de ROIs referido, obteve-se os valores que constam na Tabela 2.1.

Indivíduo	1ª região		2ª região	
	Média	SNR	Média	SNR
23	294,0 ± 7,3	40,3	330,1 ± 9,5	34,8
14	343,7 ± 6,3	54,6	328,9 ± 5,1	64,5
16	367,7 ± 9,0	40,9	342,1 ± 8,0	42,8
18	304,2 ± 6,1	49,9	292,0 ± 5,1	57,3
25	300,1 ± 5,5	54,6	275,5 ± 6,8	40,5

**Tabela 2.1** - Apresentação dos valores da média de intensidade dos pixéis, correspondentes à região da ROI, com o respectivo desvio padrão associado. Resultado das respectivas SNR, resultantes da divisão do valor da média pelo desvio padrão. A 1ª região corresponde à SN do lado direito e a 2ª região corresponde à SN do lado esquerdo.

Efectuando a média entre os valores de SNR resultantes, para as dez regiões, chegou-se a um valor médio de  $SNR=48\pm9$ . Embora forneça apenas um valor aproximado para o SNR das imagens reais, por este motivo nos resultados simulados será dado especial destaque aos valores correspondentes a  $SNR=50$ . No entanto, fez-se primeiro uma análise global da variação do valor de  $T2^*$  com a variação de SNR (Figura 2.2). Numa primeira fase simulou-se apenas com a adição de ruído, e sem a presença de *outliers*. Verificou-se que os erros associados à estimativa de  $T2^*$  diminuíam com o aumento de SNR, como seria de esperar. (NOTA: de forma a encurtar os nomes dos métodos e facilitar a leitura, serão chamados aos métodos com ponderação iterativa, métodos iterativos, e assim sucessivamente).



**Figura 2.2** – Representação gráfica dos valores médios estimados para  $T2^*$  com apresentação dos respectivos desvios padrão, utilizando os diferentes métodos estudados e variando o SNR entre 10 e 100 e sem simular a presença de *outliers*.

Para valores de SNR iguais ou superiores a 50, os valores médios estimados desviaram-se no máximo apenas 1% do *true value* definido de  $T2^*$  (Tabela 2.2).

Função	Média (ms)	Desvio padrão (ms)
Linear, não-iterativa	40,2	2,9
Linear, iterativa	40,4	3,1
Não-linear, não-iterativa	40,2	2,7
Não-linear, iterativa	40,2	2,6

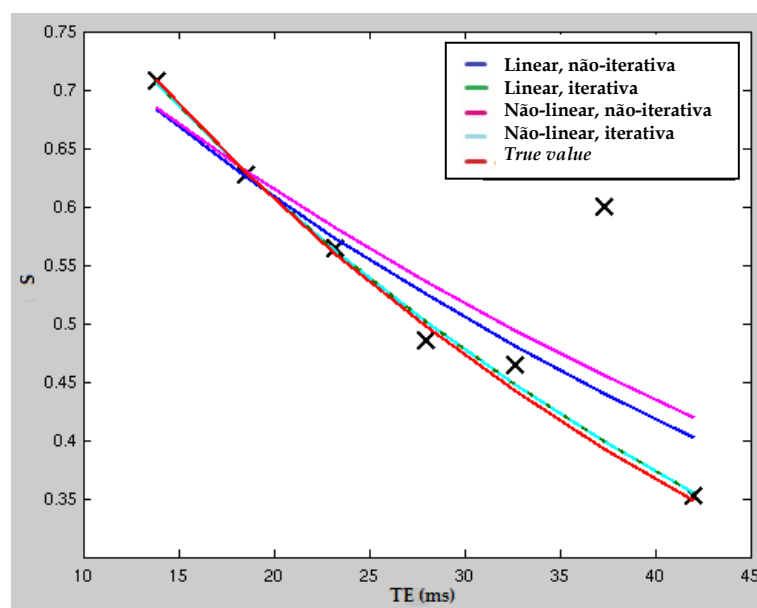
**Tabela 2.2** - Comparação do valor da média de  $T2^*$  nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e sem presença de *outlier*.

De seguida analisou-se a situação da adição de *outliers*. No caso da simulação de *outlier* no 6º eco, e utilizando funções iterativas, os valores estimados de  $T2^*$  apresentaram desvios inferiores a 1,5%, enquanto que utilizando o método não iterativo os valores estimados desviaram-se 32-37% do *true value* (para  $SNR \geq 50$ ) (Tabela 2.3).

Outlier no 6º eco		
Função	Média (ms)	Desvio padrão (ms)
Linear, não-iterativa	53,6	5,0
Linear, iterativa	40,5	3,7
Não-linear, não-iterativa	55,5	5,3
Não-linear, iterativa	40,5	3,6

**Tabela 2.3** - Comparação do valor da média de T2\* nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e presença de *outlier* no 6ºeco.

Desta forma verificou-se que funções baseadas no método iterativo eram menos vulneráveis à presença de *outliers*. Graficamente as curvas relativas a essas funções surgem mais perto da curva associada ao *true value* (Figura 2.3). Como já tinha sido referido anteriormente, esta curva correspondia a um valor de T2\* de 40 ms. A situação ilustrada é para uma relação SNR=50, mas para os outros valores de SNR o comportamento foi semelhante.



**Figura 2.3** - Representação gráfica das curvas de T2\*, utilizando os diferentes métodos estudados. Situação relativa a SNR=50.

O efeito de *outliers* no 2º e 4º ecos foi também estudado. Novamente nos métodos iterativos a estimativa de T2\* aproximou-se mais do *true value* (Tabela 2.4). De referir que os métodos não iterativos foram menos sensíveis à presença de *outliers* no 4º eco,

relativamente à simulação de *outliers* no 2º e 6º ecos apresentando valores médios para a estimativa de T2\* mais próximos do *true value*.

Função	Outlier no 2º eco		Outlier no 4º eco	
	Média (ms)	Desvio padrão (ms)	Média (ms)	Desvio padrão (ms)
Linear, não-iterativa	32,1	1,9	40,1	2,8
Linear, iterativa	39,7	3,6	40,2	2,8
Não-linear, não-iterativa	32,2	1,6	46,0	3,0
Não-linear, iterativa	40,2	3,0	40,2	2,6

**Tabela 2.4** - Comparação do valor da média de T2\* nos diferentes métodos. Situação de SNR=50 e presença de *outlier* no 2º e 4º eco.

Relativamente ao tempo necessário para efectuar as simulações, os métodos não-lineares demoram mais tempo a convergir do que os lineares, independentemente de ter sido utilizado um algoritmo iterativo ou não. Para simular todas as repetições para todos os valores de SNR considerados, o algoritmo linear iterativo demorou 15s enquanto que o algoritmo não-linear iterativo demorou 152s. As outras duas simulações não foram realizadas no mesmo computador, uma vez que não estavam disponíveis todas as funções em estudo no *Matlab* no mesmo computador, pelo que não foram comparados os tempos para as simulações nessas situações.

## 2.4 Discussão de resultados

Este estudo demonstrou que a estimativa do valor de T2\* pode ser muito sensível à presença de *outliers* e que o uso de métodos robustos, que permitam identificar a sua presença, é preferível. Quando comparados os métodos lineares e não-lineares, foram obtidos desvios e erros semelhantes. Considerando o elevado número de pixels numa imagem de RM 3D do cérebro, a velocidade de processamento dos mapas pode ser um parâmetro importante. Sendo assim, e associando tudo o que foi atrás descrito, o algoritmo linear com ponderação iterativa apresenta-se como a melhor escolha.

Por este motivo, no desenvolver do restante trabalho, foi portanto utilizado este método. No entanto, na interface desenvolvida, o utilizador tem a hipótese de seleccionar o método que pretende utilizar.





## Estudo *in-vivo*

### 3.1 Metodologia

Neste capítulo será abordada a metodologia para o estudo *in-vivo*. Primeiramente será definida a amostra em estudo, bem como o procedimento para a aquisição das imagens de RM, e todo o pós-processamento das imagens e as técnicas de segmentação da SN utilizadas.

#### 3.1.1 Caracterização da amostra

O presente estudo está englobado num projecto de Doutoramento em Imagiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, intitulado “Ressonância Magnética com Tensores de Difusão na Doença de Parkinson e outros síndromas parkinsonianos”, cumprindo todos os procedimentos éticos e legais requeridos.

O diagnóstico dos participantes com DP foi realizado de acordo com os critérios da *United Kingdom Brain Bank Criteria* (UKBBC) feito por um Neurologista especialista em doenças do movimento. Foram incluídos dois grupos de doentes: um grupo com diagnóstico inicial de DP e nunca tendo tomado medicação anti-parkinsoniana (Pacientes com DP de novo), e um segundo grupo de doentes com DP com mais de 2 anos após diagnóstico e menos de 5 anos de evolução da doença (Pacientes com DP de 2-5 anos).

No grupo dos controlos foram seleccionados indivíduos sem doenças do movimento, avaliados por um Neurologista especialista em doenças do movimento. Foram recrutados de forma voluntária e emparelhados quanto ao sexo e idade.

Relativamente a critérios de exclusão, foram excluídos indivíduos que possuísem contra-indicações para a realização do exame de RM em aparelho de alto campo (3.0T).

Neste estudo participaram um total de 32 indivíduos, apresentando-se na tabela seguinte alguns dados clínicos relevantes (Tabela 3.1), e no **Apêndice B** a sua descrição pormenorizada.

Grupo	Sexo (M/F)	Idade (anos)	UPDRS Total
DP 2-5 anos	8/2	67 ± 6	47,0 ± 14,7
DP novo	5/7	63 ± 12	44,7 ± 27,2
Controlos	6/4	61 ± 8	8,1 ± 21,4

**Tabela 3.1** – Tabela contendo o resumo dos dados dos indivíduos considerados no estudo.

### 3.1.2 Protocolo de aquisição das imagens de RM

Todas as imagens utilizadas neste estudo foram fornecidas pelo Hospital de Santa Maria e pelo Hospital Cruz Vermelha, tendo as aquisições dos exames sido realizadas entre 2011 e 2013.

As imagens foram adquiridas utilizando equipamentos de RM *Philips* 3.0 T. O procedimento para a avaliação da DP envolve a aquisição de diferentes sequências de imagens (DTI, ponderadas em T1, entre outras) no entanto este trabalho foca apenas as imagens ponderadas em T2\*.

As imagens ponderadas em T2\* foram adquiridas com recurso à sequência eco de gradiente com aquisição de múltiplos ecos (neste protocolo são 7 ecos). Os parâmetros do protocolo de aquisição são apresentados na tabela 3.2.

