



Alexandra Marques Pinto

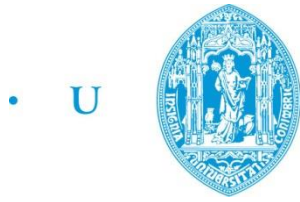
Diagnóstico diferencial de síndromes parkinsónicas com base em dados multimodais de imagem

Dissertação de Mestrado na área científica de Engenharia Biomédica, especialidade em Imagem e Radiação,
orientada pelo Professor Doutor Miguel Sá Sousa Castelo Branco e Professor Doutor Francisco Paulo Marques Oliveira
e apresentada ao Departamento de Física da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Setembro 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA



• C •

FCTUC FACULDADE DE CIÊNCIAS
E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Diagnóstico diferencial de síndromes parkinsónicas com base em dados multimodais de imagem

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos
necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Autor

Alexandra Marques Pinto

Orientadores

Francisco Paulo Marques de Oliveira

Miguel Sá Sousa Castelo Branco

Coimbra, 2017

Este trabalho foi desenvolvido em colaboração com:

Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde



Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra



Esta cópia da tese é fornecida na condição de que quem a consulta reconhece que os direitos de autor são pertença do autor da tese e que nenhuma citação ou informação obtida a partir dela pode ser publicada sem a referência apropriada.

This copy of the thesis has been supplied on condition that anyone who consults it is understood to recognize that its copyright rests with its author and that no quotation from the thesis and no information derived from it may be published without proper acknowledgement.

[Out of the night that covers me,
Black as the Pit from pole to pole,
I thank whatever gods may be
For my unconquerable soul.

In the fell clutch of circumstance
I have not winced nor cried aloud.
Under the bludgeonings of chance
My head is bloody, but unbowed.

Beyond this place of wrath and tears
Looms but the Horror of the shade,
And yet the menace of the years
Finds, and shall find, me unafraid.

It matters not how strait the gate,
How charged with punishments the scroll.

I am the master of my fate:
I am the captain of my soul.]

[William Ernest Henley]

À minha Mãe.

Agradecimentos

Após a conclusão de mais uma etapa do meu percurso académico, resta-me agradecer de forma sincera e honesta às inúmeras pessoas que contribuíram para a concretização deste trabalho.

Em primeiro lugar, quero deixar um agradecimento especial ao Professor Doutor Francisco Paulo Marques de Oliveira, não só pelo apoio, pela disponibilidade e pela simpatia demonstrados ao longo deste percurso, mas também pelos conhecimentos partilhados de forma honesta e sincera. Ao Professor Doutor Miguel Sá Sousa Castelo Branco, pelos conhecimentos transmitidos e disponibilidade demonstrada.

Deixo ainda o meu sincero agradecimento ao ICNAS, que me proporcionou os meios e materiais necessários para a concretização deste trabalho e ao serviço de Neurologia dos HUC, em particular à Doutora Cristina Januário por me receber da melhor forma e transmitir a sua sincera opinião e o seu conhecimento. Ao Doutor Fradique Moreira e ao Doutor Mário Sousa, pela atenção prestada, pelos conhecimentos e pela disponibilidade incansável que sempre demonstraram de forma voluntária.

Como Madre Teresa de Calcutá referiu em tempos, “As palavras de amizade e conforto podem ser curtas e sucintas, mas o seu eco é infindável.”. Desta forma, completo os meus agradecimentos deixando um “Obrigada” especial e repleto de honestidade, a todos os meus amigos que nas horas de maior necessidade, souberam honrar as palavras amizade e conforto. Um “Obrigada” à Rita Bastos pelos momentos e pelas palavras, pelo apoio incansável, pela loucura saudável e pelas risadas espontâneas que tornaram estes anos inesquecíveis. À Maria Pipa, dirijo um agradecimento emocionado pela presença constante e pelos gestos simples que possibilitaram o meu percurso ao longo destes 5 anos. Ao Eduardo Preto, agradeço especialmente pela constante motivação, força de vontade e paciência que me ergueram nos momentos mais decisivos.

Por último, deixo um agradecimento repleto de respeito à minha Mãe, Dulce Pinto, que me provou com toda a clareza que existem supermulheres na vida real. À minha Madrinha, Célia Marques, que soube estar ao meu lado de forma incomparável. Ao meu Irmão, Ricardo Pinto, que me enche de orgulho e acompanha em qualquer etapa da minha

vida. Ao meu Pai, pela sua influência e dedicação que me permitiram tornar na pessoa que hoje sou. À minha Avó e ao meu Avô, que me inspiraram pelas suas forças sobre-humanas. À minha Tia e ao meu Padrinho, pela preocupação e presença constante.

A vocês, Família e Amigos, devo este trabalho. E relembro cada um de vós que “Todos os nossos sonhos podem realizar-se, se tivermos a coragem de persegui-los.” (Walt Disney).

Resumo

A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, afetando cerca de 1% da população mundial com idade superior a 65 anos. Caracteriza-se principalmente pela degenerescência dos neurónios dopaminérgicos na substância negra, envolvendo também diferentes regiões cerebrais. Avanços nos estudos de neuroimagem molecular, estrutural e funcional têm aumentado o conhecimento acerca das diversas síndromes parkinsónicas, salientando-se o uso da imagem de ressonância magnética estrutural na segmentação do sistema nervoso e na deteção de possíveis alterações de volume cerebral. O estudo de alterações volumétricas cerebrais permite inferir sobre a relação entre as possíveis alterações cerebrais características das diferentes síndromes parkinsónicas e os sintomas característicos dessas síndromes, apresentando-se assim como um complemento ao diagnóstico diferencial da doença de Parkinson, cujo diagnóstico é realizado com base em critérios clínicos e neuropatológicos observados nos doentes.

Neste contexto surgiu o tema deste trabalho cujo principal objetivo foi estudar as potencialidades do uso de imagens de ressonância magnética estrutural no diagnóstico diferencial das síndromes parkinsónicas. Para tal, foi usado um *dataset*, disponibilizado pelo ICNAS, constituído por 62 imagens de ressonância magnética estrutural (correspondentes a 14 controlos, 26 doentes com doença de Parkinson (DP), 8 doentes com atrofia de sistemas múltiplos (AMS), 7 doentes com degenerescência corticobasal (DCB) e 7 doentes com demência com corpos de Lewy (DCL)) e aplicada uma análise estatística paramétrica recorrendo ao *software Matlab R2015b* e à *toolbox SPM12*. Foi ainda avaliada a capacidade de classificar individualmente as diferentes síndromes parkinsónicas recorrendo aos dados volumétricos obtidos na análise estatística paramétrica. Para tal, foram criados classificadores no *software Matlab R2015b*, utilizando o método SVM e a sua biblioteca LIBSVM.

A análise volumétrica realizada permitiu identificar regiões cerebrais com diferenças estatisticamente significativas de volumes médios de substância cinzenta e branca nas diferentes síndromes parkinsónicas e associar as alterações observadas aos sintomas clínicos característicos das síndromes em estudo. As comparações em estudo

foram incluídas nos grupos síndrome versus controlo, síndromes versus controlo, síndromes versus síndromes e ainda, síndrome versus síndrome. A comparação volumétrica DP versus controlo, permitiu observar uma diminuição de substância cinzenta no lobo parietal e no lado esquerdo do lobo temporal nos doentes com DP. Por outro lado, a comparação entre doentes com AMS e indivíduos saudáveis indicou uma atrofia do lado esquerdo do lobo temporal dos doentes com AMS. O estudo da substância cinzenta entre doentes com DCB e indivíduos saudáveis demonstrou, por sua vez, atrofia do lado esquerdo do lobo frontal e do lado direito dos lobos occipital e temporal nos cérebros dos doentes com DCB, que poderão explicar alguns dos sintomas associados à DCB. A comparação entre DCL e controlo indicou uma diminuição bilateral de volume médio de substância cinzenta nos lobos frontal, temporal e parietal e no lado direito do lobo occipital dos doentes com DCL.

As classificações efetuadas apresentaram, na sua maioria, valor clínico e estatístico podendo representar uma mais-valia no diagnóstico clínico individual das síndromes parkinsónicas. As classificações binárias indicaram valores de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada contidos em intervalos de 71%-88%, 71%-100% e 72%-93%, respetivamente. Observou-se uma exceção no caso da classificação entre os grupos de doentes com DCL e doentes com DCB, na qual a classificação não revelou ser significativa. A classificação multiclasse realizada com os 4 grupos de doentes revelou uma precisão significativa de 46%, acima do nível do acaso.

Palavras-chave: Doença de Parkinson; Ressonância magnética; SPM12; Síndromes parkinsónicas.

Abstract

Parkinson's disease is the second most common neurodegenerative disease, affecting about 1% of the world's population over 65 years of age.

It is mainly characterized by the degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra, also involving different brain regions. Advances in molecular, structural and functional neuroimaging studies have increased the knowledge about the neurobiological complexity of the various parkinsonian syndromes, emphasizing the use of structural magnetic resonance imaging in the segmentation of the nervous system and in the detection of possible changes in mean brain volume. The study of cerebral volumetric alterations allows to infer about the relation between the possible cerebral alterations characteristic of the different parkinsonian syndromes and the characteristic symptoms of these syndromes, presenting as a complement to the differential diagnosis of Parkinson's disease, which diagnosis is based on clinical criteria and neuropathological conditions observed in patients.

In this context the theme of this work appeared, which main objective was to study the potentialities of the use of structural magnetic resonance imaging in the differential diagnosis of the parkinsonian syndromes. For this, a dataset from ICNAS was used, consisting of 62 structural magnetic resonance images (corresponding to 14 control subjects, 26 patients with Parkinson's disease (PD), 8 patients with multiple system atrophy (MSA), 7 patients with corticobasal degeneration (CBD) and 7 patients with dementia with Lewy bodies (DLB)) and was applied a parametric statistical analysis using the software **Matlab R2015b** and toolbox **SPM12**.

The ability to classify the different parkinsonian syndromes individually using the volumetric data obtained in the parametric statistical analysis was also evaluated. For this, classifiers were created in the **Matlab R2015b** software, using the SVM method and its LIBSVM library.

The volumetric analysis allowed to identify cerebral regions with statistically significant differences of gray and white matter volumes in the different parkinsonian syndromes and to associate the observed changes with the clinical symptoms characteristic

of the syndromes under study. The comparisons under study were included in the groups syndrome versus control, syndromes versus control, syndromes versus syndromes and syndrome versus syndrome. Volumetric comparison of DP versus control showed a decrease in gray matter in the parietal lobe and in the left side of the temporal lobe in patients with PD. On the other hand, the comparison between patients with MSA and healthy individuals showed left atrophy of the temporal lobe of MSA patients. The study of gray matter between CBD patients and healthy individuals has shown atrophies on the left side of the frontal lobe and on the right side of the occipital and temporal lobes in the brains of patients with CBD who may explain some of the symptoms associated with CBD. The comparison between LBD and control indicated a bilateral decrease in mean gray matter volume in the frontal, temporal and parietal lobes and in the right side of the occipital lobe of the patients with LBD.

The classifications performed showed, in the majority, clinical and statistical value and could represent an added value in the individual clinical diagnosis of the parkinsonian syndromes. Binary classifications indicated values of sensitivity, specificity and balanced precision contained in intervals of 71%-88%, 71%-100% and 72%-93%, respectively. An exception was noted in the case of classification between the groups of patients with LBD and patients with CBD, in which the classification did not prove to be significant. The multiclass classification performed with the 4 patient groups showed a significant accuracy of 46%, beyond chance levels.

Keywords Parkinson's Disease; Magnetic resonance; SPM12; Parkinsonian syndromes.

Índice

Índice de Figuras	xi
Índice de Tabelas	xiii
Siglas	xvii
Capítulo 1	1
Introdução	1
1.1. Apresentação da dissertação	1
1.2. Objetivos da dissertação	3
1.3. Organização da dissertação	4
Capítulo 2	5
A doença de parkinson e as síndromes parkinsónicas	5
2.1. Doença de Parkinson: introdução à doença.....	5
2.1.1. Fisiopatologia da doença de Parkinson	6
2.1.1.1. Modelo clássico da ansa motor corticobasal talamocortical	6
2.1.1.2. Neuropatologia da doença de Parkinson: por detrás do modelo clássico	9
2.1.2. Diagnóstico clínico da doença de Parkinson.....	11
2.2. Síndromes Parkinsónicas Atípicas	13
2.2.1. Demência com corpos de Lewy (DCL)	14
2.2.2. Atrofia de sistemas múltiplos (AMS)	16
2.2.3. Degenerescência corticobasal (DCB)	18
Capítulo 3	21
Neuroimagem na doença de Parkinson	21
3.1. Métodos de neuroimagem na doença de Parkinson	21
3.2. Imagem de ressonância magnética na doença de Parkinson.....	22
3.2.1. Ressonância magnética estrutural – princípios básicos	24
3.2.1.1. Sequências de pulso	28
3.2.1.2. Imagens ponderadas em T1	29
Capítulo 4	31
Métodos e materiais	31
4.1. Descrição do <i>dataset</i> em estudo	31
4.1.1. Protocolo de diagnóstico clínico dos indivíduos em estudo	32
4.1.2. Protocolo de aquisição das imagens de ressonância magnética.....	32
4.2. Processamento e leitura das imagens de ressonância magnética	33
4.3. SPM12 – Mapeamento estatístico paramétrico	33
4.3.1. MBV - Morfometria baseada em vóxel	35
4.3.1.1. Normalização espacial.....	36
4.3.1.2. Segmentação.....	36

4.3.1.3. Modulação.....	37
4.3.1.4. Suavização	38
4.3.1.5. Análise estatística paramétrica.....	38
4.3.1.5.1. Teste <i>t-student</i> para duas amostras	42
4.3.1.5.2. Teste ANOVA <i>One-way</i>	45
4.3.1.5.3. Identificação das regiões cerebrais	47
4.3.2. MBV com DARTEL	48
4.3.3. Limitações da MBV	49
4.4. Classificação Binária e Multiclasse: SVM e LIBSVM	50
4.4.1. Extração e seleção de <i>features</i>	53
4.4.2. Treino e avaliação do classificador	55
4.4.3. Avaliação estatística dos classificadores	56
Capítulo 5.....	59
Resultados.....	59
5.1. Análise da aplicação do método MBV	59
5.1.1. Análise do pré-processamento das imagens de ressonância magnética .	59
5.1.2. Análise da aplicação da estatística paramétrica – Teste “ <i>Two-sample t-test</i> ” e “ <i>One-way ANOVA</i> ”	61
5.1.2.1. Teste “ <i>Two-sample t-test</i> ” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndrome versus controlo e síndromes versus controlo	61
5.1.2.2. Teste “ <i>One-way ANOVA</i> ” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndromes versus síndromes	70
5.1.2.3. Teste “ <i>Two-sample t-test</i> ” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndrome versus síndrome	73
5.2. Análise da classificação com o SVM e LIBSVM	84
5.2.1. Avaliação dos classificadores.....	84
Capítulo 6.....	87
Discussão	87
Capítulo 7.....	105
Conclusões.....	105
Referências Bibliográficas	107
Apêndice A.....	117