Sequência	TR (ms)	TE (ms)	$\Delta$ TE (ms)	Nº cortes	FOV (mm)	Matriz de aquisição	Espessura de corte (mm)	Flip angle (°)
GE	1406	13,816	4,7	28	240x180x139	268x160	4	18

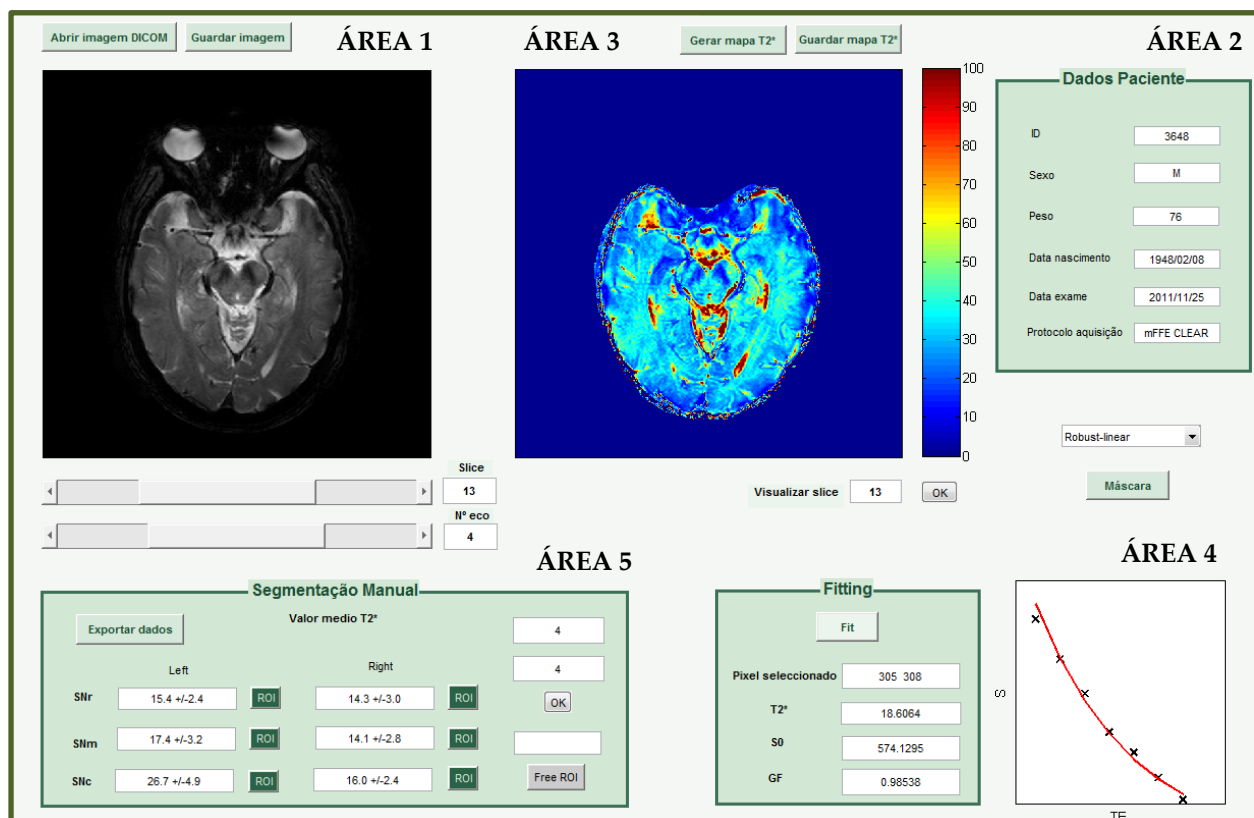
**Tabela 3.2** – Tabela contendo os parâmetros utilizados para obter as imagens em estudo.

O tempo total de aquisição de todas as sequências foi de 45 minutos, e o tempo da sequência em estudo foi de aproximadamente de 3 minutos e 49 segundos.

### 3.1.3 Processamento de imagem

Após a aquisição das imagens de RM com a sequência referida, pretende-se gerar os mapas de  $T2^*$  para cada indivíduo, de forma a quantificar a constante de  $T2^*$ . Para tal, foi desenvolvida uma ferramenta através do software *Matlab* de forma a facilitar e automatizar o processo, permitindo a qualquer utilizador analisar as imagens e dados obtidos de forma intuitiva.

A interface gráfica resultante encontra-se ilustrada na Figura 3.1.



**Figura 3.1** – Ilustração da interface gráfica desenvolvida em *Matlab*, mostrando um exemplo de estudo de um indivíduo.

A interface permite localizar na directoria do computador a pasta que contém as imagens que se pretende analisar, realizando a leitura de imagens de RM no formato DICOM. O programa detecta automaticamente a série de imagens pretendida, através do nome do protocolo de aquisição. De forma a permitir ao utilizador escolher o corte que pretende analisar, é possível visualizar todos os cortes, para os diferentes ecos, através de dois *sliders* (Área 1). Foi também introduzida uma barra de ferramentas que permite o aumento e diminuição do *zoom* das imagens.

Para cada conjunto de imagens, através da leitura do cabeçalho das imagens, é apresentado um conjunto de informações sobre o paciente e a realização do exame (Área 2).

É possível o utilizador seleccionar o tipo de ajuste ao decaimento exponencial que pretende efectuar (segundo os tipos de ajustes abordados no Capítulo 2), e restringir a zona que pretende analisar, criando uma máscara (a todos os pixéis fora desse domínio é atribuído valor igual a zero). O objectivo da criação desta máscara é reduzir o tempo de processamento ao excluir a região de fundo da imagem e/ou

regiões anatómicas que não se pretende estudar. De seguida pode-se proceder à geração do mapa de T2\* (**Área 3**).

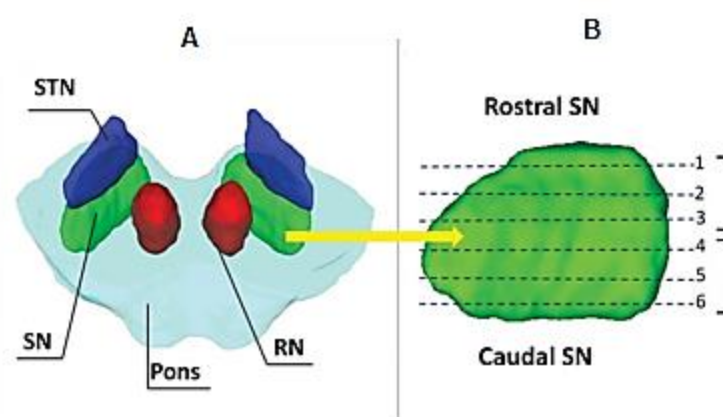
De forma a avaliar a qualidade do ajuste e o valor de T2\* num *pixel* específico, é possível ao utilizador seleccionar os pixéis onde pretende obter essas informações (**Área 4**). A qualidade do ajuste foi definida através do coeficiente de determinação  $R^2$ , sendo considerada a diferença entre o valor esperado, resultante do ajuste, e o valor obtido, resultante do mapa real.

A segmentação manual de estruturas é então realizada através da marcação de ROIs, onde é apresentado um valor médio de intensidade dos pixéis para cada área, com o respectivo desvio padrão associado (**Área 5**). Este tópico será abordado no subcapítulo 3.1.4.

### 3.1.4 Segmentação da SN: marcação de ROIs

A marcação de ROIs foi realizada em três regiões da SN: SN rostral (SNr), SN medial (SNm) e SN caudal (SNc), nos hemisférios direito e esquerdo do cérebro, de acordo com o método descrito por [7, 27] (Figura 3.2).

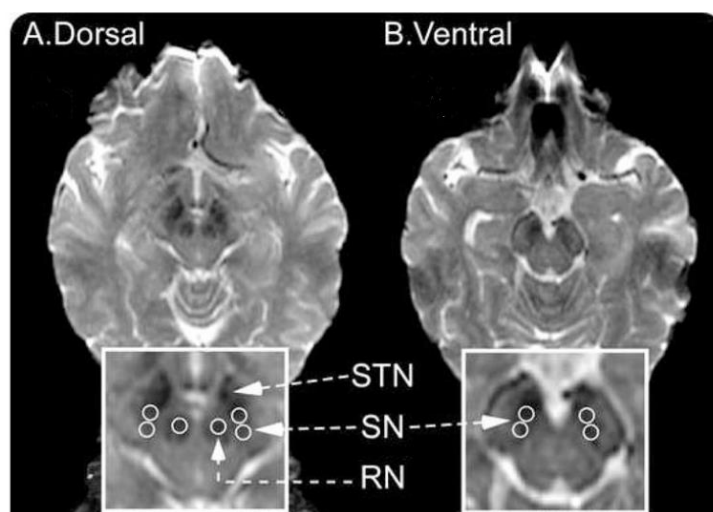
Devido à dificuldade na distinção entre as porções compacta e reticular a partir de imagens de IRM, foi apenas considerada a porção global que denominar-se-á de SN.



**Figura 3.2** – Representação da localização da SN, STN e RN (A) e a da divisão da SN em rostral e caudal (B). Adaptado de [7].

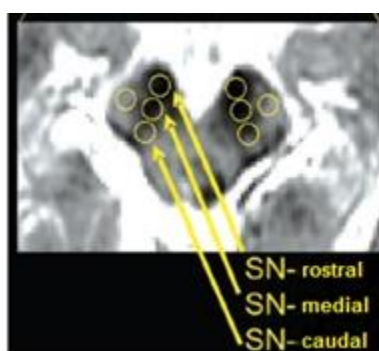
Nas imagens ponderadas em T2\*, a SN é definida visualmente como uma banda hipointensa entre o núcleo rubro e o pedúnculo cerebral.

Para a marcação das ROIs, primeiramente identificou-se o corte onde se visualizavam mais proeminentemente o núcleo rubro (RN), o núcleo subtalâmico (STN) e a SN (Figura 3.3-a)). A marcação das ROIs foi realizada no corte imediatamente inferior (Figura 3.3-b)) pois uma grande parte da SN encontra-se abaixo do RN. Neste corte a SN é sempre visível e o RN já não está presente ou, se estiver, é pouco visível. Apesar deste cuidado, é possível que o STN não tenha sido excluído na marcação das ROIs da SN.



**Figura 3.3** – Representação de um corte axial na parte dorsal (A) e na parte ventral (B), com a ilustração das ROIs na SN. Adaptado de [41].

A primeira ROI foi colocada sob a zona hipointensa da porção rostral da SN. A segunda ROI foi colocada abaixo da primeira e a terceira ROI foi colocada na porção caudal da SN (Figura 3.4). Nenhuma das três ROIs se podia intersectar.