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1: Representação dos gânglios da base. Retirada de ²⁴	7
Figura 2.2: Esquema das regiões e vias envolvidas no circuito motor corticobasal gânglio talamocortical. A tracejado encontra-se representada a via indireta, cuja ativação inibe os movimentos e a azul encontra-se a via direta que facilita os movimentos. Adaptada de ²⁶	8
Figura 2.3: a) e b) Fases pré-sintomáticas e sintomáticas da doença de Parkinson. a) A fase pré-sintomática é caracterizada pelo surgimento de corpos de Lewy ou neurites no cérebro de indivíduos assintomáticos. Na fase sintomática, o limite neuropatológico individual é ultrapassado (seta preta). O aumento da intensidade das áreas coloridas por baixo da diagonal indica o aumento da gravidade da doença em regiões cerebrais vulneráveis (representadas na Figura 2.3 b)). b) Diagrama representativo da evolução do processo patológico (setas brancas). As intensidades da cor das áreas correspondem às representadas na Figura 2.3 a). Adaptada de ²⁸	9
Figura 3.1: (a) Representação do movimento aleatório dos prótons; (b) Alinhamento dos prótons após aplicação de um campo magnético (B_0) criando-se uma magnetização M_0 ; (c) Representação do movimento de precessão dos prótons em torno do eixo Z do campo magnético B_0 . Adaptada de ⁴⁵	26
Figura 3.2: a) Processo de relaxação T1 (Longitudinal); b) Processo de relaxação T2 (Transversal). Adaptada de ⁴⁵	28
Figura 3.3: Sinal eco de spin. Representação do tempo de eco (TE) e do tempo de repetição (TR). Adaptada de ⁴⁶	29
Figura 4.1: <i>Toolbox</i> SPM12 do <i>software</i> Matlab.	34
Figura 4.2: Processo de análise estatística paramétrica na <i>toolbox</i> SPM12 – Janela do botão <i>Basic Models</i> : Módulo <i>Factorial design specification</i> . Representação da lista de parâmetros possíveis de alterar para criação do modelo estatístico.	40
Figura 4.3: Processo de análise estatística paramétrica na <i>toolbox</i> SPM12 – Janela do botão <i>Estimate</i> : Módulo <i>Model Estimation</i>	41
Figura 4.4: Hiperplano separador da classificação binária realizada pelo SVM. Retirada de ⁷⁶	51
Figura 5.1: Análise do pré-processamento das imagens de RM recorrendo ao <i>software</i> ITK-SNAP. Representação do corte axial da substância cinzenta (a), substância branca (b) e líquido cefaloraquidiano (c) do cérebro de um doente diagnosticado com doença de Parkinson.	60
Figura 5.2: Análise do pré-processamento das imagens de RM recorrendo ao <i>software</i> 3D-Slicer. Representação do corte axial (a), sagital (b) e coronal (c) da substância cinzenta (verde) e da substância branca (vermelho) do cérebro de um controlo saudável.	60

Figura 5.3: Imagem estatística t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DP < controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos DP e controlo.	66
Figura 5.4: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste AMS < Controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos AMS e controlo.....	67
Figura 5.5: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DCL < Controlo nas imagens de substância cinzenta (a) e nas imagens de substância branca (b), para os grupos DCL e controlo.....	68
Figura 5.6: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DCB < Controlo nas imagens de substância cinzenta (a) e nas imagens de substância branca (b), para os grupos DCB e controlo.....	69
Figura 5.7: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste Síndromes < Controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos síndromes (DP, DCB, DCL e AMS) e controlo.....	70
Figura 5.8: Imagens estatísticas F obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>One-way ANOVA</i> ”, considerando o contraste F nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b).	73
Figura 5.9: Imagem estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DP < AMS nas imagens de substância cinzenta, para os grupos DP e AMS.....	79
Figura 5.10: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DP > DCL nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos DP e DCL.	80
Figura 5.11: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DP > DCB nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos DP e DCB.	81
Figura 5.12: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste AMS > DCL nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos AMS e DCL.....	82
Figura 5.13: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste AMS > DCB nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos AMS e DCB.	83
Figura 5.14: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “ <i>Two-sample t-test</i> ”, considerando o contraste DCL > DCB (a) e o contraste DCL < DCB (b), nas imagens de substância cinzenta para os grupos DCL e DCB. .	83

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1: Regiões cerebrais envolvidas na doença de Parkinson. Os neurotransmissores encontram-se representados entre parêntesis: acetilcolina (ACh); dopamina (DA); norepinefrina (NEpi); serotonina (Ser). Adaptada de ²⁶	10
Tabela 2.2: Critérios de diagnóstico clínico da DP do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido. Adaptada de ³⁰	12
Tabela 2.3: Critérios revistos de diagnóstico clínico DCL. REM: <i>rapid eye movement</i> ; SPECT: tomografia computadorizada por emissão de fóton único; PET: tomografia por emissão de positrões; RM: ressonância magnética. Adaptada de ^{35,37,38}	14
Tabela 2.4: Critérios clínicos de AMS provável e AMS possível. Adaptada de ^{35,39}	17
Tabela 2.5: Características de suporte ou contra o diagnóstico de AMS. Adaptada de ^{35,39}	17
Tabela 2.6: Critérios de diagnóstico da DCB. Adaptada de ³⁵	18
Tabela 2.7: Síndromes associadas com a patologia da DCB. Adaptada de ⁴²	19
Tabela 4.1: Detalhes dos grupos de doentes e dos controlos em estudo. N (número de indivíduos em cada grupo), Peso (média \pm desvio padrão) em kg, Idade (média \pm desvio padrão) em anos e Sexo (masculino / feminino).....	31
Tabela 4.2: Contrastes definidos para os modelos “ <i>Two-sample t-test</i> ” – síndrome versus controlo saudável, síndrome versus síndrome e síndromes versus controlo saudável. Os modelos e respetivos contrastes foram aplicados nas imagens de substância cinzenta (SC) e substância branca (SB), em cada comparação efetuada. Os grupos em comparação foram DP, AMS, DCL e DCB e controlo.	43
Tabela 4.3: Contraste definido para o modelo “ <i>one-way ANOVA</i> ” – comparação entre os diferentes grupos de síndromes. O modelo ANOVA foi aplicado às imagens de substância cinzenta e substância branca de forma a avaliar a significância estatística. Os grupos em comparação foram DP, AMS, DCL e DCB.....	47
Tabela 4.4: Grupos para a classificação recorrendo ao SVM e à biblioteca LIBSVM – classificação binária e multiclasse.	52
Tabela 4.5: Definição de ROI – aplicação de máscaras definidas através das imagens estatísticas t e F.....	53
Tabela 4.6: Tabela de contingência para a classificação binária. Adaptada de ⁸⁰	56
Tabela 5.1: Resultados da análise estatística “ <i>Two-sample t-test</i> ” aplicada aos grupos DP, controlo, AMS, DCL, DCB e todas as síndromes. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e <i>threshold</i> de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de <i>Threshold T</i> , das coordenadas	

no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*. 62

Tabela 5.2: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, controlo, AMS, DCL, DCB e todas as síndromes. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*. 64

Tabela 5.3: Resultados da análise estatística “*One-way ANOVA*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold F*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor F associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*..... 71

Tabela 5.4: Resultados da análise estatística “*One-way ANOVA*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold F*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor F associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*..... 72

Tabela 5.5: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*..... 73

Tabela 5.6: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*..... 76

Tabela 5.7: Resultados das classificações com os dados originais e à sorte aplicadas aos grupos DP, AMS, DCL e DCB e controlo. Representação dos valores de Sensibilidade (%), Especificidade (%), Precisão balanceada (%), Precisão (%),

Média da precisão balanceada (%) e Média da precisão (%). As classificações marcadas com * são estatisticamente significativas. 85

SIGLAS

ACh	Acetilcolina
AD	Difusividade axial, do inglês <i>Axial Diffusivity</i>
AMS	Atrofia de sistemas múltiplos
DA	Dopamina
DARTEL	<i>Diffeomorphic Anatomical Registration Using Exponentiated Lie Algebra</i>
DCB	Degenerescência corticobasal
DCL	Demência com corpos de Lewy
DTI	Imagem por tensor de difusão, do inglês <i>Diffusion Tensor Imaging</i>
FA	Anisotropia fraccionada, do inglês <i>Fractional Anisotropy</i>
fMRI	Imagem de ressonância magnética funcional, do inglês <i>Functional Magnetic Resonance Imaging</i>
FWHM	<i>Full width at half maximum</i>
GABA	Ácido gama-aminobutírico
GLM	Modelo linear geral, do inglês <i>Generalized Linear Model</i>
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LOOCV	<i>Leave-One-Out Cross-validation</i>
MBV	Morfometria baseada em vóxel, do inglês <i>Voxel-based morphometry</i>
MD	Difusividade média, do inglês <i>Mean Diffusivity</i>
MTI	Imagem por transferência de magnetização, do inglês <i>Magnetization Transfer Imaging</i>
ML	<i>Machine Learning</i>
MNI	<i>Montreal Neurological Institute</i>
MRI	Imagem de ressonância magnética, do inglês <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
MRS	Espectroscopia por ressonância magnética, do inglês <i>Magnetic</i>

	<i>Resonance Spectroscopy</i>
NEpi	Norepinefrina
OdBa	<i>Outside Defines Brodmann Area</i>
PET	Tomografia por emissão de positrões, do inglês <i>Positron Emission Tomography</i>
RD	Difusividade radial, do inglês <i>Radial Diffusivity</i>
REM	<i>Rapid Eye Movement</i>
ReML	Máxima verossimilhança restrita, do inglês <i>Restricted Maximum Likelihood</i>
RM	Ressonância magnética
ROI	<i>Region of Interest</i>
SB	Substância branca
SC	Substância cinzenta
Ser	Serotonina
SNR	<i>Signal-to-noise ratio</i>
SPECT	Tomografia computadorizada por emissão de fóton único, do inglês <i>Single-Photon Emission Computed Tomography</i>
SPM	Mapeamento estatístico paramétrico, do inglês <i>Statistical Parametric Mapping</i>
TCS	Sonografia transcranial, do inglês <i>Transcranial Sonography</i>
TE	Tempo de eco
TR	Tempo de repetição

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1. Apresentação da dissertação

A doença de Parkinson (DP) é uma doença neurodegenerativa progressiva caracterizada não só pela degenerescência de neurónios dopaminérgicos na substância negra como também pela perda de neurónios no córtex e núcleos subcorticais afetados durante a evolução da doença ¹. Os sintomas motores característicos da DP são a bradicinesia, rigidez, tremor e instabilidade postural. O surgimento destes sintomas encontra-se associado à morte das células dopaminérgicas na substância negra parte compacta. No entanto, a fisiopatologia associada aos sintomas não motores, como a depressão, fadiga, apatia, distúrbios do sono, disfunções autonómas e défices cognitivos, é menos conhecida e entendida. O estudo das regiões cerebrais associadas a sintomas não motores da DP permite adquirir mais conhecimentos acerca da fisiopatologia e manifestações pré-motoras da doença ².

As tecnologias de ressonância magnética são baseadas no uso de campos magnéticos e pulsos de radiofrequências para obter imagens anatómicas. Estudos publicados suportam o uso da imagem de ressonância magnética para o diagnóstico da DP ³.

A morfometria baseada em vóxel (MBV) é uma técnica que tem sido usada para avaliar as mudanças de volume de substância cinzenta em doentes com DP, recorrendo a imagens de ressonância magnética. Alguns desses estudos demonstraram atrofia cerebral em diversas regiões corticais e subcorticais, incluindo os lobos frontal, temporal, occipital e parietal e áreas límbicas e paralímbicas ^{1,4-7}. No entanto, é importante ter em conta que nenhum destes estudos permitiu ainda retirar conclusões consistentes. Na

realidade, existem ainda estudos que não permitiram encontrar quaisquer alterações de substância cinzenta recorrendo à MBV, permitindo assim concluir que existe uma inconsistência entre os resultados obtidos nos diferentes estudos presentes na literatura ¹. A alteração volumétrica cerebral em doentes com DP requer assim, estudos e análises complementares.

Um diagnóstico correto da doença de Parkinson é importante por motivos de prognóstico e terapêutica, sendo ainda essencial para a investigação clínica. Sabe-se que existem síndromes parkinsonianas atípicas como a degenerescência corticobasal, a atrofia de sistemas múltiplos e a demência com corpos de Lewy cujas causas e fisiopatologias permanecem ainda desconhecidas ⁸. Algumas investigações recorreram à técnica MBV e a imagens de ressonância magnética para efetuar comparações volumétricas de substância cinzenta entre doentes com degenerescência corticobasal e controlos saudáveis, doentes com atrofia de sistemas múltiplos e controlos saudáveis e ainda, doentes com demência com corpos de Lewy e controlos saudáveis ⁹⁻¹³. A falta de consistência verificada nos resultados presentes na literatura realça, mais uma vez, a necessidade de realizar, de forma compreensiva entre patologias, estudos volumétricos cerebrais complementares, de modo a permitir um diagnóstico diferencial mais preciso das diferentes síndromes atípicas.

Embora a morfometria baseada em vóxel tenha permitido observar padrões diferenciadores em doentes com síndromes parkinsonianas, estes têm apresentado pouco impacto ao nível da diferenciação individual dos doentes. É, no entanto, importante transpor os resultados obtidos da análise MBV para a clínica e a classificação individual. Neste sentido, estudos têm recorrido ao SVM (do inglês *Support Vector Machine*) para melhorar o diagnóstico diferencial individual das diferentes síndromes parkinsonianas, recorrendo aos dados volumétricos das análises MBV ¹⁴.

Neste contexto, o ICNAS (Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde), em colaboração com o serviço de Neurologia dos HUC (Hospitais Universitários de Coimbra), tem vindo a investigar as possibilidades de diagnóstico diferencial das diferentes síndromes parkinsonianas recorrendo a dados de imagem multimodal, nos quais se inserem os dados de imagem de ressonância magnética estrutural. Diversos dados funcionais e estruturais têm sido avaliados e examinados, nomeadamente os dados volumétricos extraídos de imagens de ressonância magnética.

A presente dissertação pretende estudar as potencialidades do uso da imagem de ressonância magnética estrutural no diagnóstico diferencial das síndromes parkinsónicas. Para tal, foram então realizados estudos volumétricos, em 4 grupos de doentes com síndromes parkinsónicas e 1 grupo de indivíduos saudáveis, através da análise estatística paramétrica efetuada na *toolbox* **SPM12** do *software* **Matlab R2015b**. De forma a analisar a possibilidade de diagnóstico individual recorrendo aos dados volumétricos obtidos da análise estatística efetuada, foram ainda desenvolvidos classificadores binários e multiclasse, recorrendo ao *software* **Matlab R2015b**, ao método SVM e à sua biblioteca LIBSVM.

1.2. Objetivos da dissertação

A presente dissertação pretende estudar as potencialidades do uso de imagens de ressonância magnética estrutural no diagnóstico diferencial das síndromes parkinsónicas.

Para atingir o objetivo primordial destacado acima, foram delineadas duas etapas principais, sendo essas:

- Investigar diferenças de volumes cerebrais de substância cinzenta e branca nas comparações entre doentes com DP (doença de Parkinson), AMS (atrofia de sistemas múltiplos), DCB (degenerescência corticobasal), DCL (demência com corpos de Lewy) e controlos saudáveis e relacionar as diferenças observadas com os sintomas clínicos característicos das diferentes síndromes em estudo;
- Classificar individualmente cada doente, recorrendo ao volume cerebral de substância cinzenta retirado das imagens de ressonância magnética estruturais.

Para a realização das etapas supracitadas, foram concretizados os seguintes passos:

- Familiarização com a doença de Parkinson, síndromes parkinsónicas e critérios de diagnóstico clínico característicos de cada síndrome;
- Familiarização com a modalidade de imagem usada e os métodos aplicados neste estudo;

- Aplicação da técnica MBV (morfometria baseada em voxel) e da análise estatística paramétrica na *toolbox SPM12* do *software Matlab R2015b*;
- Desenvolvimento e implementação de classificadores binário e multiclasse recorrendo ao método SVM e à sua biblioteca (LIBSVM), no *software Matlab R2015b*.

1.3. Organização da dissertação

Esta dissertação encontra-se dividida em 7 Capítulos. O vigente capítulo apresenta a dissertação assim como os seus objetivos e a sua organização. O Capítulo 2 permite introduzir diferentes aspetos da doença de Parkinson e das síndromes parkinsonianas de modo a contextualizar os leitores. O Capítulo 3, também de vertente teórica, resume diversos aspetos da neuroimagem no estudo da doença de Parkinson, principalmente, o papel da imagem de ressonância magnética.

O Capítulo 4 indica a metodologia e os materiais usados para realizar este trabalho e atingir os objetivos definidos. Por sua vez, os Capítulos 5 e 6 apresenta o conjunto de resultados obtidos e a sua discussão, respetivamente.

Por fim, o Capítulo 7 expõe as conclusões finais dos resultados obtidos neste trabalho e o trabalho futuro a desenvolver.

CAPÍTULO 2

A DOENÇA DE PARKINSON E AS SÍNDROMES PARKINSONIANAS

2.1. Doença de Parkinson: introdução à doença

A doença de Parkinson é a segunda doença neurodegenerativa mais comum, a seguir à doença de Alzheimer ¹⁵. É ainda a doença neurodegenerativa mais comum nas idades mais avançadas, afetando cerca de 1% da população mundial com idade superior a 65 anos. A DP ocorre por todo o mundo, apresentando algumas variações geográficas. A prevalência da doença de Parkinson é mais marcante em indivíduos provenientes da América do Norte, Europa e Austrália, comparando com a prevalência da doença em indivíduos provenientes da Ásia. Os valores de incidência da doença sofrem ainda grandes variações com a idade. Dados existentes de diversos estudos epidemiológicos sugerem que os homens apresentam maior risco de desenvolver doença de Parkinson do que as mulheres ^{16,17}. Os casos de DP diagnosticados antes dos 40 anos são raros. Após os 50 anos, a prevalência e incidência vão aumentando com a idade. A prevalência é cerca de 0,5-1% em pacientes com idades compreendidas entre os 65 e 69 anos, atingindo valores máximos nos grupos etários superiores a 70 anos (cerca de 1-3% em pacientes com idades superiores a 80 anos) ¹⁵⁻¹⁷.

A doença de Parkinson é caracterizada pela degenerescência dos neurónios dopaminérgicos na substância negra e pela formação de inclusões intracelulares conhecidas por corpos de Lewy. A DP é considerada um processo degenerativo de múltiplos sistemas, afetando não só o sistema dopaminérgico, como também sistemas como o serotoninérgico, colinérgico, noradrenérgico e outros sistemas centrais de neurotransmissores ¹⁸.

2.1.1. Fisiopatologia da doença de Parkinson

O modelo neurobiológico da DP forneceu um esquema simples e explicativo da forma como as alterações nos neurotransmissores, regiões e circuitos cerebrais podem ser a base dos sintomas motores e não motores na DP. Esse modelo foca-se no estudo do impacto da redução do neurotransmissor dopamina em regiões e vias da ansa motora corticobasal talamocortical^{19,20}.

No entanto, é sabido que a doença de Parkinson também envolve disfunções cognitivas, do sono, visuais, olfatórias e autonómicas associadas a alterações neuropatológicas em diversas regiões cerebrais, para além das alterações motoras e de neurotransmissão referidas²¹⁻²³.

2.1.1.1. Modelo clássico da ansa motora corticobasal talamocortical

Os gânglios da base são constituídos pelo núcleo caudado e putâmen que formam o estriado, pelo globo pálido interno e externo, pelos núcleos subtalâmicos, pela substância negra (parte compacta) e pela substância negra (parte reticulada) (**Figura 2.1**)²⁴⁻²⁶. Participam em várias vias neuronais e as suas funções não são restringidas ao comportamento motor, apresentando também funções emocionais, motivacionais e cognitivas de alto nível. O circuito de transmissão principal dos gânglios da base tem origem no neocórtex²⁵.

O *input* principal para os gânglios da base provém do córtex cerebral para o corpo estriado dorsal através da via corticoestriada. Os principais *outputs* dos gânglios da base provêm de neurónios de projeção do globo pálido interno e da substância negra parte reticulada para o tálamo. Estas vias são ambas inibitórias e recorrem ao neurotransmissor inibitório ácido γ -aminobutírico (GABA). Os neurónios de projeção talamocorticais glutamatérgicos excitatórios completam o circuito de volta para o córtex cerebral^{26,27}.

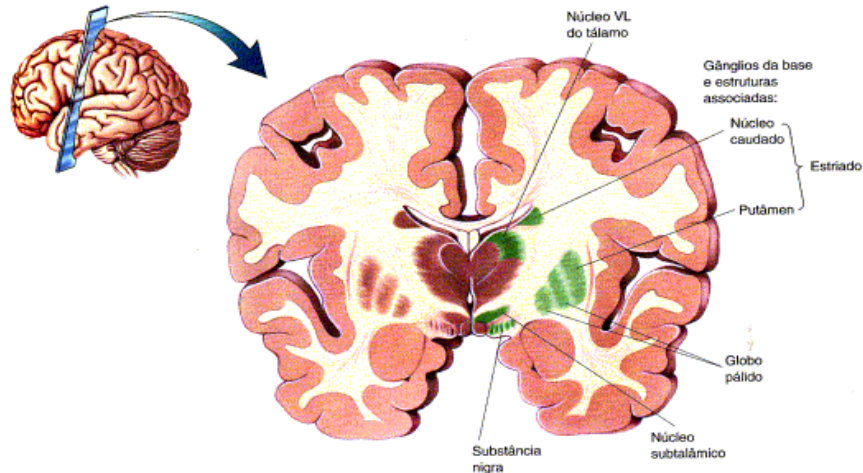


Figura 2.1: Representação dos gânglios da base.
Retirada de ²⁴.

Nos gânglios da base existem vias importantes entre o corpo estriado dorsal e o globo pálido interno (**Figura 2.2**), a via direta, caracterizada por ser uma conexão monossináptica desde o corpo estriado dorsal até ao globo pálido interno; e a via indireta, que é uma conexão polissináptica que se inicia no corpo estriado dorsal para o globo pálido externo que por sua vez se dirige para o núcleo subtalâmico e termina no globo pálido interno ²⁶.

O *output* desde o globo pálido interno até ao tálamo é realizado por uma via GABAérgica inibitória, isto é, o globo pálido interno inibe a atividade do tálamo. Uma vez que o *output* do tálamo para o córtex permite a excitação do córtex motor, a inibição da atividade do tálamo provoca uma diminuição da ativação do córtex ^{26,27}.

O neurotransmissor dopamina é sintetizado nos neurónios dopaminérgicos que se encontram localizados na substância negra parte compacta. Os neurónios que formam a via direta expressam recetores de dopamina D₁ e os que se encontram envolvidos na via indireta expressam sobretudo recetores D₂ ^{25,26}.

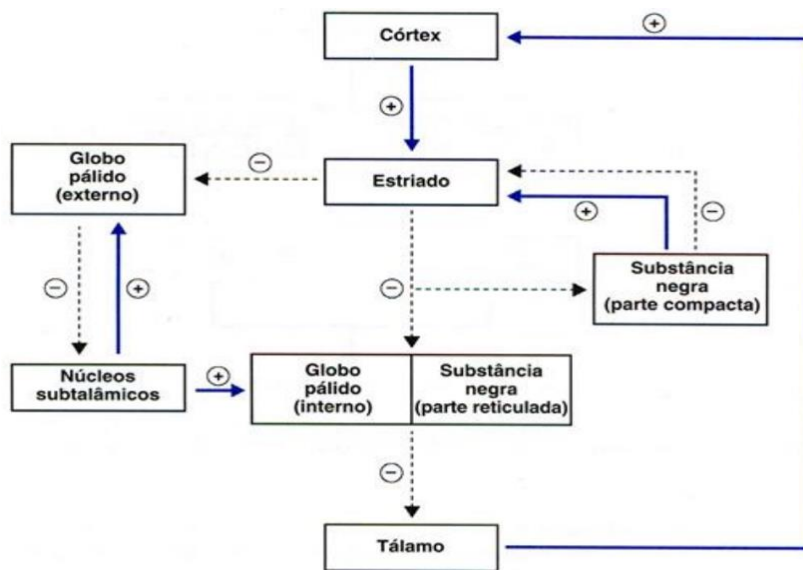


Figura 2.2: Esquema das regiões e vias envolvidas no circuito motor corticobasal gânglio talamocortical. A tracejada encontra-se representada a via indireta, cuja ativação inibe os movimentos e a azul encontra-se a via direta que facilita os movimentos. Adaptada de ²⁶.

O input dopaminérgico da via direta, realizado através dos recetores D_1 , ativa neurónios que levam à inibição do globo pálido interno. Essa inibição, por sua vez, diminui a inibição do tálamo provocando em retorno, um aumento do *output* excitatório do tálamo para o córtex cerebral, isto é, a ativação de regiões motoras do córtex. Por outro lado, o *input* dopaminérgico na via indireta através dos recetores D_2 provoca a inibição de neurónios cujos outputs inibem o globo pálido externo. Assim, a atividade do globo pálido externo é aumentada, inibindo a atividade dos núcleos subtalâmicos. Quando a atividade dos núcleos subtalâmicos é inibida, observa-se uma diminuição da ativação do globo pálido interno. A partir desta fase, o processamento de informação segue a via direta supracitada ²⁶.

A organização das conexões através do circuito corticobasal gânglio-talamocortical mantém assim uma topografia funcional geral dentro de cada estrutura, desde o córtex através do estriado, desde o estriado até ao globo pálido, desde essas estruturas responsáveis por *outputs* até ao tálamo e finalmente, de volta para o córtex ²⁷. A degenerescência da substância negra parte compacta e a diminuição do *output* dopaminérgico da substância negra parte compacta para o estriado dorsal têm sido as

alterações neurobiológicas mais observadas na DP, associadas a uma diminuição da ativação motora ²⁶.

Assim, este modelo explica sintomas motores da DP como a rigidez e a bradicinesia, podendo ser também associado a sintomas não motores ^{25,26}.

2.1.1.2. Neuropatologia da doença de Parkinson: por detrás do modelo clássico

Existem outras regiões cerebrais envolvidas na DP, em particular relacionadas com os sintomas não motores da doença. Estudos neuropatológicos *postmortem* permitiram descrever seis fases da patologia da doença de Parkinson no cérebro que caracterizam o aumento de inclusões celulares desde a fase inicial (Fase 1) até à fase mais avançada (Fase 6) da doença. Inclusões celulares como corpos de Lewy e neurites são agregados de proteína α -sinucleína que surgem em células neuronais ^{26,28,29}.

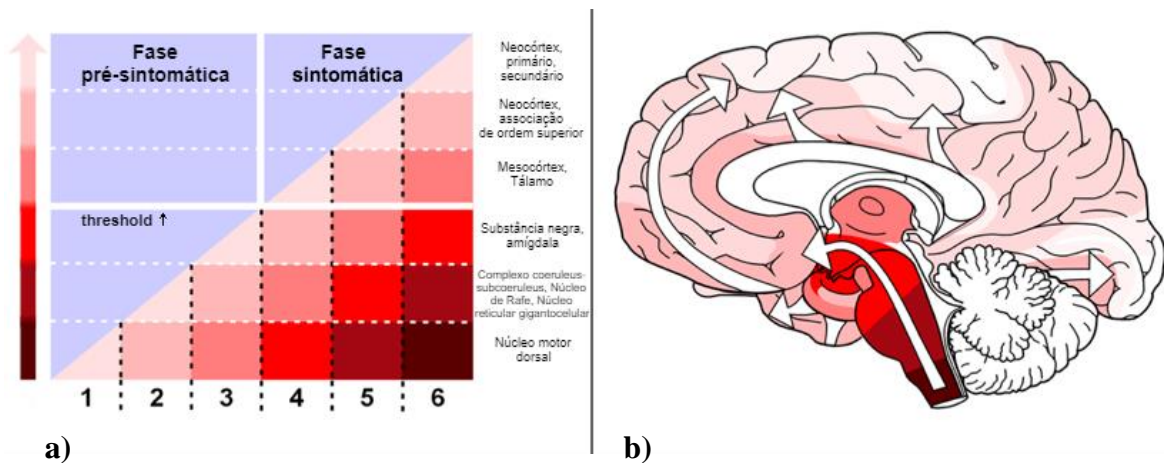


Figura 2.3: a) e b) Fases pré-sintomáticas e sintomáticas da doença de Parkinson. a) A fase pré-sintomática é caracterizada pelo surgimento de corpos de Lewy ou neurites no cérebro de indivíduos assintomáticos. Na fase sintomática, o limite neuropatológico individual é ultrapassado (seta preta). O aumento da intensidade das áreas coloridas por baixo da diagonal indica o aumento da gravidade da doença em regiões cerebrais vulneráveis (representadas na **Figura 2.3 b**). b) Diagrama representativo da evolução do processo patológico (setas brancas). As intensidades da cor das áreas correspondem às representadas na **Figura 2.3 a**). Adaptada de ²⁸.