**Figura 3.4** – Exemplo da marcação das ROIs. Adaptado de [27].

A marcação foi feita na imagem ponderada em T2\* e não no mapa de T2\*, de forma a evitar viés na sua marcação.

De forma a garantir que as áreas das ROIs eram todas iguais, utilizaram-se elipses com o mesmo diâmetro para todas. Escolheu-se um diâmetro de 4 pixéis para evitar a inclusão de outras estruturas e de forma a que as 3 elipses não se intersectassem. Nas imagens adquiridas 1 *pixel* corresponde a uma área de 0.43x0.43 mm<sup>2</sup>. Cada ROI tem portanto uma área de 2.3 mm<sup>2</sup>.

A marcação das ROIs foi realizada manualmente e sempre pelo mesmo utilizador.

A informação recolhida na marcação das ROIs refere-se ao valor médio de T2\* estimado nos *voxels* contidos nessa área, assim como o respectivo desvio padrão.

### 3.1.5 Tratamento estatístico

O tratamento estatístico dos dados foi realizado através do programa SPSS v.20. Através desta análise pretende-se concluir se as diferenças entre as médias dos valores de T2\* obtidos para os vários grupos são estatisticamente significativas.

Num teste clássico de hipóteses são definidas duas hipóteses, a nula ( $H_0$ ) e a alternativa ( $H_A$ ). Considerando a hipótese nula, ao analisar os dados obtidos, obter-se-á uma rejeição ou não de  $H_0$ . Se não rejeitamos  $H_0$ , tomamo-la como verdadeira, caso contrário, tomamos  $H_A$  como verdadeira.

De forma a determinar se a hipótese nula é rejeitada ou não, é necessário definir um nível de significância. Definiu-se o valor  $\alpha=0,05$ . Através do programa referido, analisaremos o valor do *p-value* de forma a se concluir se os dados são estatisticamente significativos (caso  $p\text{-value}<\alpha$ ) ou se não existe uma relação estatisticamente significativa (caso  $p\text{-value}>\alpha$ ).

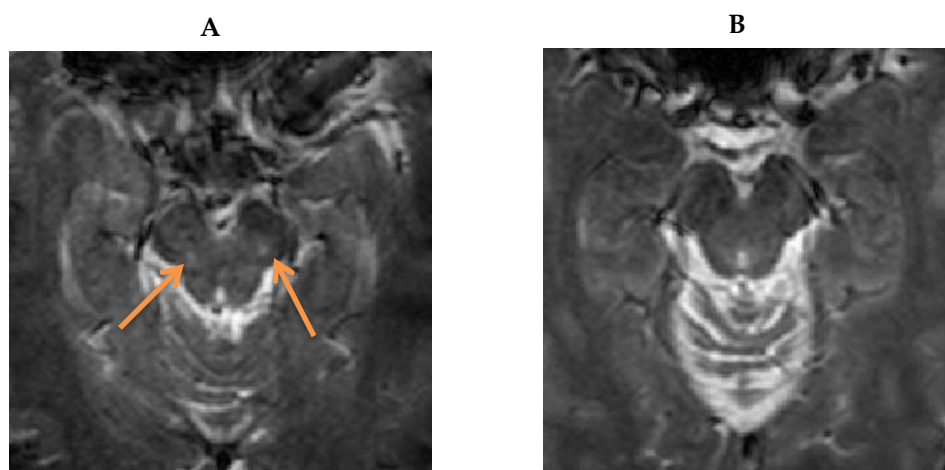
Em estatística definem-se dois tipos de testes, os paramétricos e os não-paramétricos. No caso do número de casos da amostra em estudo ser superior a 30, e se for possível assumir que seguem uma distribuição normal aplica-se o teste paramétrico. Neste tipo de testes é exigido que as amostras tenham uma distribuição normal. Os testes não paramétricos são indicados para amostras pequenas. São também utilizados quando a amostra tem uma distribuição desconhecida.

No âmbito deste trabalho, serão aplicados testes não paramétricos (tendo em conta a dimensão da amostra) para amostras independentes – Teste de Kruskal-Wallis (para k amostras).

### 3.2 Apresentação de resultados

Após a marcação das ROIs para todos os sujeitos, foram exportados para um ficheiro *Excel* os valores obtidos para a média do valor de T2\* para cada região, bem como o respectivo valor do desvio padrão associado. No **Apêndice C** encontra-se uma tabela global contendo todos os valores obtidos.

Ao ser efectuada a análise das imagens na interface, com vista a ser seleccionado o corte para se proceder à geração do mapa de T2\*, como descrito na metodologia, decidiu-se excluir da análise de resultados 3 indivíduos do estudo (Indivíduos 5, 12 e 32). Nestes indivíduos observou-se ectasia dos espaços perivasculares muito pronunciada na região da *substantia nigra* (Figura 3.5). Os espaços perivasculares são ectasias de líquido (líquido cefalorraquidiano) que acompanham os vasos sanguíneos. Ao se localizarem em regiões de marcação das ROIs da SN influenciam a determinação do valor de T2\*, devido ao elevado sinal T2.



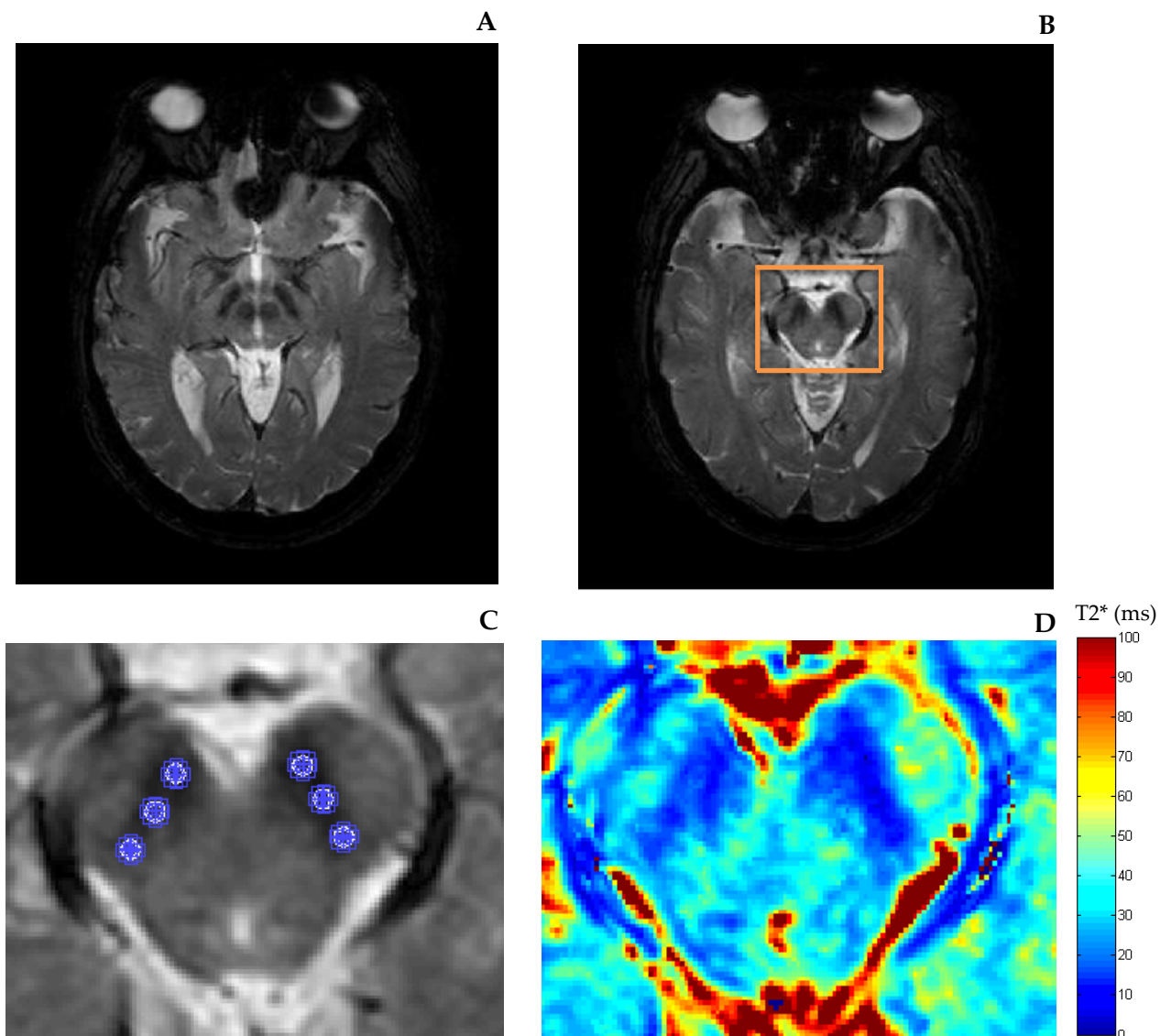
**Figura 3.5** – A – Exemplo de um indivíduo onde se observou ectasia dos espaços perivasculares na região da SN. B - Exemplo de um indivíduo onde não se observou ectasia dos espaços perivasculares na região da SN.



Por outro lado as imagens adquiridas do indivíduo 17 possuem artefactos de movimento que impossibilitaram a correcta avaliação das imagens, tendo sido por isso também excluído da análise.

A análise dos dados obtidos foi realizada com os restantes indivíduos, tendo ficado a amostra com 9 indivíduos do grupo “Controlos”, 10 indivíduos do grupo “Pacientes com DP de novo” e 9 indivíduos do grupo “DP 2-5 anos”.

Na figura 3.6 encontra-se um exemplo para um indivíduo de grupo “Pacientes com DP de novo”, onde se seleccionou o corte adequado e se efectuou o processamento do respectivo mapa de T2\*.



**Figura 3.6** – A - Corte axial nº14, onde se encontra evidenciado o núcleo rubro. B - Corte axial nº13, a partir do qual se efectuou o processamento do mapa de T2\*, na área delimitada com o rectângulo. C - Área da imagem onde se aplicou *zoom* de forma a se delimitar as ROIs com maior precisão. D - Resultado do mapa de T2\* gerado, com a respectiva barra de cores correspondendo aos valores de T2\*.

### 3.2.1 Regiões da SN

Primeiramente efectuou-se a média em todos os grupos dos valores obtidos de T2\* para as três regiões da SN consideradas (Tabela 3.3).