A substância negra não é a única região a ser afetada nem a que é envolvida mais cedo nos sintomas da DP. Na realidade, as inclusões celulares surgem em primeiro lugar no núcleo motor dorsal do nervo vago e no córtex olfatório. Depois, as inclusões celulares acabam por atingir todo o neocórtex ²⁶.

À medida que a doença progride, componentes dos sistemas límbico, autónomo e somatomotor são danificadas. A evolução da doença pode ser subdividida em fases pré-sintomáticas e sintomáticas (representadas na **Figura 2.3**). Atualmente, sabe-se que apenas a fase mais tardia do processo de degenerescência pode ser avaliada clinicamente. Nas fases pré-sintomáticas 1-2, as inclusões são observadas apenas no bulbo raquidiano/tegmento pontino e no bulbo olfatório. Nas fases 3-4, a substância negra e os núcleos do mesencéfalo e proencéfalo tornam-se o foco de mudanças patológicas iniciais leves, tornando-se mais sérias à medida que as fases progridem. A partir deste ponto, a maioria dos indivíduos atravessa o limite que determina a mudança das fases pré-sintomáticas para as fases sintomáticas da doença de Parkinson. Nas fases finais 5-6, o neocórtex é afetado e a doença manifesta-se ao nível clínico, observando-se défices cognitivos nos doentes ²⁸.

Resumindo, embora a substância negra apenas seja afetada na fase 3, o locus ceruleus contendo corpos celulares noradrenérgicos sofre alterações na fase 2 e o núcleo de Rafe contendo corpos celulares serotoninérgicos é afetado nas fases 2 e 3. Também o núcleo basal contendo células colinérgicas é afetado nas fases 3 e 4, juntamente com o sistema dopaminérgico (**Tabela 2.1**). Deste modo, as fases descritas permitem prever sintomas não motores afetivos observados nos doentes com Parkinson como a ansiedade e depressão ^{26,29}.

Tabela 2.1: Regiões cerebrais envolvidas na doença de Parkinson. Os neurotransmissores encontram-se representados entre parêntesis: acetilcolina (ACh); dopamina (DA); norepinefrina (NEpi); serotonina (Ser). Adaptada de ²⁶.

Regiões cerebrais envolvidas na doença de Parkinson
Proencéfalo
<ul style="list-style-type: none">• Córtex – todos os lobos• Caudado• Putâmen

Regiões cerebrais envolvidas na doença de Parkinson

- Globo pálido externo
- Globo pálido interno
- Núcleo accumbens
- Hipocampo
- Núcleo basal de Meynert (ACh)
- Núcleo magnocelular (ACh)
- Bulbo olfatório

Diencefalo

- Tálamo
- Hipotálamo
- Núcleos subtalâmicos

Tronco cerebral

- **Mesencéfalo**
 - Área tegmental ventral (DA)
 - Substância negra parte compacta (DA)
 - Substância negra parte reticulada
- **Ponte**
 - Núcleo pedunculopontino (ACh)
 - Núcleo de Rafe (Ser)
 - Locus Ceruleus (NEpi)
- **Medula**
 - Núcleo de Rafe (Ser)
 - Núcleo motor dorsal do nervo vago

2.1.2. Diagnóstico clínico da doença de Parkinson

O diagnóstico da doença de Parkinson ou síndrome parkinsoniana é normalmente realizado com bases clínicas, mas é muitas vezes complicado, principalmente em fases precoces, quando as manifestações clínicas são pouco evidentes³⁰.

O diagnóstico definitivo do Parkinson idiopático requer um estudo histológico das inclusões dos corpos de Lewy na substância negra. No entanto, só é possível de

realizar *postmortem*, sendo, portanto, o diagnóstico final da doença de Parkinson baseado em descobertas neuropatológicas *postmortem* ^{18,31}.

Os critérios do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido são os critérios clínicos mais usados para o diagnóstico da DP (**Tabela 2.2**) ^{30,32}. Esses critérios foram construídos em três fases:

1. Diagnóstico de uma síndrome parkinsoniana;
2. Ausência de sintomas atípicos para DP e ausência de etiologia em favor de outro diagnóstico diferencial;
3. Diagnóstico clínico confirmado, adicionando critérios clínicos e farmacológicos.

Tabela 2.2: Critérios de diagnóstico clínico da DP do Banco de Cérebros da Sociedade de Parkinson do Reino Unido. Adaptada de ³⁰.

Critérios de diagnóstico clínico da DP
1. Diagnóstico da síndrome parkinsoniana: Bradicinesia + um de três sintomas: rigidez; tremor de repouso; instabilidade postural não atáxica.
2. Exclusão de outros diagnósticos: Ausência de sintomas atípicos: <ul style="list-style-type: none">• Crises oculogiras• Remissão prolongada• Sinais estritamente unilaterais após 3 anos de evolução• Paralisia supranuclear do olhar• Sinais cerebelosos• Disautonomia severa precoce• Demência severa precoce, com alterações da linguagem, da memória e apraxia• Sinal de Babinski• Resposta negativa a dose suficiente de levodopa Ausência de etiologia favorável a outro diagnóstico
3. Critérios positivos, prospectivos, de suporte do diagnóstico: (três ou mais necessários) <ul style="list-style-type: none">• Início unilateral

Crítérios de diagnóstico clínico da DP

- Presença de tremor de repouso
- Agravamento progressivo
- Assimetria persistente
- Excelente resposta à levodopa (70% a 100%)
- Discinesias severas sob levodopa
- Resposta à levodopa ≥ 5 anos
- Evolução clínica ≥ 10 anos

Existem 4 manifestações cardinais frequentes: bradicinesia, rigidez, tremor e instabilidade postural. Estes sintomas motores são as bases do diagnóstico clínico da DP ³⁰⁻³³.

Os sintomas não motores são comuns e muitas das vezes desvalorizados na doença de Parkinson. Estes podem incluir: demência, depressão, disfunção autonómica e perturbações do sono, entre outros ^{30,31,33}. A demência é comum na DP e no momento do diagnóstico, podem já existir alterações cognitivas. A prevalência da demência na doença de Parkinson é cerca de 25% a 40% e surge com menor incidência e mais tardiamente que as disfunções motoras, na maioria dos doentes ^{30,33}. As perturbações de sono são 1,5 a 3,5 vezes mais comuns em doentes com Parkinson do que em controlos saudáveis da mesma idade ou com doenças crónicas. Os sintomas abrangem a fragmentação do sono, os sonos vívidos e os pesadelos. Estes sintomas surgem normalmente em fases mais avançadas da doença, exceto as alterações associadas à fase REM (do inglês *Rapid Eye Movement*) do sono e a sonolência diurna excessiva ³⁰.

2.2. Síndromes Parkinsonianas Atípicas

Estudos baseados na população humana demonstraram que pelo menos 15% dos doentes diagnosticados com a doença de Parkinson não preenchem completamente os critérios clínicos para essa doença, e cerca de 20% dos doentes com a doença de Parkinson, que já receberam ajuda médica, não foram previamente diagnosticados com a doença. Os erros mais comuns de diagnóstico estão relacionados com outras formas de parkinsonismo neurodegenerativo, tais como a atrofia de sistemas múltiplos, demência com corpos de

Lewy e degenerescência corticobasal também designadas por síndromes parkinsonianas atípicas. Outros erros comuns incluem parkinsonismo vascular e parkinsonismo induzido por drogas ¹².

2.2.1. Demência com corpos de Lewy (DCL)

A demência com corpos de Lewy prevalece em aproximadamente 0,4% na população com idade superior a 65 anos. Os sintomas surgem, normalmente, entre os 50 anos e os 80 anos, afetando um pouco mais o sexo masculino do que o sexo feminino ^{12,34}.

Do ponto de vista neuropatológico, a DCL pertence ao grupo das sinucleinopatias (assim como a DP e a AMS) e caracteriza-se pela presença de um grande número de corpos de Lewy no sistema límbico, paralímbico e regiões neocorticais, para além da presença de corpos na substância negra mesencefálica e noutros núcleos do tronco cerebral, tal como acontece na DP ³⁵.

Os sintomas iniciais consistem na redução da capacidade cognitiva, défices na capacidade verbal, diminuição da capacidade visual-espacial, e diminuição das capacidades de execução de tarefas. Alucinações visuais fortes e recorrentes são também características da DCL, assim como a desilusão, falta de iniciativa ou motivação, depressão e ansiedade. No momento do diagnóstico, alguma rigidez nos movimentos pode ser detetada, no entanto, esta desenvolve-se no decorrer da doença, na maioria dos casos. Os critérios de diagnóstico de DCL foram estabelecidos em 1996, com a última revisão em 2005. Os pacientes podem ser diagnosticados com DCL possível ou DCL provável, tendo por base a combinação de características sugestivas e características fundamentais (**Tabela 2.3**) ^{32,34-37}.

Tabela 2.3: Critérios revistos de diagnóstico clínico DCL. REM: *rapid eye movement*; SPECT: tomografia computadorizada por emissão de fóton único; PET: tomografia por emissão de positrões; RM: ressonância magnética. Adaptada de ^{35,37,38}.

Critérios para o diagnóstico clínico de DCL

Crítérios para o diagnóstico clínico de DCL

Características centrais (essencial para o diagnóstico de DCL possível ou provável):

- Demência definida como um declínio cognitivo progressivo significativo para interferir com o normal funcionamento social ou ocupacional
- Défices de atenção, função executiva e capacidade visual-espacial podem ser especialmente proeminentes

Características principais (duas das seguintes características são necessárias para estabelecer o diagnóstico provável de DCL e uma para o diagnóstico possível de DCL):

- Flutuação da cognição com variações marcadas da atenção e vigília
- Alucinações visuais recorrentes
- Sinais espontâneos de parkinsonismo

Características sugestivas (se uma ou mais das seguintes características estiver presente juntamente com uma ou mais das características fundamentais, pode ser feito o diagnóstico de provável DCL; o diagnóstico provável de DCL não pode ser feito apenas na presença destas características):

- Perturbações do comportamento do sono REM
- Sensibilidade marcada aos neurolépticos
- Hipocaptação do transportador da dopamina nos gânglios da base no SPECT ou PET

Características de suporte (frequentemente presentes, mas sem especificidade diagnóstica comprovada):

- Quedas repetidas e síncope
- Perda transitória de consciência não explicada
- Disautonomia marcada
- Depressão
- Preservação relativa das estruturas do lobo temporal medial na RM

Um diagnóstico de DCL é menos provável:

- Na presença de doença cerebrovascular evidente por sinais neurológicos focais ou neuroimagem
- Na presença de outra doença física ou distúrbio cerebral suficiente para contribuir em parte ou totalmente para o quadro clínico
- Se o parkinsonismo só aparece pela primeira vez num estágio de demência grave

Sequência temporal dos sintomas:

- O diagnóstico de DCL deve ser feito quando a demência ocorre antes ou é concomitante com o parkinsonismo (se este está presente)

Critérios para o diagnóstico clínico de DCL

- O termo doença de Parkinson com demência (DPD) deve ser usado para descrever a demência que ocorre no contexto de DP bem estabelecida
 - O termo genérico de doença com corpos de Lewy é muitas vezes útil em contexto clínico prático
-

Exames complementares de diagnóstico podem auxiliar no diagnóstico de DCL. No caso da imagem de ressonância magnética, os resultados podem revelar atrofia do núcleo caudado, putâmen e tálamo ³⁴.

O cérebro de um doente com DCL pode parecer normal ou demonstrar uma ligeira atrofia nas regiões frontal e parietal. A substância negra, os núcleos tegmentais colinérgicos, os núcleos de Rafe serotoninérgicos e os *Locus Coeruleus* noradrenérgicos são frequentemente afetados, produzindo sintomas clínicos da DCL que apenas surgem em fases finais das restantes demências ³⁶.

2.2.2. Atrofia de sistemas múltiplos (AMS)

A AMS é uma doença neurodegenerativa com características clínicas e patológicas próprias. Esta doença tem uma prevalência de cerca de 5/100000 habitantes. O início da doença ocorre na idade adulta (após os 30 anos) e a frequência aumenta com a idade, afetando igualmente ambos os sexos ³⁴⁻³⁶. A AMS apresenta dois subtipos diferentes, o AMS-P onde predomina o parkinsonismo (na Europa, observa-se em 60% dos casos) e o AMS-C no qual se verificam predominantemente, características cerebelosas (observa-se em 40% dos casos). Para além do défice motor, verificam-se sintomas vegetativos na AMS como a incontinência urinária, disfunção erétil ou hipotensão ortostática e disautonomia (**Tabela 2.4**) ^{12,34}.

Doentes com AMS-P apresentam uma síndrome parkinsoniana acinético-rígida em que pode existir tremor. O diagnóstico diferencial da AMS-P e da DP pode revelar-se difícil devido à sobreposição de algumas características clínicas como o tremor de repouso e a assimetria da síndrome parkinsoniana. Nos doentes com AMS-C, predominam sinais e sintomas que refletem o envolvimento cerebeloso tais como a ataxia da marcha, dismetria, disartria escandida e alterações da oculo-motricidade cerebelosa ^{12,35}.

Sintomas extrapiramidais podem ser identificados em cerca de 30-50% dos doentes com AMS, mas não em doentes com DP [13].

O diagnóstico pode ser apoiado por características de suporte, ou contrariado pela presença de características contra o diagnóstico de AMS (**Tabela 2.5**)^{35,39}.

Tabela 2.4: Critérios clínicos de AMS provável e AMS possível. Adaptada de^{35,39}.

Critérios clínicos de AMS provável
<p>Doença de início na idade adulta (> 30 anos) progressiva, esporádica, caracterizada por:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Disautonomia envolvendo incontinência urinária ou uma queda de tensão arterial ortostática de, pelo menos, 30 mmHg na sistólica e 5 mmHg na diastólica, dentro de 3 minutos após o ortostatismo • Parkinsonismo com pobre resposta à levodopa (bradicinesia com rigidez, tremor ou instabilidade postural) • Síndrome cerebelosa (ataxia da marcha com disartria cerebelosa, ataxia dos membros ou disfunção cerebelosa oculomotora)
Critérios clínicos de AMS possível
<p>Doença de início na idade adulta (> 30 anos) progressiva, esporádica, caracterizada por:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Parkinsonismo (bradicinesia com rigidez, tremor ou instabilidade postural) • Síndrome cerebelosa (ataxia da marcha com disartria cerebelosa, ataxia dos membros ou disfunção cerebelosa oculomotora) • Pelo menos uma característica sugerindo disautonomia

Tabela 2.5: Características de suporte ou contra o diagnóstico de AMS. Adaptada de^{35,39}.

Suporte Diagnóstico	Contra diagnóstico
<ul style="list-style-type: none"> • Distonia orofacial • Anterocolis desproporcional • Camptocormia e/ou síndrome de Pisa • Contraturas das mãos ou pés • Estridor inspiratório • Disfonia grave • Disartria grave • Agravamento ou aparecimento de roncapatia 	<ul style="list-style-type: none"> • Tremor de repouso típico <i>pill-rolling</i> • Neuropatia clinicamente significativa • Alucinações não induzidas por fármacos • Início após os 75 anos • História familiar de ataxia ou parkinsonismo • Demência • Lesões da substância branca sugerindo

Suporte Diagnóstico	Contra diagnóstico
<ul style="list-style-type: none">• Mãos e pés frios• Riso ou choro patológico• Tremor de ação/postural mioclônico, irregular	esclerose múltipla

Estudos de ressonância magnética demonstraram atrofia no putâmen, no pedúnculo cerebelar médio, na ponte e no cerebelo ³⁴. Essas atrofias foram confirmadas pelas autópsias de doentes com AMS ³⁶.

2.2.3. Degenerescência corticobasal (DCB)

A DCB é uma doença da proteína tau (tauopatia) que prevalece em 1/100000 habitantes. Tem início na sexta ou sétima década de vida e afeta igualmente ambos os sexos ³⁴⁻³⁶. É uma doença que afeta o sistema motor nigro-estriado e também várias outras estruturas subcorticais (tálamo, núcleos subtalâmicos, núcleos pálidos, núcleos vermelhos, dentado e núcleos do tronco cerebral). É ainda caracterizada por uma elevada frequência de sintomas depressivos ⁴⁰.

A SCB (síndrome corticobasal) é a forma de apresentação clínica típica e caracteriza-se por rigidez e apraxia assimétrica progressiva, associadas a sinais de disfunção cortical e extrapiramidal (**Tabela 2.6**) ³⁵. Os sinais extrapiramidais associados aos núcleos da base incluem distonia, rigidez, bradicinesia e tremor ^{34,35,41}.

Ao nível neuropsicológico, verifica-se um envolvimento da atenção, concentração, função executiva, linguagem e função visual-espacial ^{35,42}.

Dependendo dos sintomas apresentados, a DCB pode ainda ser classificada como uma síndrome provável ou possível (**Tabela 2.7**) ⁴².

Tabela 2.6: Critérios de diagnóstico da DCB. Adaptada de ³⁵.

Critérios de diagnóstico da DCB
Critérios de inclusão: <ul style="list-style-type: none">• Evolução crónica e progressiva

- Início assimétrico
- Presença de disfunção cortical (apraxia, alteração sensitiva cortical)
- Doença do movimento: síndrome acinético-rígida resistente à levodopa, distonia do membro e mioclonias reflexas focais

Crítérios de exclusão:

- Outros distúrbios cognitivos além da apraxia ou discurso ou linguagem
- Demência moderada a grave em doentes ambulatorios
- Outros tipos de resposta à levodopa que não o ligeiro agravamento ou a não resposta
- Paralisia do olhar vertical inferior em doente ambulatorio
- Tremor de repouso tipicamente parkinsoniano
- Disautonomia grave
- Lesões ou exames de imagem sugestivos de outros diagnósticos

Tabela 2.7: Síndromes associadas com a patologia da DCB. Adaptada de ⁴².

Síndrome	Características
Síndrome corticobasal provável	Apresentação assimétrica de duas de: a) rigidez límbica ou acinesia, b) distonia límbica, c) mioclonia límbica mais duas de: d) apraxia límbica, e) déficit cortical sensitivo
Síndrome corticobasal possível	Pode ser simétrica: uma de: a) rigidez límbica ou acinesia, b) distonia límbica, c) mioclonia límbica mais uma de: d) apraxia límbica, e) déficit cortical sensitivo

Os exames de neuroimagem, como a ressonância magnética, mostram tipicamente atrofia cortical assimétrica, especialmente na região frontoparietal, nos gânglios da base, nos ventrículos laterais e pedúnculos cerebrais ³⁵.

No momento da autópsia, os doentes com degenerescência corticobasal confirmam uma atrofia insular, frontal e parietal com algum envolvimento do córtex temporal e do córtex occipital ³⁶.

CAPÍTULO 3

NEUROIMAGEM NA DOENÇA DE PARKINSON

3.1. Métodos de neuroimagem na doença de Parkinson

Os avanços na neuroimagem molecular, estrutural e funcional têm aumentando o conhecimento acerca da complexidade neurobiológica da doença de Parkinson (DP). Modalidades de imagem molecular como o PET (do inglês, *Positron Emission Tomography*) e SPECT (do inglês, *Single-Photon Emission Computed Tomography*) são estudadas e utilizadas para compreender a função dos neurotransmissores que têm sido investigados na DP, tais como a dopamina, GABA, acetilcolina, glutamato, entre outros. O neurotransmissor mais estudado é a dopamina uma vez que uma das observações mais frequentemente verificada pelos estudos realizados, é a de que os doentes com DP apresentam uma diminuição da função dopaminérgica no estriado, em comparação com indivíduos saudáveis. Essa observação foi comprovada por vários estudos PET/SPECT realizados ²⁶.

O uso de PET/SPECT tem sido associado à imagem funcional do cérebro. Por exemplo, o metabolismo cerebral da glicose pode ser medido com ¹⁸F-FDG PET e o fluxo sanguíneo cerebral ou perfusão pode ser medido usando ¹⁵O-H₂O PET ou usando SPECT com o radiomarcador ^{99m}Tc-ECD. O ¹⁸F-dopa PET também tem sido usado como um biomarcador *in vivo* da progressão da doença de Parkinson ^{18,26}.

O uso de PET/SPECT inclui a administração invasiva de componentes radioativas, o que pode limitar algumas aplicações desta técnica, nomeadamente para estudos que exigem repetições e tempo. Embora a PET/SPECT apresente uma resolução

temporal menor do que a apresentada pela imagem de ressonância magnética funcional (fMRI, do inglês *Functional Magnetic Resonance Imaging*), a imagem funcional PET/SPECT permite medidas diretas do metabolismo e da perfusão sanguínea ao contrário da fMRI que se baseia em medidas indiretas da função cerebral. No entanto, a PET/SPECT pode ser menos sensível a artefactos de movimento do que a imagem de ressonância magnética, sendo este um facto importante a ter em conta no estudo de doenças do movimento como a doença de Parkinson ²⁶.

A sonografia transcranial (TCS, do inglês *Transcranial Sonography*) é ainda uma técnica não invasiva de imagem por ultrassons que tem sido desenvolvida para obter imagens estruturais de regiões cerebrais na DP. A maioria dos estudos de TCS na DP têm focado a ecogeneidade da substância negra. A TCS depende fortemente das capacidades do operador e pode ser difícil de realizar com confiança. No entanto, a TCS é menos cara do que outras modalidades de imagem por RM, PET ou SPECT ^{18,26}.

Assim, verifica-se que existem diversas modalidades de neuroimagem usadas para estudos funcionais, moleculares e estruturais relacionados com a DP. Cada uma dessas modalidades apresenta diferentes limitações e vantagens, sendo a sua aplicação no diagnóstico clínico dependente do estudo pretendido e dos objetivos a alcançar.

3.2. Imagem de ressonância magnética na doença de Parkinson

A imagem de RM (MRI, do inglês *Magnetic Resonance Imaging*) é uma técnica não invasiva que não expõe os indivíduos em estudo a radiações. Esta vertente de segurança em adição à sua excelente resolução temporal e espacial e à sua vasta disponibilidade, tornam a imagem de ressonância magnética uma ferramenta importante nas investigações funcionais e estruturais da DP ²⁶.

A imagem de RM permite realizar várias medidas, sendo esse um dos pontos fortes desta técnica. Essas medidas podem ser de perfusão, de espectroscopia (medição do conteúdo químico de um tecido) e ainda da dependência do nível de oxigenação no sangue ³. Técnicas avançadas de imagem de RM têm demonstrado resultados promissores na

deteção de mudanças patológicas em doentes com DP e na monitorização da progressão da doença, recorrendo às medidas citadas anteriormente. Dessas técnicas quantitativas, destacam-se a imagem por transferência de magnetização (MTI, do inglês *Magnetization Transfer Imaging*), a imagem por tensor de difusão (DTI, do inglês *Diffusion Tensor Imaging*), a espectroscopia por ressonância magnética (MRS, do inglês *Magnetic Resonance Spectroscopy*) e a imagem de ressonância magnética funcional¹⁵.

No contexto biológico, a imagem de RM funcional diz respeito ao método que permite obter informações dinâmicas fisiológicas. A imagem de RM estrutural, por sua vez, oferece informações anatómicas⁴³. Relativamente à imagem de ressonância magnética estrutural, várias técnicas têm sido usadas para segmentar o sistema nervoso e detetar possíveis alterações de volume nele¹⁵.

A maioria dos estudos de RM são sensíveis à presença de hidrogénio proveniente das moléculas de água. No entanto, a técnica de imagem por transferência de magnetização é sensível aos prótons. A sensibilidade desta técnica ao conjunto macromolecular de prótons tornam-na útil na análise de alterações na microestrutura e integridade dos tecidos na DP²⁶. Por outro lado, o contraste entre substância cinzenta e substância branca é aumentado nos gânglios da base e no tronco cerebral após a aplicação do pulso de pré-saturação da MTI. Assim sendo, o uso de mapas de transferência de magnetização permite melhorar a segmentação das estruturas cerebrais de substância cinzenta¹⁵.

A imagem por tensor de difusão é sensível à anisotropia da difusão. As medidas da DTI incluem a anisotropia fracionada (FA, do inglês *Fractional Anisotropy*), uma medida da anisotropia da difusão, e ainda a difusividade média (MD, do inglês *Mean Diffusivity*), difusividade axial (AD, do inglês *Axial Diffusivity*) e difusividade radial (RD, do inglês *Radial Diffusivity*). Tanto a substância branca como a substância cinzenta podem ser estudadas recorrendo à DTI²⁶. A DTI permite medir a direção das fibras de substância branca através do mapeamento da difusão a cada região espacial, usando um tensor. A descoberta mais observada em vários estudos de DTI é a redução de valores de FA em doentes com DP, indicando uma mudança na anisotropia dos tecidos do sistema nervoso¹⁵.

A espectroscopia por RM, por sua vez, permite efetuar diversas medidas cerebrais. Enquanto que a espectroscopia de prótons por ressonância magnética, ¹H-MRS, permite obter informações sobre os níveis de metabolitos no cérebro, a espectroscopia de

fósforo por ressonância magnética, ^{13}P -MRS, permite monitorizar diretamente o metabolismo energético no cérebro. No entanto, a MRS é muito sensível à homogeneidade do campo magnético e a sinais de artefactos lipídicos, principalmente em regiões próximas do crânio. Assim, realizar MRS no sistema nervoso torna-se bastante complicado em humanos devido à sua localização, tamanho reduzido, e elevado conteúdo de ferro ^{15,26}.

Por fim, a imagem de ressonância magnética funcional foi desenvolvida para estudar as ativações do cérebro associadas a tarefas específicas. A ressonância magnética funcional é baseada no método de imagem de ressonância magnética dependente do nível de oxigenação no sangue (BOLD), que é, por sua vez, sensível a mudanças de níveis de oxigenação do sangue em regiões cerebrais ativadas ²⁶.

A maioria dos estudos de fMRI tem demonstrado uma ativação anormal em diferentes áreas das vias motoras em doentes com DP inicial e avançada. As descobertas anormais incluem a hipoativação nas áreas sensoriomotoras e hiperativação no cerebelo e outras regiões corticais como o córtex pré-motor, córtex motor primário, e córtex parietal, comparado com indivíduos controlo saudáveis ¹⁵.

Resumindo, a imagem de RM oferece uma variedade de contrastes de imagem e uma elevada resolução espacial, tornando-a útil num vasto conjunto de aplicações clínicas. A MRI é segura, não invasiva e não envolve qualquer radiação ionizante, tal como referido anteriormente. O uso de elevados campos magnéticos permite ainda uma aquisição de imagem com elevada resolução espacial e grande sensibilidade a mudanças subtis nos tecidos cerebrais.

Tendo em conta as limitações e vantagens da PET e da MRI, a aquisição simultânea de dados de PET-MRI pode permitir uma melhoria no diagnóstico clínico da DP, através da correlação espacial e temporal entre os sinais de ambas as modalidades de imagem ¹⁵.

3.2.1. Ressonância magnética estrutural – princípios básicos

A ressonância magnética recorre a átomos com momentos magnéticos diferentes de zero e capazes de se alinhar com um campo magnético externo. Esses átomos devem possuir um número de massa (A) ímpar ⁴⁴.

Uma vez que o sinal magnético produzido pelo núcleo de hidrogénio (^1H) é elevado e que este átomo se encontra em abundância nos tecidos do corpo, este elemento torna-se essencial para a obtenção de imagens de ressonância magnética.

Por outro lado, o núcleo de hidrogénio possui propriedades magnéticas a que se atribui o nome de *spin* nuclear. O *spin* (ϕ) pode ser considerado um momento magnético que precessa em torno de um eixo, sendo representado por vetores.

Os princípios físicos subjacentes à criação de um sinal de ressonância magnética estão relacionados com a magnetização, precessão e relaxação dos núcleos de hidrogénio⁴⁴⁻⁴⁶.

O *spin* é acompanhado por um vetor de momento magnético (μ) com o qual se relaciona através da **Equação (3.1)**:

$$\mu = \gamma \phi \quad (3.1)$$

onde γ representa a razão giromagnética do núcleo.

Na ausência de um campo magnético externo, os momentos magnéticos dos núcleos de hidrogénio apresentam uma orientação aleatória. Isto é, o eixo sob o qual o *spin* do núcleo de hidrogénio precessa é aleatório, sendo a magnetização total nula (**Figura 3.1 (a)**). Na presença de um campo magnético externo (B_0), os momentos magnéticos podem assumir duas orientações possíveis: paralela a B_0 (estado de energia mais baixa – *spin* +1/2) e antiparalela a B_0 (estado de energia mais alta – *spin* -1/2). A maioria dos momentos magnéticos vão alinhar-se no sentido paralelo, correspondente ao estado de menor energia, e os restantes vão alinhar-se no sentido oposto, correspondente ao estado de maior energia. Esta diferença irá provocar um desequilíbrio constante que, por sua vez, provocará uma magnetização (M_0) dos tecidos (**Figura 3.1 (b)**)^{45,46}.