Grupo	SNr	SNm	SNc
<b>Controlos</b>	24 ± 12	26 ± 6	29 ± 5
<b>DP novo</b>	18 ± 5	25 ± 8	27 ± 8
<b>DP 2-5 anos</b>	19 ± 5	25 ± 10	27 ± 9

**Tabela 3.3** – Tabela contendo os valores das médias de T2\* por regiões da SN, para os diferentes grupos.

### 3.2.2 Lateralidade da doença

De forma a verificar se existe relação dos dados obtidos com a lateralidade da doença, proveniente da informação clínica, organizou-se os dados em 3 categorias: contralateral (correspondendo ao lado cerebral contrário àquele onde surgiram primeiramente os sintomas motores), ipsilateral (correspondendo ao mesmo lado cerebral em que surgiram primeiramente os sintomas motores) e bilateral (correspondendo à média dos dois lados). No grupo dos controlos consideraram-se sempre os valores correspondendo à média bilateral, uma vez que nos controlos não existe manifestação de sintomas da doença.

Os resultados obtidos encontram-se resumidos nas tabelas 3.4, 3.5 e 3.6.

Grupo	SNr		
	Contralateral	Ipsilateral	Bilateral
<b>Controlos</b>	24 ± 12	24 ± 12	24 ± 12
<b>DP novo</b>	18 ± 6	18 ± 5	18 ± 5
<b>DP 2-5 anos</b>	18 ± 5	20 ± 6	19 ± 5

**Tabela 3.4** – Apresentação dos valores das médias de T2\* para a região SNr, para os diferentes grupos.

Grupo	SNm		
	Contralateral	Ipsilateral	Bilateral
<b>Controlos</b>	26 ± 6	26 ± 6	26 ± 6
<b>DP novo</b>	24 ± 8	26 ± 10	25 ± 8
<b>DP 2-5 anos</b>	26 ± 12	24 ± 9	25 ± 10

**Tabela 3.5** – Apresentação dos valores das médias de T2\* para a região SNm, para os diferentes grupos.

Grupo	SNc		
	Contralateral	Ipsilateral	Bilateral
<b>Controlos</b>	29 ± 5	29 ± 5	29 ± 5
<b>DP novo</b>	28 ± 8	25 ± 8	27 ± 8
<b>DP 2-5 anos</b>	26 ± 11	28 ± 8	27 ± 9

**Tabela 3.6** – Apresentação dos valores das médias de T2\* para a região SNc, para os diferentes grupos.

Efectuou-se também a análise considerando as 3 regiões da SN como um todo, ou seja, calculou-se a média dos valores de T2\* utilizando todos os valores obtidos para as 3 regiões (Tabela 3.7).

Grupo	SN		
	Contralateral	Ipsilateral	Bilateral
<b>Controlos</b>	26 ± 8	26 ± 8	26 ± 8
<b>DP novo</b>	23 ± 8	23 ± 8	23 ± 8
<b>DP 2-5 anos</b>	24 ± 10	24 ± 8	24 ± 9

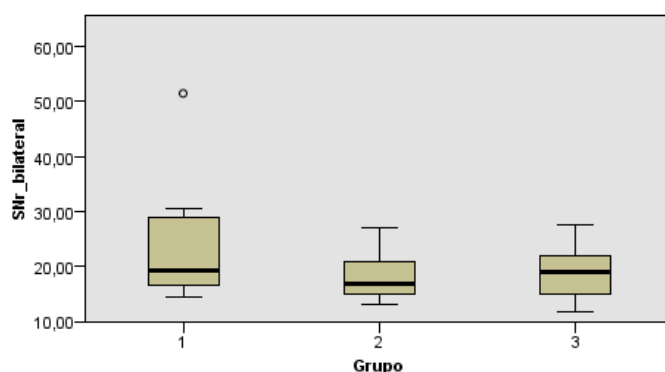
**Tabela 3.7** – Apresentação dos valores das médias de T2\* para a SN, para os diferentes grupos.

Foi aplicado o teste estatístico de Kruskal-Wallis, sendo que as diferenças encontradas não foram consideradas significativas, sendo o valor do *p-value* superior a 0,05 em todas as situações (Tabela 3.8).

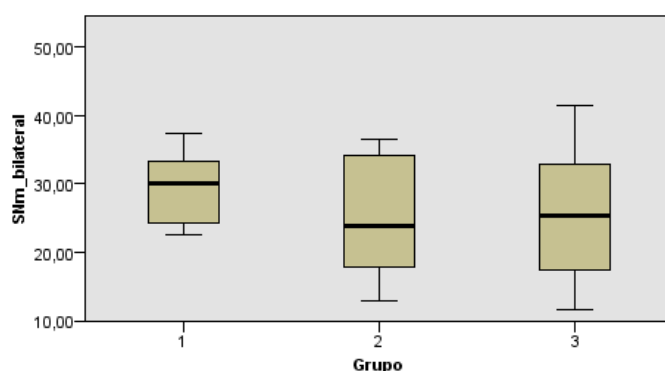
	p-value			
	SNr	SNm	SNc	SN
<b>Bilateral</b>	0,34	0,37	0,75	0,59
<b>Contralateral</b>	0,30	0,75	0,62	0,50
<b>Ipsilateral</b>	0,51	0,87	0,48	0,64

**Tabela 3.8** – Apresentação dos valores do *p-value* para as diferentes regiões da SN, considerando a média dos valores de T2\* para a situação de análise bilateral, contralateral e ipsilateral.

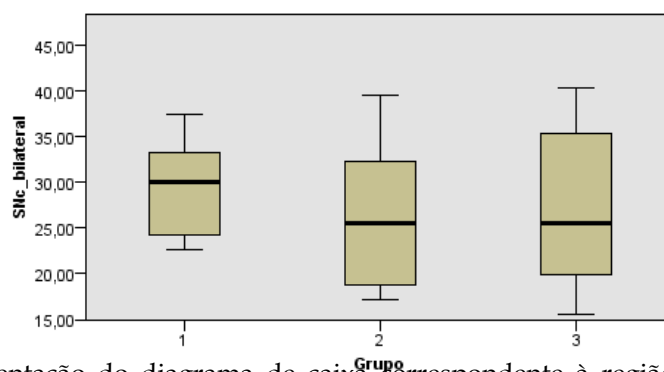
Nas Figuras 3.7, 3.8 e 3.9 encontram-se representados diagramas de caixa correspondentes à análise bilateral. O grupo 1 corresponde ao grupo dos “controles”, o grupo 2 corresponde ao grupo “DP de novo” e o grupo 3 corresponde ao grupo “DP 2-5 anos”.



**Figura 3.7** – Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNr, tendo sido obtido um valor de *p-value* de 0,34.



**Figura 3.8** – Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNm, tendo sido obtido um valor de *p-value* de 0,37.



**Figura 3.9** – Representação do diagrama de caixa correspondente à região SNc, tendo sido obtido um valor de *p-value* de 0,75.

Dos diagramas de caixa observa-se que, no geral dos casos, existe uma dispersão assimétrica dos dados.

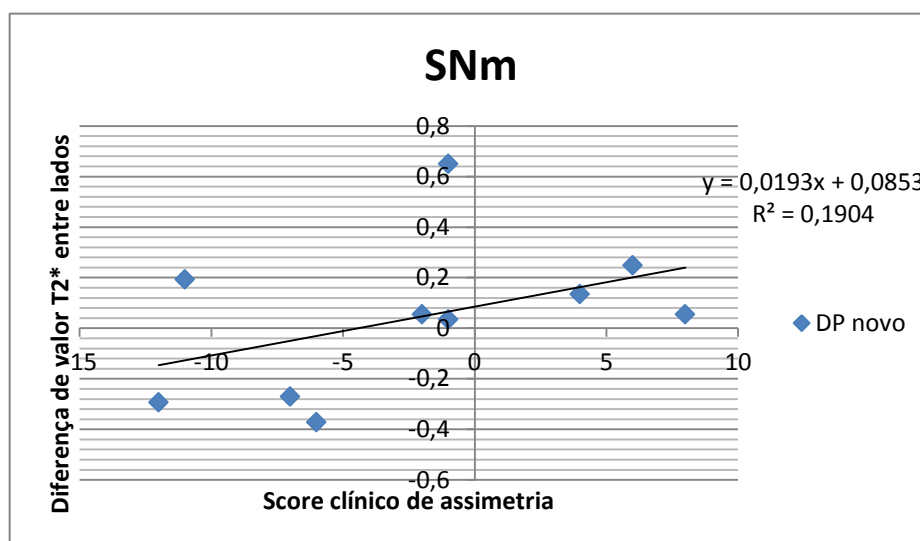
Uma das informações clínica registada de cada individuo é o *score* clínico de assimetria, que corresponde à diferença entre as pontuações UPDRS (com alguns itens da parte III) entre o lado direito e esquerdo. Em 90% dos casos registados, existe correspondência entre o lado motor em que surgiram os primeiros sintomas e o sinal do *score* de assimetria. Desta forma, se o *score* é negativo, então o lado em que surgiram os primeiros sintomas motores é o esquerdo, e a um *score* positivo corresponde o lado direito.

Assim, analisou-se a correlação entre o *score* clínico de assimetria e a diferença entre os valores obtidos de T2\*, entre lados. Subtraíram-se os valores obtidos para o lado esquerdo aos valores do lado direito (direito-esquerdo). No caso dos valores de T2\*, dividiu-se pela média entre os dois lados, de forma a obter uma variação relativa.

A correlação é utilizada para testar o grau de associação entre as variáveis em estudo. A partir dos testes efectuados no programa SPSS, obteve-se o coeficiente de correlação, bem como o valor de *p-value*, indicando desta forma se o teste é estatisticamente significativo (caso *p-value* < 0,05). Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.9, e na Figura 3.10 encontra-se um exemplo de gráfico obtido.

Grupo	Coeficiente de correlação   p-value		
	SNr	SNm	SNc
DP novo	0,31   0,38	0,44   0,21	- 0,39   0,26
DP 2-5 anos	- 0,42   0,31	- 0,49   0,22	- 0,50   0,21
Indivíduos com DP	0,09   0,72	0,14   0,58	- 0,42   0,08

**Tabela 3.9** – Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e *p-value* para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos.



**Figura 3.10** – Representação gráfica da relação entre o *score* clínico de assimetria e a diferença do valor T2\* entre lados, para a região SNm do grupo DP de novo.

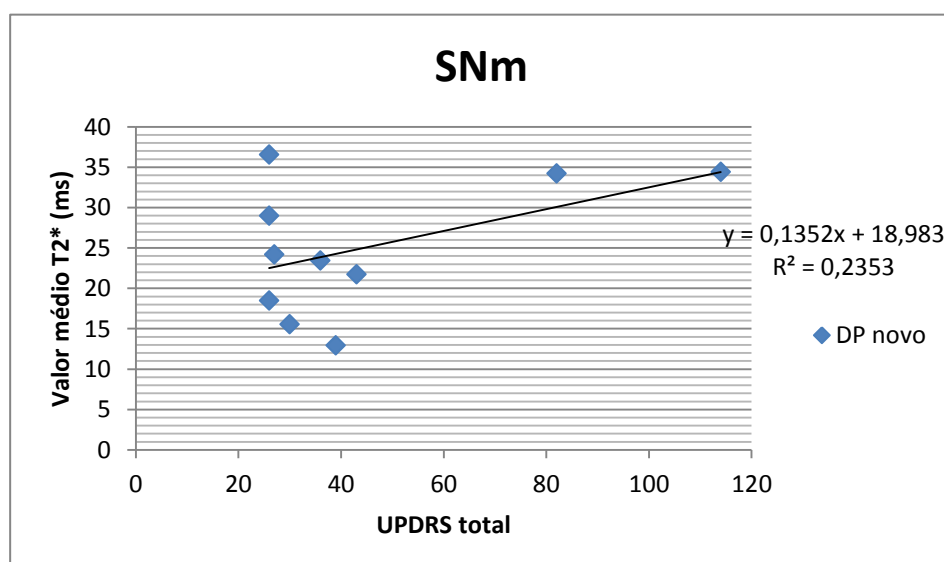
Os valores de *p-value* obtidos demonstram que em nenhuma situação existe uma relação estatisticamente significativa.

### 3.2.3 Gravidade da doença: UPDRS

Avaliou-se também a possibilidade de relação entre a gravidade da doença (utilizando a pontuação UPDRS) e os valores obtidos de T2\*. Nesta análise apenas foram considerados os valores de T2\* bilaterais. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.10, e na Figura 3.11 encontra-se um exemplo obtido.

Grupo	Coeficiente de correlação   p-value			
	SNr	SNm	SNc	SN
<b>DP novo</b>	0,45   0,20	0,49   0,16	0,36   0,30	0,46   0,18
<b>DP 2-5 anos</b>	0,10   0,81	0,16   0,71	0,43   0,28	0,27   0,53
<b>Indivíduos com DP</b>	0,34   0,17	0,35   0,15	0,37   0,13	0,39   0,11

**Tabela 3.10** – Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e *p-value* para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos.



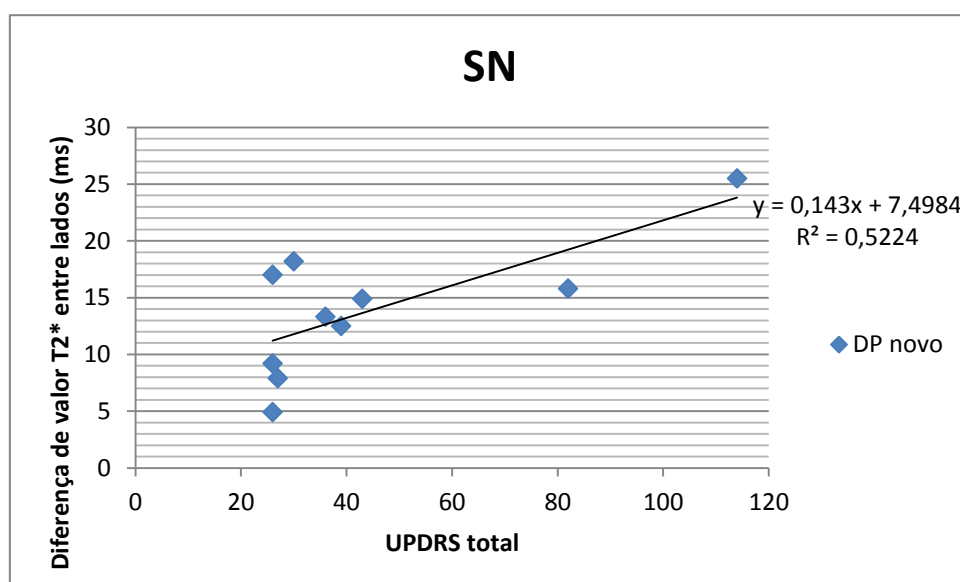
**Figura 3.11** – Representação gráfica da correlação entre os valores de UPDRS total e os valores médios de T2\*, para a região SNm do grupo DP de novo.

Novamente observa-se que em nenhuma situação existe uma relação estatisticamente significativa.

Avaliou-se também a possibilidade de relação entre a gravidade da doença (utilizando a pontuação UPDRS) e a diferença de valores de T2\* entre lados. Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.11, e na Figura 3.12 encontra-se um exemplo obtido.

Grupo	Coeficiente de correlação   p-value			
	SNr	SNm	SNc	SN
DP novo	0,66   0,04 *	0,07   0,86	0,40   0,26	0,72   0,02 *
DP 2-5 anos	0,45   0,26	0,27   0,52	0,57   0,14	0,59   0,12
Indivíduos com DP	0,57   0,01 *	0,12   0,62	0,41   0,09	0,59   0,01 *

**Tabela 3.11** – Apresentação dos valores dos coeficientes de correlação e *p-value* para as diferentes regiões da SN, para os diferentes grupos. Com o sinal \* encontram-se as relações estatisticamente significativas (*p-value* < 0,05).



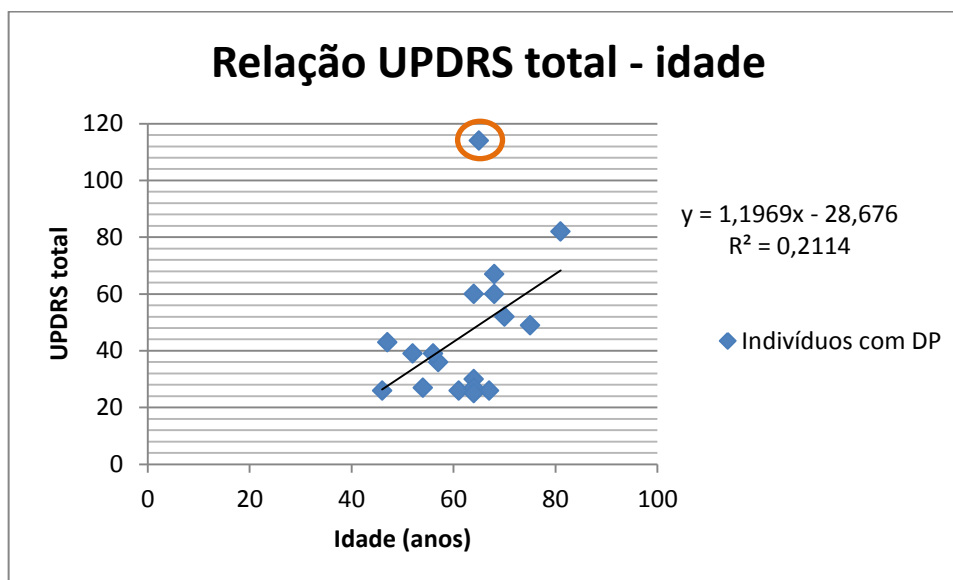
**Figura 3.12** – Representação gráfica da correlação entre os valores de UPDRS total e o somatório das diferenças de T2\*, para a região da SN para o grupo DP de novo.

Os valores de *p-value* obtidos demonstram que quando testada a existência de correlação nos grupos de “DP de novo” e “Indivíduos com DP”, na região da SN e SNr, com o *score* UPDRS total, existe uma relação estatisticamente significativa. Por outro lado, todas correlações obtidas têm valores positivos, indicando uma dependência positiva, ou seja, à medida que a gravidade da doença aumenta, maior foi o registro de diferenças de T2\* entre os lados cerebrais.



### 3.2.4 Idade

De forma a estudar a possibilidade de relação entre a gravidade da doença e a idade dos indivíduos, correlacionou-se estas duas variáveis, encontrando-se os resultados obtidos na Figura 3.13.



**Figura 3.13** – Representação gráfica da correlação entre a idade dos indivíduos com DP e a UPDRS total.

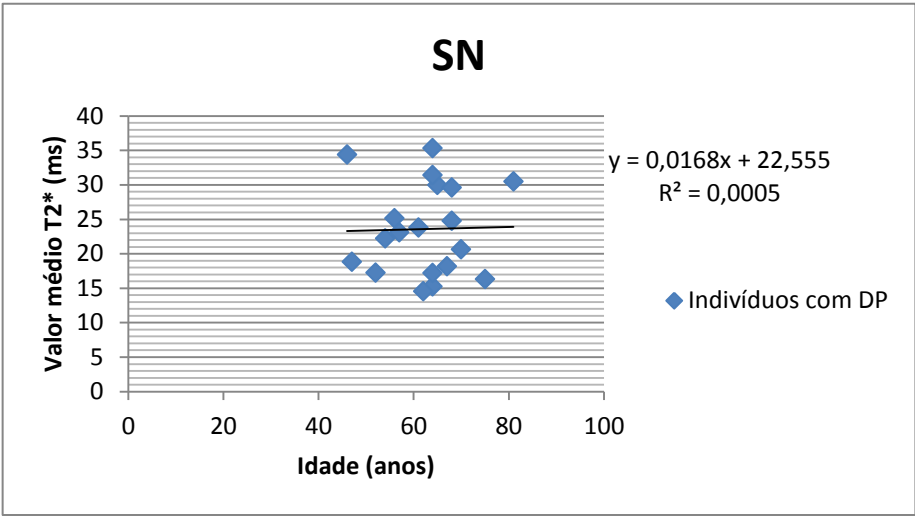
Retirou-se o ponto assinalado, uma vez que se trata de um *outlier*, reformulou-se a análise, e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.12.

Grupo	Coefficiente de correlação   p-value
Indivíduos com DP	0,59   0,01 *

**Tabela 3.12** – Apresentação dos valores do coeficiente de correlação e *p-value* para o grupo de indivíduos com DP. O sinal \* indica que a relação é estatisticamente significativa (*p-value*<0,05).

O valor de *p-value* obtido demonstra que existe uma relação estatisticamente significativa, sendo a correlação entre as variáveis de 59%.

Relacionou-se também os valores médios de T2\* com a idade dos indivíduos em estudo, na região da SN (Figura 3.14 e Tabela 3.13).



**Figura 3.14** – Representação gráfica da correlação entre a idade dos indivíduos com DP e o valor médio de T2\*, para a região da SN para o grupo de indivíduos com DP.

Grupo	Coefficiente de correlação   p-value
Indivíduos com DP	0,02   0,93

**Tabela 3.13** – Apresentação dos valores do coeficiente de correlação e *p-value* para o grupo de indivíduos com DP.

O valor de *p-value* obtido demonstra que não existe uma relação estatisticamente significativa, sendo a correlação entre a idade e o valor médio de T2\* praticamente nula.