A magnitude da magnetização longitudinal, M_0 , é proporcional a B_0 e definida pela **Equação (3.2)**, sendo χ a suscetibilidade magnética⁴⁴:

$$M_0 = \chi B_0 \quad (3.2)$$

Os spins não são estáticos, pelo que apresentam um movimento oscilatório em torno do seu eixo (**Figura 3.1 (c)**). A frequência à qual os núcleos giram é conhecida por

frequência de Larmor ou frequência de precessão (ω_0). Essa frequência é proporcional à constante giromagnética (γ) e à amplitude do campo magnético aplicado (B_0) (**Equação (3.3)**)^{44,45}:

$$\omega_0 = B_0 \times \gamma \quad (3.3)$$

Ao submeter os prótons à ação de um campo de radiofrequências como a frequência de precessão, será provocado um fenômeno de ressonância, aumentando o número de *spins* antiparalelos e colocando os *spins* em fase.

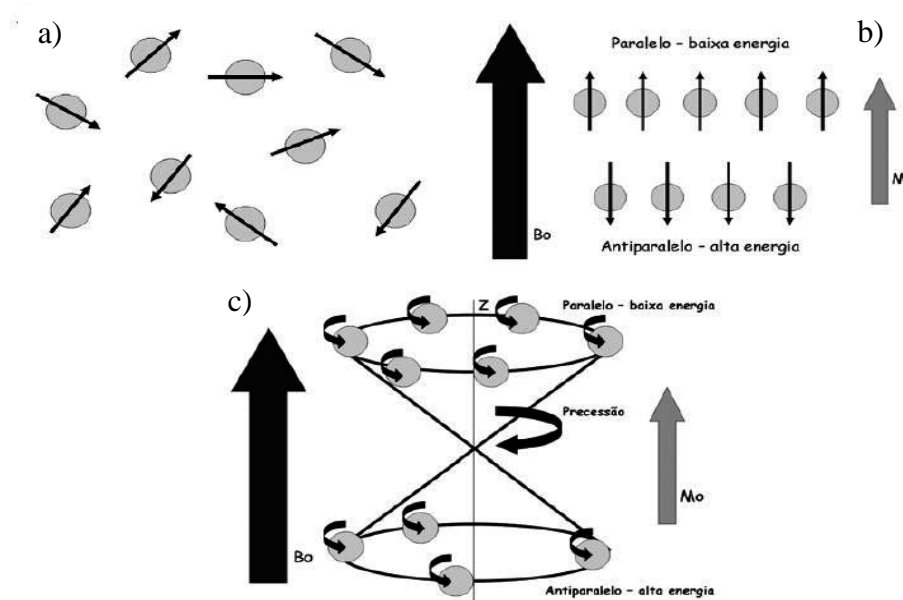


Figura 3.1: (a) Representação do movimento aleatório dos prótons; (b) Alinhamento dos prótons após aplicação de um campo magnético (B_0) criando-se uma magnetização M_0 ; (c) Representação do movimento de precessão dos prótons em torno do eixo Z do campo magnético B_0 . Adaptada de⁴⁶.

A aplicação de um campo de RF (radiofrequências) provoca também uma absorção de energia por parte dos núcleos de hidrogênio. Esta transferência de energia ocorre quando o pulso de radiofrequência tem a mesma frequência do que a de Larmor e é aplicado a 90° em relação a B_0 .

Durante o processo de ressonância, a magnetização longitudinal é então rodada para o plano transversal, podendo passar totalmente para esse plano se o pulso de

radiofrequência for aplicado durante o tempo necessário (pulso de radiofrequência de 90°). Resulta deste processo, uma magnetização transversal (M_{xy}), que se encontra no plano XY ^{44,46}.

Finalmente, a precessão de M_{xy} em volta do eixo longitudinal pode ser medida através de bobines recetoras, dando origem ao sinal de ressonância magnética.

Quando a radiofrequência é interrompida, a magnetização transversal começa a diminuir e vai desaparecer. O contrário se verifica para a magnetização longitudinal que vai aumentar, isto é, os prótons vão regressar ao seu estado de equilíbrio inicial emitindo energia eletromagnética - fenómeno de relaxação ^{44,45}.

A relaxação pode ser longitudinal (*spin-rede*) caracterizada pela constante de tempo T1, durante a qual os prótons voltam a alinhar-se com o campo magnético. T1 representa o tempo necessário para que a magnetização longitudinal (M_z) recupere 63% do seu valor inicial (M_0) (**Figura 3.2 (a)**) (**Equação (3.4)**) ⁴⁴⁻⁴⁶.

$$M_z = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right) \quad (3.4)$$

O relaxamento transversal (*spin-spin*) é caracterizado pela constante de tempo T2. A relaxação traduz a saída dos prótons do seu estado de fase e T2 representa o tempo necessário para que a magnetização transversal (M_{xy}) atinga 37% do seu valor inicial (**Figura 3.2 (b)**) (**Equação (3.5)**) ⁴⁴⁻⁴⁶.

$$M_{xy} = M_0 \times e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (3.5)$$

O sinal de RM obtido é constituído por um conjunto de ondas de RF com diferentes amplitudes, frequências e fases. Para transformar o sinal numa imagem é necessário, numa primeira fase, convertê-lo para o modo digital, sendo transposto para uma matriz de dados, chamada *k-space*. Posteriormente, é necessário aplicar a transformada inversa de Fourier 2D, que permite transformar os dados do *k-space* numa imagem ⁴⁵. As duas principais características que ditam a qualidade da imagem são a resolução espacial e a relação sinal-ruído (SNR, do inglês *Signal-to-noise ratio*). A relação sinal-ruído é determinada pelo tamanho do píxel, espessura do corte, tempos de *scan* e sequência de pulso usada. A qualidade de imagem é também influenciada pelo tempo de

scan que, por sua vez, é influenciado pela capacidade dos doentes em permanecer imóveis

43

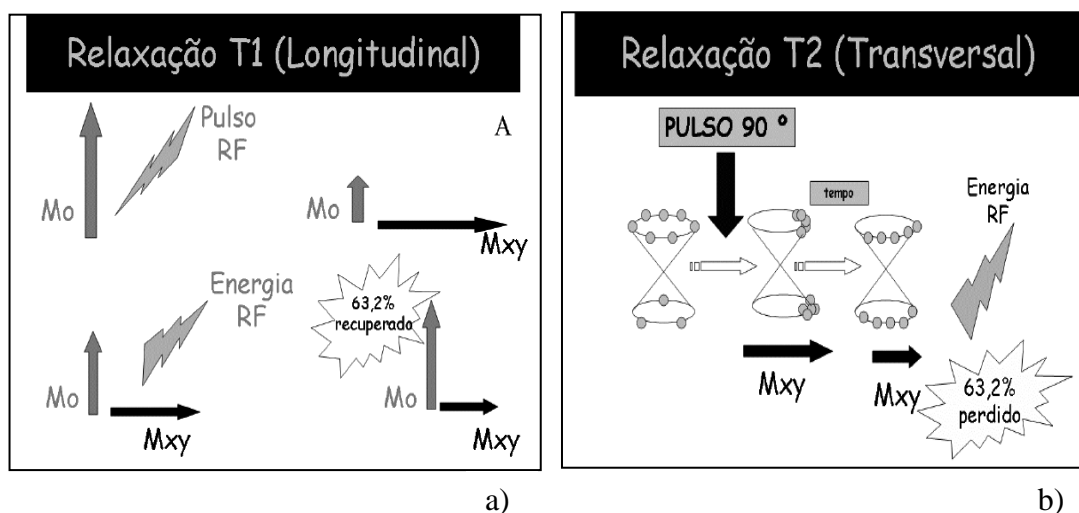


Figura 3.2: a) Processo de relaxação T1 (Longitudinal); b) Processo de relaxação T2 (Transversal). Adaptada de ⁴⁶.

3.2.1.1. Sequências de pulso

O sinal de ressonância magnética depende das propriedades intrínsecas do tecido e dos parâmetros da sequência de pulso utilizada. É, portanto, essencial compreender o funcionamento dos pulsos de 90° e 180°.

Conjugando diferentes pulsos é possível produzir-se um sinal de ressonância magnética específico. Existem várias sequências de pulso, das quais se destacam: a sequência de pulso eco de *spin*, a sequência de pulso recuperação de inversão e a sequência de pulso eco de gradiente.

A sequência de pulso eco de *spin* é baseada na repetição de uma sequência de pulsos de 90° e 180°, consecutivamente. Inicialmente é aplicado um pulso de 90° que provoca a rotação do vetor magnetização para o plano XY. A componente longitudinal vai desaparecendo, dando lugar à componente transversal. Após o pulso deixar de ser transmitido, ocorre um decaimento da magnetização transversal e uma recuperação da magnetização longitudinal. É então aplicado um pulso de 180° que provoca a rotação de 180° do vetor magnetização, verificando-se o reaparecimento da componente transversal.

Os *spins* ficam em fase, invertendo-se a sua posição relativa. Após o pulso de 180° , o sinal na bobine recetora é regenerado e pode ser medido. A este sinal é dado o nome de eco.

Existem parâmetros a ter em conta: o tempo de eco (TE) e o tempo de repetição (TR) (**Figura 3.3**). O tempo de eco é o tempo entre o pulso de 90° e o eco, enquanto que o tempo de repetição é definido como o tempo compreendido entre dois pulsos consecutivos de 90° . O tempo TE/2 corresponde à aplicação do pulso de 180°

Resumindo, a sequência de eco de *spin* inicia-se com um pulso de 90° que gera um sinal que decai de forma rápida. É, posteriormente, aplicado um pulso de 180° que cria um eco de *spin* do sinal original ⁴⁵.

Normalmente, são usadas sequências com um pulso de 180° para obter imagens ponderadas em T1 e dois pulsos para obter imagens com ponderação T2 ⁴⁴.

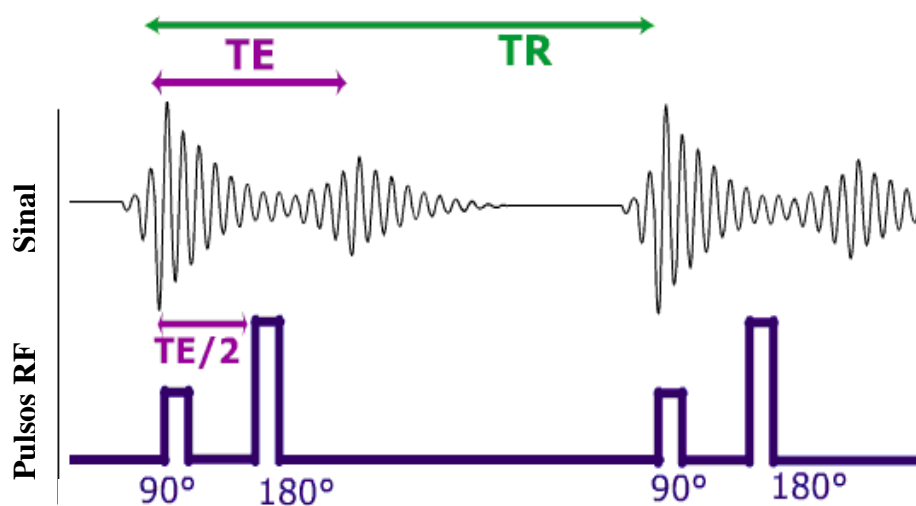


Figura 3.3: Sinal eco de spin. Representação do tempo de eco (TE) e do tempo de repetição (TR). Adaptada de ⁴⁵.

3.2.1.2. Imagens ponderadas em T1

O contraste da imagem de RM no cérebro depende das diferenças regionais de densidade de prótons, assim como dos tempos de relaxação dos tecidos. Diferenças nos valores de tempos de relaxação longitudinal (T1) e transversal (T2) permitem a diferenciação dos tecidos como a substância cinzenta e a substância branca ¹⁵. Estudos morfométricos de tamanhos e formas de regiões cerebrais na DP têm sido realizados usando imagens anatómicas ponderadas em T1 ²⁶.

As imagens são ponderadas em T1 caso se verifique que a intensidade do sinal dos vóxeis da imagem depende do valor T1 do tecido.

Tempos curtos de TR não permitem uma recuperação da magnetização longitudinal, não sendo captado nenhum sinal de RM dos tecidos. No entanto, com longos TR, toda a magnetização longitudinal recupera e nenhuma diferença no relaxamento T1 será observada nos tecidos ⁴⁷.

Para que se possam distinguir tecidos com base nos seus tempos T1, é importante que o TR seja curto. Desta forma, os tecidos com um tempo T1 curto relaxam de forma mais rápida, recuperando rapidamente a sua magnetização longitudinal e podendo assim apresentar um sinal de RM maior depois do próximo pulso de RF.

Os tecidos com tempo T1 curto aparecem a branco nas imagens de RM obtidas. Por outro lado, tecidos com tempo T1 longo surgem a preto nas imagens de RM uma vez que não têm tempo para recuperar longitudinalmente ⁴⁴.

CAPÍTULO 4

MÉTODOS E MATERIAIS

4.1. Descrição do *dataset* em estudo

O *dataset* em estudo é constituído por um total de 62 imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 de 62 indivíduos, disponibilizadas pelo Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde – ICNAS.

O *dataset* encontra-se distribuído em 5 grupos sendo, no total, constituído por 30 indivíduos do sexo masculino e 32 indivíduos do sexo feminino. A média total das idades e dos pesos dos indivíduos é de 65,86 anos e 69,39 kg, respetivamente. Os detalhes dos grupos de doentes e dos controlos encontram-se descritos na **Tabela 4.1**.

Tabela 4.1: Detalhes dos grupos de doentes e dos controlos em estudo. N (número de indivíduos em cada grupo), Peso (média \pm desvio padrão) em kg, Idade (média \pm desvio padrão) em anos e Sexo (masculino / feminino).