### 3.3 Discussão de resultados

De acordo com os pressupostos do presente trabalho, analisados na introdução, parece haver uma relação entre o surgimento de doenças neurodegenerativas, como a DP, e o aumento do conteúdo de ferro na SN. Desta forma, era esperado que ocorresse uma diminuição do valor de  $T2^*$ , do grupo de controlo para os grupos de indivíduos com DP.

Os resultados deste estudo revelaram que, considerando as três regiões da SN, a maior diminuição do valor de  $T2^*$  ocorreu na SNr. Houve uma diminuição de 6 ms do grupo de controlos para o grupo DP de novo (diminuição de 33%) e uma descida de 5 ms do grupo de controlos para o grupo DP 2-5 anos (diminuição de 26%). Nas regiões SNm e SNc o decréscimo foi de apenas 1 ms e 2 ms (4% e 7%), respectivamente, não se tendo encontrado diferenças entre o grupo DP novo e DP 2-5 anos. No entanto é de referir que os valores do desvio padrão associados às médias são elevados (5 ms-12 ms), o que pode justificar não se terem encontrado diferenças estatisticamente significativas.

A ausência de diferenças entre o grupo DP novo e DP 2-5 anos está de acordo com alguns estudos [9]. Este facto pode revelar que não existem alterações significativas cerebrais, como o conteúdo de ferro, com o aumento da duração da DP. Contrariamente, num estudo de Du et al [7] foram encontradas diferenças crescentes no valor de  $R2^*$  ( $1/T2^*$ ) à medida que a duração da DP aumentava. Comparando o grupo de controlos e de DP (<1ano) o aumento foi de 11%, entre o grupo de controlos e de DP (2-5 anos) foi de 14% e com o grupo de DP ( $\geq 6$  anos) foi de 25%. Esta situação verificou-se para a região rostral da SN. Para a região caudal registou-se um aumento semelhante de percentagens (10%, 17% e 28%, respectivamente). De salientar que neste estudo o número de indivíduos da amostra estudada foi de 68.

Considerando a informação da lateralidade da DP nos indivíduos em estudo, os valores de  $T2^*$  considerando o lado contralateral e o lado ipsilateral não registaram diferenças significativas entre grupos, o que corrobora pesquisas realizadas anteriormente [36].

Relativamente à correlação do *score* clínico de assimetria e a diferença de valores de  $T2^*$  entre lados, os resultados revelam que o teste da correlação entre variáveis não foi estatisticamente significativo. Por outro lado, as correlações obtidas têm valores

positivos e negativos, não permitindo retirar conclusões acerca da possibilidade de relação entre o score clínico e a diferença do valor de T2\*.

Ao se incluir a informação da gravidade da doença, através dos valores da UPDRS total, tentou-se primeiramente perceber se existiria relação com os valores médios de T2\* encontrados. Correlacionando estes dois factores, encontrou-se uma correlação positiva em todos os grupos e regiões da SN, ou seja, à medida que os valores de T2\* aumentavam, os valores de UPDRS também aumentavam, embora não de forma estatisticamente significativa. Esperar-se-ia a situação contrária, uma relação inversa das variáveis, ou seja, quanto maior a gravidade da doença, menor o valor de T2\*, uma vez que existiria mais conteúdo de ferro. Du *et. al* [7] encontraram a relação esperada entre os valores de R2\* e a gravidade clínica, tanto na região rostral como na caudal, ao contrário de Péran *et. al* [8], em que não foi encontrada correlação.

Avaliou-se também a possibilidade de relação entre a gravidade da doença (utilizando a pontuação UPDRS) e as diferenças de valores de T2\* entre lados. Nos grupos “DP de novo” e “Indivíduos com DP”, nas regiões SN e SNr, observou-se uma relação estatisticamente significativa entre as variáveis. As correlações variaram entre 57% e 72% nesses casos. De referir que em todas as regiões da SN e em todos os grupos de indivíduos a correlação foi positiva, significando que à medida que a gravidade aumenta, existe uma maior diferença do valor de T2\* entre os lados. Esta abordagem ao problema não foi encontrada na literatura analisada.

Relativamente ao factor idade, registou-se uma correlação positiva de 59% entre a idade e a gravidade da DP, depois se ter sido retirado um ponto *outlier*. Esta relação foi estatisticamente significativa. Quando se registou a correlação entre os valores de T2\* e a idade, esta foi praticamente nula. Bizzi *et. al* compararam os valores de R2\* com o aumento da idade [42], tendo sido concluído que existia um modelo exponencial crescente associado. Este facto está de acordo com estudos pós-morte, que referem que o conteúdo de ferro aumenta principalmente na infância e adolescência, mantém-se depois mais estável. A faixa etária do nosso estudo é entre 50 e 80 anos, seguindo a tendência descrita.



## Conclusões

A presente tese de mestrado foi concebida para explorar as seguintes questões:

- É possível obter uma relação entre a constante de  $T2^*$  entre controlos e pacientes com DP? É possível discriminar com elevado grau de confiança estes dois grupos? Existem diferenças entre o grupo “DP de novo” e “DP 2-5 anos”, relacionadas com a duração da doença?

- Que relação existe entre a gravidade da doença (UPDRS), o lado mais afectado da doença, a idade, entre as diferentes estruturas da SN consideradas?

Para tal, adquiriram-se imagens de IRM, sendo constituídos 3 grupos de indivíduos de estudo.

A primeira fase de estudo consistiu na elaboração de simulações computacionais no software *Matlab*. Através da adição de ruído e de *outliers* aos pontos de uma curva exponencial, que simularia o ajuste pretendido, averiguou-se qual o método mais robusto. Verificou-se que os métodos com ponderações iterativas (que não atribuem o mesmo peso a todos os pontos) seriam os melhores. Uma vez que o tempo é um factor decisivo em estudo, optou-se por utilizar métodos lineares nas avaliações realizadas *in vivo*.

Na segunda fase de estudo, procedeu-se à análise das imagens adquiridas. Para tal, construiu-se uma interface gráfica em *Matlab*. Através dela foi possível seleccionar a sequência de imagens DICOM pretendida e fazer a marcação das ROIs nas três regiões da SN consideradas: SNr, SNm e SNc. Desta forma retirou-se o valor médio de

T2\* e o respectivo desvio padrão associado, para cada ROI. O tratamento estatístico foi posteriormente realizado com auxílio do programa SPSS.

Apesar de estudos indicarem a quantificação do conteúdo de ferro através da constante de T2\* como um possível método a aplicar no estudo de doenças neurodegenerativas como a DP, os resultados da presente dissertação são contraditórios. Apesar de existir uma diminuição do valor de T2\* do grupo de controlos para os grupos de indivíduos com DP, estas diferenças não são estatisticamente significativas. Tal facto poderá também advir do número reduzido de indivíduos da amostra em estudo.

Relativamente à relação com a gravidade da DP, observou-se que quanto maior era a gravidade da doença (através da escala UPDRS) maior era a diferença entre os valores de T2\* entre os dois lados cerebrais. É sabido que as manifestações da DP tendem a ser assimétricas, mas não tinha sido ainda investigada uma potencial assimetria nos valores de T2\*. Esta possibilidade deveria ser investigada numa amostra mais alargada.

Ao longo da realização deste trabalho foram encontradas algumas limitações que devem ser consideradas em estudos futuros. Existiram dificuldades em realizar a marcação manual das ROIs em determinados indivíduos, uma vez que nem sempre foi óbvia a localização exacta da SN. Por outro lado, houve indivíduos em que o critério da marcação da SN (um corte abaixo da visualização do núcleo rubro) foi mais difícil, uma vez que o núcleo rubro surgia em dois cortes. Desta forma, é possível que não se estivesse a marcar a mesma região da SN em todos os indivíduos, ou até incluir outras estruturas. A espessura de corte do protocolo de aquisição das imagens é de 3mm, e dadas as reduzidas dimensões da SN, este poderá também ter sido um problema.

Por outro lado, apesar da segmentação manual de estruturas ter vantagens relativamente a segmentações automáticas, a marcação das ROIs pode variar de utilizador para utilizador. Neste estudo a estratégia utilizada de forma a contornar esse factor foi a marcação ter sido realizada por um só utilizador, e esta ter sido revista pela neurorradiologista envolvida do estudo.

Apesar do conteúdo de ferro nas estruturas afectar a susceptibilidade magnética, não é possível assegurar que as diferenças encontradas sejam apenas provenientes da influência do ferro.

## 4.1 Trabalho futuro

Em termos de trabalho futuro são de referir as seguintes ideias:

- Utilizou-se a expressão  $S_i = S_0 e^{-TE_i/T2^*}$  para o cálculo da constante  $T2^*$ . No entanto, seria uma hipótese a testar adicionar uma constante à expressão. O decaimento exponencial tende para o valor 0, em teoria. No entanto, devido à rectificação do ruído, este valor nunca é atingido sendo que para baixos valores de SNR, existe um maior desvio em relação ao valor 0 que pode levar a uma sobrestimação da constante de decaimento  $T2^*$ , enviesando o resultado. Assim, a adição de uma constante seria uma forma de contabilizar o efeito do ruído, permitindo minimizar viés na estimativa de  $T2^*$ .

- Explorar métodos de correcções a partir do mapa  $B0$ , de forma a reduzir a influência das heterogeneidades provenientes das variações macroscópicas do campo  $B0$  [9, 43].

- Realizar uma análise mais automática, através de um estudo volumétrico. A VBM (*voxel based morphometry*) é uma técnica que permite analisar as diferenças estruturais cerebrais *in vivo*, utilizando IRM, e que está presente em softwares como o FSL e numa ferramenta do *Matlab*, o SPM. Esta análise permitiria também uma pesquisa em todo o cérebro, não se restringindo apenas a uma região específica.

- Obter dados com a evolução de cada paciente com DP (6 meses, 1 ano, 5 anos, 10 anos) e fazer a sua análise, de forma a compreender melhor o que acontece com a evolução da doença em cada indivíduo.

- Melhorar a sequência utilizada, reduzindo o número de cortes e a área em estudo (restringindo aos núcleos da base e ao tronco cerebral). Outra abordagem poderá ser reduzir a espessura de corte, mas tendo em atenção que essa diminuição tem como consequência a redução do SNR.

- Realizar a marcação das ROIs em apenas duas zonas, na região caudal e rostral da SN, uma vez que não se obtiveram resultados relevantes na região medial, sendo uma forma de também diminuir o tempo despendido.

- Utilizar outra abordagem, quantificando a constante de  $T2'$ , que demonstrou evidências na literatura que justificam esta abordagem [24, 44].

- O aumento do número de indivíduos do estudo é essencial, uma vez que para se tirarem conclusões e tornar um método reprodutível é necessário ser testado num número maior de indivíduos.

Apesar de algumas limitações encontradas, este estudo permitiu verificar algumas ideias subjacentes ao fenómeno da acumulação de ferro na DP. Com melhoramentos de estudos futuros, será uma possibilidade utilizar esta ferramenta como auxílio no diagnóstico da DP, que é difícil em fases precoces da doença. Isto facilitará o trabalho dos profissionais de saúde e o diagnóstico precoce, fundamental para um mais rápido tratamento da DP, melhorando a qualidade de vida dos pacientes. Outra possibilidade será também estudar os efeitos de medicação anti-parkinsoniana. A IRM é uma técnica não invasiva, sendo uma área de elevado interesse no diagnóstico de doenças, nomeadamente da DP.



# Bibliografia

1. Mondino, F., et al., *Magnetic resonance relaxometry in Parkinson's disease*. Neurological Sciences, 2002. **23**(2): p. s87-s88.
2. Dusek, P., J. Jankovic, and W. Le, *Iron dysregulation in movement disorders*. Neurobiology of Disease, 2012. **46**(1): p. 1-18.
3. Núñez, M., et al., *Iron toxicity in neurodegeneration*. BioMetals, 2012. **25**(4): p. 761-776.
4. Zecca, L., et al., *Iron, neuromelanin and ferritin content in the substantia nigra of normal subjects at different ages: consequences for iron storage and neurodegenerative processes*. Journal of Neurochemistry, 2001. **76**(6): p. 1766-1773.
5. Martin W, Fau - Wieler, M., M. Wieler M Fau - Gee, and M. Gee, *Midbrain iron content in early Parkinson disease: a potential biomarker of disease status*. Neurology, 2008. **70**: p.1411-1417.
6. Langkammer C Fau - Krebs, N., et al., *Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study*. Radiology, 2010. **257**(2): p.455-62.
7. Du, G., et al., *Imaging nigral pathology and clinical progression in Parkinson's disease*. Movement Disorders, 2012. **27**(13): p. 1636-1643.
8. Péran, P., et al., *Magnetic resonance imaging markers of Parkinson's disease nigrostriatal signature*. Brain, 2010. **133**(11): p. 3423-3433.
9. 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.
10. Braffman, B.H., et al., *MR imaging of Parkinson disease with spin-echo and gradient-echo sequences*. AJR Am J Roentgenol, 1989. **152**(1): p.159-65.
11. Pope, J., *Medical Physics: Imaging*. 1999, Heunemann Educational Publishers.
12. Kuperan, V., *Magnetic Resonance Imaging – Physical Principles and Applications*. 2000: Academic Press.
13. C. Westbrook, C.K., *MRI in Practice, Second Edition*. 1998: Blackwell Publishing.
14. *Medical websites and e-learning for healthcare professionals - IMAIOS*. Available from: <http://www.imaios.com/en/>.
15. Schild, H.H., *MRI made easy*. 1990: Schering AG.
16. Edelman RR, H.J., Zlatkin MB, Cruess JV, *Clinical magnetic resonance imaging*. 3rd ed. 2006: Saunders Elsevier.

17. *Brain iron deposition in Parkinson's disease imaged using the PRIME magnetic resonance sequence.* Brain, 2001. **124**(6): p. 1258-1258.
18. M. A. Bernstein, K.F.K., X. J. Zhou, *Handbook of MRI Pulse Sequence.* 2004: Elsevier Academic Press.
19. *Parkinson's UK.* Available from: <http://www.parkinsons.org.uk/>.
20. Haas, B., T. Stewart, and J. Zhang, *Premotor biomarkers for Parkinson's disease - a promising direction of research.* Translational Neurodegeneration, 2012. **1**(1): p. 1-11.
21. Gerlach, M., et al., *Biomarker candidates of neurodegeneration in Parkinson's disease for the evaluation of disease-modifying therapeutics.* Journal of Neural Transmission, 2012. **119**(1): p. 39-52.
22. Prakash, B.D., et al., *Asymmetrical diffusion tensor imaging indices of the rostral substantia nigra in Parkinson's disease.* Parkinsonism & Related Disorders, 2012. **18**(9): p. 1029-1033.
23. *The Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS): status and recommendations.* Movement Disorders, 2003. **18**(7): p.738-50.
24. Haacke, E.M., et al., *Imaging iron stores in the brain using magnetic resonance imaging.* Magnetic Resonance Imaging, 2005. **23**(1): p. 1-25.
25. Sofic, E., et al., *Increased iron (III) and total iron content in post mortem substantia nigra of parkinsonian brain.* Journal of Neural Transmission, 1988. **74**(3): p. 199-205.
26. *T1-Weighted MRI shows stage-dependent substantia nigra signal loss in Parkinson's disease.* Movement Disorders, 2012. **27**(2): p. 335-335.
27. Vaillancourt, D.E., et al., *High-resolution diffusion tensor imaging in the substantia nigra of de novo Parkinson disease.* Neurology, 2009. **72**(16): p. 1378-1384.
28. Fearnley Jm Fau - Lees, A.J. and A.J. Lees, *Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity.* Brain, 1991. **114**(5):p.2283-301.
29. Damier P Fau - Hirsch, E.C., et al., *The substantia nigra of the human brain. II. Patterns of loss of dopamine-containing neurons in Parkinson's disease.* Brain, 1999. **122**(8):p.1437-48.
30. Péran, P., et al., *Volume and iron content in basal ganglia and thalamus.* Human Brain Mapping, 2009. **30**(8): p. 2667-2675.
31. *Medical Encyclopedia: MedlinePlus.* Available from: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/19515.htm>.
32. Brooks, D.J. and N. Pavese, *Imaging biomarkers in Parkinson's disease.* Progress in Neurobiology, 2011. **95**(4): p. 614-628.

33. Bilgic, B., et al., *MRI estimates of brain iron concentration in normal aging using quantitative susceptibility mapping*. *NeuroImage*, 2012. **59**(3): p. 2625-2635.
34. Rossi M Fau - Ruottinen, H., et al., *Brain iron deposition and sequence characteristics in Parkinsonism: comparison of SWI, T(2)\* maps, T(2)-weighted-, and FLAIR-SPACE*. *Investigative radiology*, 2010. **45**(12):p.795-802.
35. Atasoy Ht Fau - Nuyan, O., et al., *T2-weighted MRI in Parkinson's disease; substantia nigra pars compacta hypointensity correlates with the clinical scores*. *Neurology India*, 2004. **52**(3):p.332-7.
36. Du, G., et al., *Combined R2\* and Diffusion Tensor Imaging Changes in the Substantia Nigra in Parkinson's Disease*. *Movement Disorders*, 2011. **26**(9): p. 1627-1632.
37. *Least-Squares Fitting*. Available from: <http://www.mathworks.com/help/curvefit/least-squares-fitting.html>.
38. Gudbjartsson, H. and S. Patz, *The rician distribution of noisy mri data*. *Magnetic Resonance in Medicine*, 1995. **34**(6): p. 910-914.
39. Nunes, R.G., *Development of Diffusion Imaging at High Magnetic Field*. 2005, Oxford University.
40. Heverhagen, J.T., *Noise measurement and estimation in MR imaging experiments*. *Radiology*, 2007. **245**(3):p. 638-9.
41. Vaillancourt, D.E., et al., *Effects of aging on the ventral and dorsal substantia nigra using diffusion tensor imaging*. *Neurobiology of Aging*, 2012. **33**(1): p. 35-42.
42. Aquino D Fau - Bizzi, A., et al., *Age-related iron deposition in the basal ganglia: quantitative analysis in healthy subjects*. *Radiology*, 2009. **252**(1):p.165-72.
43. Hernando D Fau - Vigen, K.K., et al., *R(2) mapping in the presence of macroscopic B(0) field variations*. *Magn Reson Med.*, 2012. **68**(3): p.830-840.
44. Gorell Jm Fau - Ordidge, R.J., et al., *Increased iron-related MRI contrast in the substantia nigra in Parkinson's disease*. *Neurology*, 1995. **45**(6):p.1138-43.



# Apêndice A

## Poster apresentado na Poster Session do 5th Workshop on Biomedical Engineering - 2013



### Simulation Study Comparing Algorithms for Estimation of T2\* Relaxation Maps

Sara Ferreira<sup>1,2</sup>, Sofia Reimão<sup>3</sup>, Rita G. Nunes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade de Lisboa, Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica, Portugal

<sup>2</sup> Universidade Nova de Lisboa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Física, Portugal

<sup>3</sup> Hospital de Santa Maria, Departamento de Neuro-radiologia, Portugal

#### INTRODUCTION

- Previous **Magnetic Resonance Imaging (MRI)** studies demonstrate that relaxation constants can be altered in patients with neurodegenerative disorders. For example, it has been shown that iron content in the substantia nigra may increase with disease progression in patients with Parkinson's Disease, resulting in shorter T2\* relaxation times [1].
- Several algorithms are available to estimate the relaxation times from the data and it is therefore important to compare their sensitivity to noise and evaluate the impact of signal outliers.

#### METHODS

##### REAL DATA

- Multi-echo gradient echo images were obtained on a 3.0 T Philips Achieva scanner: 7 echoes, TE min = 13,8 ms, ΔTE = 4,7 ms.
- The algorithm chosen to estimate the T2\* maps was based on the results of the simulations.

##### SIMULATIONS

- Relaxation of signal intensity was modelled assuming an exponential decay and considering the same echo times as used in the real acquisitions. The relaxation parameters were estimated by fitting the simulated data using two types of methods: **non-linear** and **linear** curve fits.

$$S_i = S_0 e^{-TE_i/T2^*} \Leftrightarrow \ln(S_i) = \ln(S_0) - \frac{TE_i}{T2^*}$$

- Simulations were performed using *Matlab*.
- **Least squares minimization algorithms** (Levenberg-Marquardt) were employed, which find the parameters which minimize the residuals.
- **Iteratively reweighted least squares** were also tested. While standard least squares assigns equal weights to each observation, these methods estimate each weight according to the absolute residual. The weights are recalculated at each iteration and the process is repeated until they converge.
- To test which method is more accurate, simulations were performed based on a **pre-defined value of T2\*** (40 ms) within the range reported in the literature (between 35-51 ms) [1].
- To study the impact of the **signal-to-noise ratio (SNR)**, noise was added in quadrature (with Gaussian distribution) and 1000 repetitions were simulated for each value of SNR.
- The presence of **outliers** was also simulated at different positions (2<sup>th</sup>, 4<sup>th</sup> and 6<sup>th</sup> echoes) by multiplying the signal intensity by a factor of 1.5.
- T2\* was estimated for each repetition, and the mean and standard deviation calculated for each SNR. Deviations from the pre-defined T2\* were calculated.
- The **time** required to perform each set of simulations was measured.