Grupos	N	Peso (média \pm desvio padrão)	Idade (média \pm desvio padrão)	Sexo (masculino / feminino)
Controlo	14	74,14 \pm 15,04	62,19 \pm 4,35	5 / 9
Doença de Parkinson	26	70,46 \pm 14,87	64,57 \pm 7,96	12 / 14
Atrofia de sistemas múltiplos	8	67,25 \pm 9,27	62,71 \pm 6,58	5 / 3

Grupos	N	Peso (média ± desvio padrão)	Idade (média ± desvio padrão)	Sexo (masculino / feminino)
Degenerescência corticobasal	7	73,43 ± 11,11	68,56 ± 8,80	4 / 3
Demência de corpos de Lewy	7	61,64 ± 8,44	71,28 ± 7,57	4 / 3

4.1.1. Protocolo de diagnóstico clínico dos indivíduos em estudo

Os indivíduos em estudo foram diagnosticados recorrendo aos critérios de diagnóstico apresentados no Capítulo 2 deste trabalho.

É importante salientar que, atendendo que os diagnósticos são clínicos, estes podem vir a sofrer revisões em função da evolução dos doentes ou até da descoberta de novos biomarcadores.

4.1.2. Protocolo de aquisição das imagens de ressonância magnética

Para as aquisições das imagens ponderadas em T1 foi usado um sistema Siemens TrioTim MRI Scanner com uma intensidade de campo magnético de 3T, situado no edifício do Instituto de Ciências Nucleares Aplicadas à Saúde – ICNAS. As imagens a 3 dimensões (3D) são constituídas por um total de 176 cortes distintos e foram obtidas com uma matriz de dimensões 256x256 (mm) e um tamanho de vóxel de 1x1x1 (mm). Os tempos de repetição e de eco usados foram de 2530 (ms) e 3.42 (ms), respetivamente.

4.2. Processamento e leitura das imagens de ressonância magnética

O processamento e a leitura das imagens de ressonância magnética usadas neste trabalho foram realizados recorrendo a duas aplicações de *software*: o **ITK-SNAP** e o **3D-Slicer**. Estas aplicações permitem a comparação de múltiplas imagens, respondendo a problemas relacionados com a segmentação. Possibilitam ainda a visualização das imagens a cores, de forma a identificar de modo preciso e manual as diferentes regiões cerebrais.

O **ITK-SNAP** é uma aplicação de *software* que oferece uma segmentação de contornos ativa, em imagens médicas a 3D, ao utilizador da interface. É gratuita, de utilização pública e compatível com múltiplas plataformas. Comparando com outras ferramentas de análise de imagens, o *design* do **ITK-SNAP** foca-se especificamente no problema da segmentação, tentando manter em número reduzido as características estranhas ou relacionadas com possíveis erros associados ao processo de segmentação que possam provocar efeitos indesejados nos processos de análise de imagens ^{48,49}. No decorrer da realização deste trabalho, o **ITK-SNAP** foi usado de forma a permitir uma análise visual da qualidade do método de segmentação das imagens de ressonância magnética aplicado.

O **3D-Slicer** é um *software* público, disponível para múltiplos sistemas operativos, para informática de imagem médica, processamento de imagem (incluindo o alinhamento e a segmentação ativa) e visualização a 3D. Oferece aos físicos, aos investigadores e ao público em geral ferramentas poderosas e gratuitas para o processamento de imagens ⁵⁰. A utilização desta aplicação permitiu, neste trabalho, a sobreposição de imagens de modo a avaliar a segmentação realizada pelos métodos de processamentos de imagens descritos ao longo deste trabalho.

4.3. SPM12 – Mapeamento estatístico paramétrico

O mapeamento estatístico paramétrico refere-se à construção e avaliação de processos estatísticos espaciais usados para testar hipóteses acerca de dados de imagens funcionais. Esses processos foram projetados numa *toolbox* denominada SPM (do inglês,

Statistical Parametric Mapping), constituída por um conjunto de funções e rotinas do **Matlab** que se encontra disponível gratuitamente para a comunidade de (neuro)imagem. A versão atualmente disponível é a **SPM12**, lançada no dia 1 de outubro de 2014 (**Figura 4.1**)⁵¹.

O SPM foi criado para analisar sequências de dados de imagens do cérebro e segue uma abordagem baseada em vóxeis:

- As imagens são alinhadas, isto é, normalizadas espacialmente num espaço *standard* e suavizadas;
- Modelos paramétricos estatísticos são aplicados em cada vóxel, usando o modelo linear geral (GLM, do inglês *Generalized Linear Model*) para descrever os dados em termos de efeitos experimentais e a variabilidade residual;
- Inferências estatísticas clássicas são usadas para testar as hipóteses que são expressas em termos de parâmetros do GLM. São usadas imagens em que os valores dos vóxeis são estatísticos, isto é, uma imagem estatística ou um mapa estatístico paramétrico.

Generalizando, o SPM foi concebido com o objetivo de organizar e interpretar dados de neuroimagem funcional^{51,52}.

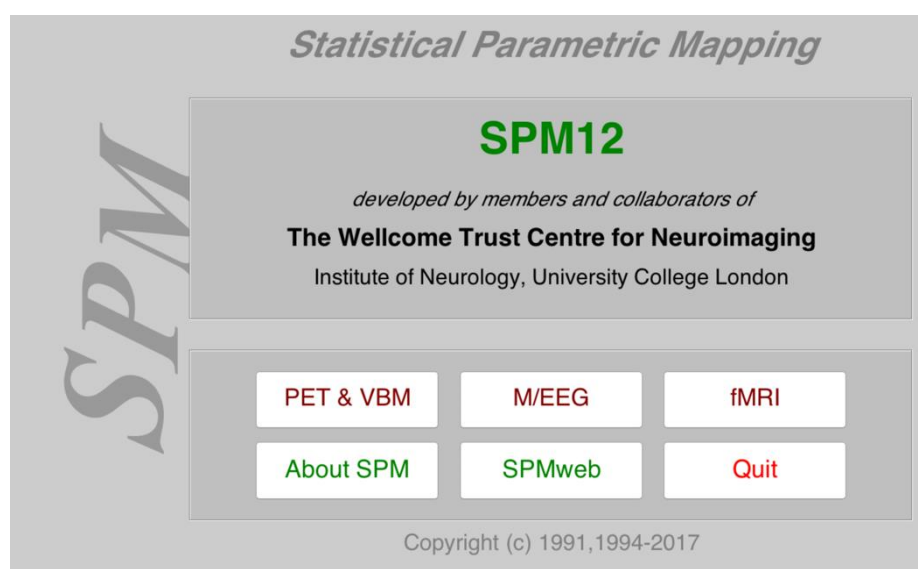


Figura 4.1: *Toolbox SPM12* do software **Matlab**.

Neste trabalho, as imagens de ressonância magnética foram analisadas recorrendo ao **SPM12**, através do software **Matlab R2015b**. O uso desta toolbox permitiu a posterior análise das imagens através da aplicação da técnica MBV.

4.3.1. MBV - Morfometria baseada em vóxel

Atualmente, um grande número de métodos de visão computacional tem sido desenvolvido para caracterizar as diferenças neuroanatômicas “*in vivo*”, recorrendo a imagens de ressonância magnética estrutural. Um desses métodos é a morfometria baseada em vóxel (MBV) que compara vóxel a vóxel diferentes imagens de RM do cérebro ⁵³.

A morfometria baseada em vóxel tem sido estudada como uma técnica objetiva e imparcial que permite o estudo de todo o cérebro envolvendo a comparação entre vóxeis do local onde se verifica concentração de substância cinzenta (SC), substância branca (SB) ou líquido cefalorraquidiano (LCR). Tem revelado utilidade ao nível da caracterização de mudanças subtis nas estruturas cerebrais em diversas doenças associadas a disfunções neurológicas e psiquiátricas. A importância da MBV provém do facto de não ser dirigida para uma estrutura em particular e proporcionar uma abordagem abrangente de diferenças anatômicas em todo o cérebro ^{54,55}.

A MBV recorre a estatísticas para identificar diferenças anatômicas no cérebro entre grupos de sujeitos, que em retorno, podem ser usadas para inferir acerca da presença de atrofia ou expansão de tecidos cerebrais ⁵⁶. Este método aplicado a dados de RM envolve a normalização espacial de todas as imagens estruturais ao mesmo espaço e a segmentação das imagens normalizadas em substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano. Após a segmentação, é realizada ainda suavização das imagens segmentadas, aplicando-se por fim, uma análise estatística para localizar diferenças significativas entre dois ou mais grupos experimentais. O resultado final produz um mapa estatístico paramétrico que mostra as regiões onde a concentração de substância cinzenta, substância branca ou líquido cefalorraquidiano diferem significativamente entre grupos ^{54,55}.

A primeira etapa deste trabalho foi baseada na utilização do método MBV. As etapas de pré-processamento e de análise estatística paramétrica são descritas adiante.

4.3.1.1. Normalização espacial

Para realizar análises estatísticas ao longo das imagens de RM de diferentes sujeitos, as imagens tiveram de coincidir ao nível espacial, de forma que a localização de determinada região cerebral numa imagem de ressonância magnética de um participante, correspondesse à localização da mesma região na imagem de ressonância magnética de um participante diferente.

De uma forma geral, a normalização espacial corresponde ao alinhamento das imagens para garantir que determinado vóxel de uma imagem esteja na mesma posição (x,y,z) em todas as outras imagens⁵³. Não é trivial de realizar uma vez que a anatomia cerebral varia muito entre sujeitos e que a cabeça destes pode também estar em posições diferentes⁵⁶.

Na *toolbox SPM12*, a normalização espacial foi conseguida alinhando cada uma das imagens ao mesmo *template* sendo este processo idealmente constituído por dois passos. No primeiro passo, é aplicada uma transformação afim de 12 parâmetros, na qual é realizada uma transformação linear (3x3) que permite alterar todas as partes da imagem de forma igual, em cada dimensão, e uma translação (3x1) que altera apenas a posição do cérebro no espaço^{54,55,57}. O segundo passo da normalização espacial corresponde à aplicação de uma transformação não-linear, envolvendo a estimativa de coeficientes das funções básicas que minimizam a raiz quadrada da diferença residual entre a imagem e o *template*, enquanto maximizam a suavidade das deformações^{54,55}.

O *dataset* deste trabalho foi normalizado no espaço MNI (*Montreal Neurological Institute*).

Destaca-se o facto da normalização espacial não combinar de forma exata cada característica das zonas corticais, mas sim corrigir as diferenças do cérebro de forma mais global. Isto verifica-se porque o método MBV tenta apenas detetar diferenças na concentração local nos volumes de substância cinzenta e branca, não atribuindo tanta importância às diferenças globais^{54,56}.

4.3.1.2. Segmentação

As imagens espacialmente normalizadas foram de seguida segmentadas em substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano, tendo sido a

classificação dos tecidos baseada nas intensidades observadas em cada voxel. Este processo é realizado usando uma técnica de análise de clusters de modelo de mistura que permite a identificação das distribuições das intensidades dos voxels nos diferentes tipos de tecidos ⁵⁴.

O modelo de classificação do tecido baseia-se em alguns pressupostos:

- Cada voxel IxJ da imagem é desenhado a partir de um número conhecido (k) de classes distintas de tecidos (clusters);
- A distribuição das intensidades de cada voxel dentro das diferentes classes é normal e inicialmente desconhecida;
- A distribuição das intensidades de cada voxel dentro de cada cluster k é descrita pelo número de voxels dentro de cada cluster (h_k), a média para esse cluster (v_k) e a variância em redor dessa média (c_k).

Uma vez que as imagens são espacialmente normalizadas para um espaço específico, as probabilidades *a priori* de cada voxel pertencer às classes de substância cinzenta, substância branca ou líquido cefalorraquidiano são conhecidas.

A segmentação também incorpora a correção da não uniformidade ao nível da intensidade da imagem, de forma a suavizar as variações de intensidade provocadas por diferentes posições das estruturas cranianas dentro da bobina de ressonância magnética. Para aumentar a estabilidade da segmentação, as imagens são então convolvidas com um filtro kernel de suavização.

Após a segmentação, os valores de cada voxel são representados entre 0 e 1 uma vez que descrevem a probabilidade de pertencer a determinada classe ou tipo de tecido ⁵⁴.

4.3.1.3. Modulação

Uma vez que no *software SPM12* a normalização espacial foi realizada recorrendo a uma transformação afim de poucos parâmetros, foi ainda aplicado um passo designado por modulação com o objetivo de corrigir as mudanças de volume que ocorreram durante a normalização espacial. Nesse passo, as intensidades das imagens segmentadas são “escaloadas” pela quantidade de contração ou expansão que ocorreu

durante a normalização espacial para que o total de substância cinzenta, substância branca ou líquido cefalorraquidiano se mantenha igual à verificada na imagem original ⁵⁶.

Neste trabalho, os processos de normalização, segmentação e modulação foram aplicados num único passo através da execução do método DARTEL, no *software* **SPM12**. A aplicação desse método oferece uma melhoria significativa na qualidade dos processos de pré-processamento mencionados. O método DARTEL encontra-se descrito na secção 4.3.2.

4.3.1.4. Suavização

O passo final do pré-processamento das imagens é a suavização, processo no qual as intensidades de cada vóxel são substituídas pela média pesada dos vóxeis vizinhos ⁵⁶.

As imagens segmentadas moduladas de substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano foram suavizadas por convolução com um filtro kernel gaussiano isotrópico. A maioria dos estudos recorrem a um kernel gaussiano FWHM de 12 mm, sendo esse o filtro usado na suavização do *dataset* segmentado deste trabalho ⁵⁴.

O processo de suavização permite uma distribuição normal dos dados pelo teorema do limite central, possibilitando que o comportamento dos resíduos das imagens segmentadas moduladas se torne mais normalmente distribuído. Este facto aumenta a validade dos testes estatísticos realizados numa fase seguinte.

A suavização ajuda a compensar também a falta de exatidão do processo de normalização espacial ⁵⁴.

4.3.1.5. Análise estatística paramétrica

Após realizar todas as etapas de pré-processamento das imagens, o passo final da MBV envolve a análise estatística vóxel a vóxel.

Essa análise estatística foi efetuada recorrendo ao modelo linear geral de modo a identificar regiões de concentração de substância cinzenta, de substância branca ou de líquido cefalorraquidiano que se encontrem relacionadas de forma significativa com os efeitos em estudo. O GLM permite realizar uma variedade de testes estatísticos como, por exemplo, comparações entre grupos e correlações com variáveis de interesse. São usados

procedimentos paramétricos padrão tais como testes *t-student* e ANOVA para testar hipóteses. A hipótese nula (H_0) aplicada nestes testes é geralmente a de que não existe diferença na média do volume dos tecidos entres os grupos em questão ⁵⁴.