#### RESULTS

- **Figure A** – Functions based on the iteratively reweighted least squares appear less vulnerable to outlier data (in the example in the 6<sup>th</sup> echo): the corresponding curves are closest to the gold standard curve. T2\* values estimated using these functions presented deviations lower than 1.5% while for the other tested methods the estimates deviated between 32-37% (for SNR=50 or higher).
- The effect of having outliers in the 2<sup>th</sup> and 4<sup>th</sup> echo positions was also studied. Non-iterative methods were less sensitive to outliers in the 4<sup>th</sup> echo, with T2\* estimates closer to the gold standard value.

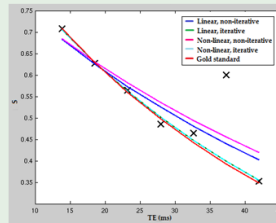


Figure A

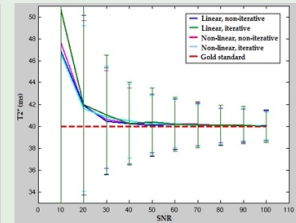


Figure B

- **Figure B** – The deviations from the pre-defined T2\* were comparable for all methods when there was noise but no outliers: for SNRs higher than 50, the estimated values were within 1% of the gold standard T2\*. Errors associated to estimated T2\* values decreased with increasing SNR.
- The time required to perform the simulations based on non-linear fits took longer than linear, whether it was as iterative algorithm or not. To simulate all repetitions and SNR values, the linear iterative algorithm took 15,04 s while the non-linear iterative algorithm took 151,85 s.

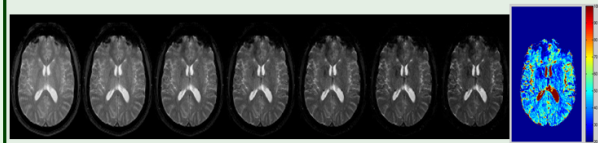


Figure C

- **Figure C** – Example of images produced at the different echo times, for the same axial section. Corresponding T2\* map calculated using the iterative linear method. The T2\* values were within the expected range.

#### DISCUSSION / CONCLUSION

- This work shows that estimation of T2\* can be highly sensitive to the presence of outliers and that the use of robust methods, able to identify their presence is therefore preferable. When comparing linear versus non-linear fitting functions, similar deviations and errors were obtained for the T2\*. Considering the high number of pixels within a 3D brain MR image, speed may also be an issue, in which case an iterative linear fitting algorithm may be the best choice.

#### FUTURE WORK

- T2\* measurements can be confounded by macroscopic B0 field variations. The next step of this project will be to incorporate B0 field correction to the estimation algorithm as suggested by Dahnke et al [2].

#### REFERENCES

- [1] Baudrexel, S et al., (2010). Quantitative mapping of T1 and T2\* discloses nigral and brainstem pathology in early Parkinson's disease. *NeuroImage*, 51(2), 512–20
- [2] Dahnke, H., and Schaeffter, T. (2005). Limits of detection of SPIO at 3.0 T using T2 relaxometry. *Magnetic Resonance in Medicine* 53(5), 1202–6

## Apêndice B

### Caracterização da amostra

ID	Sexo	Idade (anos)	UPDRS total	Score clínico	Lado dos primeiros sintomas
1	F	64	27	4	direito
2	M	62	-	-	direito
3	M	75	49	-1	esquerdo
4	M	70	52	-6	esquerdo
5	M	78	44	2	direito
6	F	56	39	3	direito
7	M	68	67	1	direito
8	M	64	25	3	direito
9	M	64	60	-1	direito
10	M	68	60	4	esquerdo

**Tabela B1** – Resumo da informação clínica para o grupo “Pacientes com DP 2-5 anos”.

ID	Sexo	Idade (anos)	UPDRS total	Score clínico	Lado dos primeiros sintomas
11	F	61	26	-1	esquerdo
12	F	76	32	-1	esquerdo
13	M	52	39	8	direito
14	F	67	26	-2	esquerdo
15	M	64	30	-1	esquerdo
16	F	81	82	4	direito
17	F	82	55	-3	esquerdo
18	M	47	43	-6	esquerdo
19	F	57	36	-12	esquerdo
20	M	54	27	6	direito
21	F	46	26	-7	esquerdo
22	M	65	114	-11	esquerdo

**Tabela B2** – Resumo da informação clínica para o grupo “Pacientes com DP de novo”.

ID	Sexo	Idade (anos)	UPDRS total
23	M	48	0
24	F	55	0
25	M	63	0
26	F	70	0
27	M	72	68
28	M	59	0
29	F	55	13
30	M	69	0
31	F	60	0
32	M	60	0

**Tabela B3** – Resumo da informação clínica para o grupo “Controlos”.

## Apêndice C

### Resultados obtidos da marcação das ROIs

ID	SNr_D	SNm_D	SNc_D	SNr_E	SNm_E	SNc_E
1	11,2 ± 2,9	18,9 ± 2,4	18,0 ± 2,2	12,4 ± 1,7	20,1 ± 1,5	22,5 ± 1,7
2	13,6 ± 3,9	19,6 ± 2,3	21,2 ± 2,0	10,8 ± 2,9	12,4 ± 2,1	9,8 ± 2,2
3	17,2 ± 1,8	13,1 ± 1,1	19,5 ± 1,7	18,5 ± 4,9	10,0 ± 2,0	19,7 ± 2,6
4	18,4 ± 1,7	20,6 ± 0,6	25,8 ± 4,2	19,4 ± 3,0	17,0 ± 1,3	22,5 ± 2,1
5	-	-	-	-	-	-
6	15,8 ± 1,5	19,2 ± 2,4	32,7 ± 1,8	21,4 ± 2,3	31,3 ± 1,9	30,3 ± 3,1
7	20,9 ± 4,2	31,6 ± 3,3	32,7 ± 1,8	18,9 ± 2,8	28,0 ± 2,3	45,6 ± 2,9
8	27,2 ± 1,8	34,8 ± 3,6	33,3 ± 1,2	27,8 ± 2,0	37,0 ± 3,5	28,5 ± 2,0
9	28,7 ± 3,0	34,9 ± 4,8	43,5 ± 3,2	19,6 ± 2,1	48,2 ± 8,7	37,1 ± 5,6
10	16,6 ± 4,0	26,7 ± 2,7	19,2 ± 2,3	23,3 ± 3,8	30,7 ± 2,5	32,0 ± 4,0

**Tabela C1** – Valores médios de T2\* e respectivo desvio padrão obtidos para o grupo “Pacientes com DP 2-5 anos”.



ID	SNr_D	SNm_D	SNc_D	SNr_E	SNm_E	SNc_E
11	21,3 ± 3,7	29,5 ± 1,8	25,2 ± 2,9	13,1 ± 1,5	28,5 ± 1,0	25,2 ± 2,9
12	-	-	-	-	-	-
13	14,9 ± 0,8	13,3 ± 1,6	20,9 ± 1,8	12,0 ± 0,5	12,6 ± 2,8	29,8 ± 3,5
14	16,5 ± 1,0	19,0 ± 1,3	20,9 ± 1,8	17,0 ± 0,9	18,0 ± 0,8	17,5 ± 3,2
15	13,6 ± 1,8	20,6 ± 2,0	20,7 ± 2,7	12,5 ± 2,4	10,5 ± 2,4	13,7 ± 1,3
16	21,8 ± 0,5	36,5 ± 1,2	34,4 ± 2,5	17,3 ± 1,1	31,9 ± 4,4	41,1 ± 2,5
17	-	-	-	-	-	-
18	14,0 ± 1,4	17,7 ± 1,1	17,3 ± 3,4	19,7 ± 3,1	25,8 ± 1,3	18,4 ± 3,4
19	12,3 ± 1,3	20,0 ± 1,5	30,4 ± 3,1	18,6 ± 1,3	26,9 ± 2,9	30,5 ± 6,7
20	17,2 ± 1,5	27,2 ± 1,9	26,2 ± 3,3	16,3 ± 1,9	21,2 ± 1,7	25,2 ± 2,6
21	23,9 ± 2,3	31,6 ± 2,6	39,2 ± 4,7	30,4 ± 3,2	41,5 ± 3,7	39,8 ± 2,9
22	31,8 ± 3,8	37,7 ± 3,4	33,1 ± 2,9	18,0 ± 1,9	31,1 ± 2,4	28,0 ± 3,1

**Tabela C2** – Valores médios de T2\* e respectivo desvio padrão obtidos para o grupo “Pacientes com DP de novo”.

ID	SNr_D	SNm_D	SNc_D	SNr_E	SNm_E	SNc_E
23	21,1 ± 2,5	21,6 ± 1,0	32,7 ± 2,2	19,8 ± 1,6	21,4 ± 1,5	30,5 ± 2,3
24	16,1 ± 1,3	17,8 ± 1,7	25,6 ± 2,7	12,5 ± 2,2	16,7 ± 2,0	23,6 ± 2,6
25	17,7 ± 1,6	22,8 ± 1,7	23,8 ± 3,9	14,3 ± 1,3	26,3 ± 5,2	21,5 ± 1,9
26	18,2 ± 1,9	19,9 ± 1,1	20,2 ± 3,1	20,0 ± 2,2	27,3 ± 5,1	27,4 ± 4,0
27	29,6 ± 1,3	33,3 ± 0,8	26,9 ± 2,6	31,7 ± 7,4	31,5 ± 2,1	35,3 ± 4,1
28	20,5 ± 1,0	28,5 ± 2,9	42,9 ± 4,9	18,0 ± 2,8	25,1 ± 8,0	32 ± 4,1
29	53,8 ± 9,9	42,2 ± 4,4	40,1 ± 5,2	49,2 ± 6,8	35,9 ± 3,1	29,5 ± 1,9
30	28,9 ± 3,8	24,7 ± 4,2	30,1 ± 2,1	25,0 ± 3,6	21,1 ± 5,0	25,9 ± 5,2
31	16,2 ± 2,5	24,5 ± 1,2	31,5 ± 3,5	17,7 ± 2,5	30,5 ± 2,4	28,5 ± 2,7
32	-	-	-	-	-	-

**Tabela C3** – Valores médios de T2\* e respectivo desvio padrão obtidos para o grupo “Controlos”.