A aplicação de testes paramétricos exige a verificação simultânea das seguintes condições: (i) a variável dependente deve possuir distribuição normal e (ii) as variâncias populacionais devem ser homogêneas. A violação de uma destas condições sugere o uso de testes não paramétricos ⁵⁸. Embora existam aplicações importantes das abordagens não paramétricas (que apresentam menor sensibilidade do que as abordagens paramétricas, não precisando de informação sobre a distribuição dos termos relativos aos erros), as suas aplicações são geralmente mais especializadas, sendo mais usadas as abordagens paramétricas em estudos de imagens cerebrais. Isto deve-se principalmente ao facto dos dados de imagem cerebral se encontrarem praticamente em conformidade com os pressupostos exigidos pela análise paramétrica devido aos processos de reconstrução de imagem, pós-processamento e *design* experimental ⁵⁹.

Os resultados dos testes paramétricos aplicados neste estudo são mapas paramétricos estatísticos que mostram todos os vóxeis do cérebro que rejeitam a hipótese nula (H_0) e que mostram significância para determinado valor p , isto é, $p < \alpha$ (nível de significância) ^{54,56}. Vários valores de nível de significância podem ser usados. A interpretação de um valor p significativo deve ficar ao critério do investigador e do tipo de estudo realizado ⁶⁰.

A análise estatística paramétrica aplicada no **SPM12** é constituída por 3 passos principais:

1. *Factorial design specification*;
2. *Model estimation*;
3. *Results*.

Ao clicar no botão **Basic Models**, surge a janela correspondente ao *Factorial design specification*, com uma lista completa de opções sobre o *design*, covariáveis, *masking*, cálculo global e diretoria (**Figura 4.2**). Os *designs* usados neste trabalho foram o “*Two-sample t-test*” e a “*One-way ANOVA*” e foram criadas duas covariáveis correspondentes à idade e ao sexo dos indivíduos em estudo com o objetivo de tornar os testes estatísticos aplicados mais conservadores, eliminando possíveis erros associados a estas duas covariáveis.

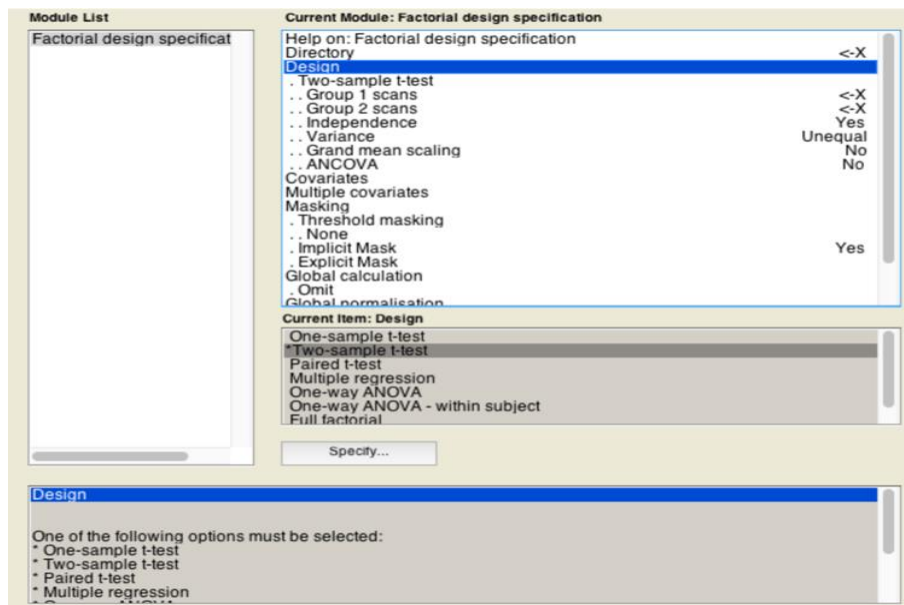


Figura 4.2: Processo de análise estatística paramétrica na *toolbox* SPM12 – Janela do botão *Basic Models*: Módulo *Factorial design specification*. Representação da lista de parâmetros possíveis de alterar para criação do modelo estatístico.

Nesta etapa, o SPM12 configura as informações necessárias para as análises, guardando-as num ficheiro “SPM.mat”.

O segundo passo da análise estatística (*Model estimation*) permite efetuar as análises estatísticas. Clicando em *Estimate*, surge uma janela na qual é necessário introduzir o ficheiro “SPM.mat” criado no passo anterior (Figura 4.3). A primeira fase desta etapa corresponde ao ajuste dos dados em cada vóxel a alguma combinação linear das colunas da matriz definida no *design*. Isto permite a criação de uma série de imagens “beta”, onde a primeira indica a contribuição da primeira coluna, a segunda indica a contribuição da segunda coluna e assim sucessivamente. Na segunda fase, é gerada uma imagem “ResMS” que fornece informações sobre os desvios padrões necessários para as estatísticas do teste t e da ANOVA.

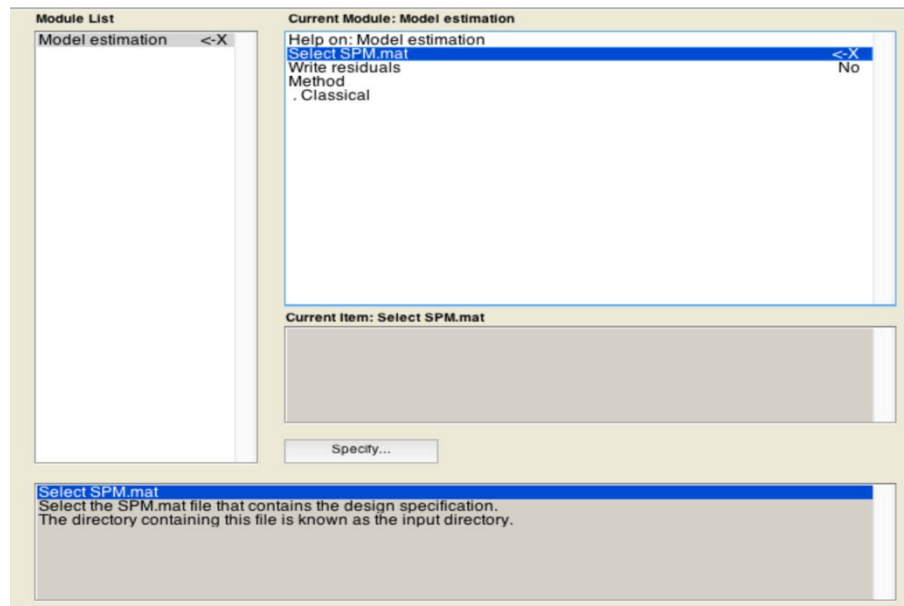


Figura 4.3: Processo de análise estatística paramétrica na *toolbox* SPM12 – Janela do botão *Estimate*: Módulo *Model Estimation*.

Finalmente, após o modelo ser criado e as estatísticas auxiliares calculadas, é possível usar as informações contidas nas imagens “beta” e “ResMS” (assim como o ficheiro “SPM.mat”) para gerar imagens estatísticas através do botão **Results**. Nesta etapa final, são especificados vetores de contraste que indicam a combinação linear de imagens “beta” a testar. As combinações lineares são guardadas como imagens “con”⁶¹.

Os contrastes possibilitam a comparação múltipla de condições definidas neste estudo. Usando contrastes com condições, como no caso deste estudo, devem estabelecer-se valores positivos, como +1, para as condições de interesse e valores negativos, como -1, para as condições que serão subtraídas às condições de interesse. Uma regra fundamental relacionada com a aplicação de contrastes com condições é a de que a soma das condições aplicadas deve ser nula⁶².

Após a definição dos contrastes a aplicar em cada modelo estatístico, surge ainda uma janela na qual são solicitados valores a atribuir aos seguintes parâmetros:

- *Apply masking*;
- *P-value adjustment to control*;
- *Threshold {T/F or p value}*;
- *Extent threshold {voxels}*.

Os valores usados para esses parâmetros foram: um valor de *P-value adjustment to control* igual a *none*, de *Threshold {T/F or p value}* igual a 0,001 e de *Extent threshold {voxels}* igual a 100. Não foi aplicado nenhum processo de *masking*. É importante realçar que foram aplicados valores iguais para estes parâmetros, em todos os modelos estatísticos criados neste estudo.

A aplicação de um valor *p* baixo ($p < 0,001$) e de um *threshold* de vóxeis de 100 (correção por cluster), em conjunto com a criação das duas covariáveis mencionadas anteriormente, permitiu tornar os modelos estatísticos suficientemente conservadores uma vez que o estudo realizado se trata de um estudo exploratório. Na realidade, a vertente exploratória deste estudo levou-nos a rejeitar a aplicação de métodos de correções para comparações múltiplas, correndo o risco de obter um maior número de falsos positivos, mas evitando a rejeição de verdadeiros positivos. A aplicação de uma correção para comparações múltiplas, neste caso, muito dificilmente iria permitir identificar alguma região com diferenças estatisticamente significativas uma vez que os dados de imagem em estudo são reduzidos.

As estatísticas *t* e *F* obtidas nos testes estatísticos são guardadas em imagens “spmT” e “spmF”, respetivamente ⁶¹.

4.3.1.5.1. Teste *t-student* para duas amostras

O teste *t-student* é o teste paramétrico de significância estatística mais usado e adequado para dados numéricos ou categóricos. Compara as médias de 2 grupos para determinar se são iguais: se forem iguais, nenhuma diferença existe entre os grupos ⁶³.

Assim, para dois grupos (A e B, por exemplo), onde a variável sob estudo possui distribuição normal, as hipóteses a testar são (**Equação (4.1)**):

$$H_0: \mu_A = \mu_B \text{ vs } H_1: \mu_A \neq \mu_B \quad (4.1)$$

onde μ é a média de cada grupo.

Os resultados dos testes *t* são baseados em valores *t*. Os cálculos por detrás dos valores *t* comparam as médias das amostras: um valor nulo de *t* indica que as médias são exatamente iguais. À medida que a diferença entre as médias das amostras aumenta, o

valor absoluto de t também aumenta. É importante ter em conta que valores grandes de t (negativos ou positivos) são menos prováveis e que os valores t e p estão intimamente ligados, uma vez que se observa que quanto maior for o valor absoluto de t , menor é o valor p associado e maior será a evidência contra a hipótese nula ⁶⁴.

Neste trabalho, o modelo estatístico paramétrico *t-student* foi definido, testado e aplicado efetuando os três passos descritos no subcapítulo correspondente à análise estatística paramétrica efetuada no **SPM12**. Para atingir os objetivos deste estudo, as médias dos valores de intensidade em cada vóxel (neste caso correspondendo ao volume) foram comparadas de forma a avaliar a existência de regiões com diferenças estatisticamente significativas de volumes médios de tecidos.

O *design* definido para este teste foi o “*Two-sample t-test*”, sendo considerados os grupos 1 e 2, correspondentes ao conjunto de imagens de RM que foram comparadas. Foram ainda consideradas as duas covariáveis correspondentes à idade e ao sexo dos doentes em estudo.

O teste *t-student* pode aplicar-se se as condições de aplicação dos testes paramétricos se verificarem ⁶⁵. Por defeito, o **SPM12** assume que as medidas são independentes e que possuem variâncias heterogéneas. Variâncias diferentes induzem diferentes componentes de covariância de erro. Essas componentes são avaliadas e ajustadas pelo **SPM12**, usando o teorema da máxima verossimilhança restrita (ReML, do inglês *Restricted Maximum Likelihood*) ⁵². Uma vez que os dados de imagem usados foram submetidos a todas as etapas de pré-processamento obrigatórias (incluindo o processo de suavização que possibilita uma normalização da distribuição dos dados), foi assumido que todas as condições para a aplicação do teste estatístico *t-student* estariam a ser cumpridas.

Os testes estatísticos *t-student* foram realizados em comparações síndrome versus controlo (comparação de um grupo de síndrome com o grupo controlo), síndromes versus controlo (comparação de todos os grupos de síndromes com o grupo controlo) e ainda, síndrome versus síndrome (comparação de um grupo de síndrome com outro grupo de síndrome), tendo sido aplicados dois contrastes diferentes em cada comparação efetuada (**Tabela 4.2**).

Tabela 4.2: Contrastes definidos para os modelos “*Two-sample t-test*” – síndrome versus controlo saudável, síndrome versus síndrome e síndromes versus controlo saudável. Os modelos e respetivos

contrastes foram aplicados nas imagens de substância cinzenta (SC) e substância branca (SB), em cada comparação efetuada. Os grupos em comparação foram DP, AMS, DCL e DCB e controlo.

Contrastes dos modelos “Two-sample t-test”		
Contraste	Definição do contraste	Contraste t
Síndrome versus Controlo		
(Comparação de um grupo de síndrome com o grupo controlo)		
Contraste 1:	<p>Síndrome < Controlo: diminuição de volume cerebral na síndrome em relação ao controlo.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ DP < Controlo (SC e SB); ○ AMS < Controlo (SC e SB); ○ DCL < Controlo (SC e SB); ○ DCB < Controlo (SC e SB). 	-1 1
Contraste 2:	<p>Síndrome > Controlo: aumento de volume cerebral na síndrome em relação ao controlo.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ DP > Controlo (SC e SB); ○ AMS > Controlo (SC e SB); ○ DCL > Controlo (SC e SB); ○ DCB > Controlo (SC e SB). 	1 -1
Síndrome versus Síndrome		
(Comparação de um grupo de síndrome com outro grupo de síndrome)		
Contraste 1:	<p>Síndrome < Síndrome: diminuição de volume cerebral numa síndrome em relação a outra síndrome.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ DP < AMS (SC e SB); ○ DP < DCL (SC e SB); ○ DP < DCB (SC e SB); ○ AMS < DCL (SC e SB); ○ AMS < DCB (SC e SB); ○ DCL < DCB (SC e SB). 	-1 1
Contraste 2:	<p>Síndrome > Síndrome: aumento de volume cerebral numa síndrome em relação a outra síndrome.</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ DP > AMS (SC e SB); ○ DP > DCL (SC e SB); 	1 -1

Contrastes dos modelos “Two-sample t-test”		
Contraste	Definição do contraste	Contraste t
	<ul style="list-style-type: none"> ○ DP > DCB (SC e SB); ○ AMS > DCL (SC e SB); ○ AMS > DCB (SC e SB); ○ DCL > DCB (SC e SB). 	
Síndromes versus Controlo		
(Comparação de todos os grupos síndromes com o grupo controlo)		
Contraste 1:	Síndromes < Controlo: diminuição de volume cerebral nas síndromes (todas) em relação ao controlo.	-1 1
Contraste 2:	Síndromes > Controlo: aumento de volume cerebral nas síndromes (todas) em relação ao controlo.	1 -1

Os modelos desenhados foram aplicados nas imagens segmentadas de substância cinzenta e substância branca suavizadas, obtidas após as etapas de pré-processamento, de forma a obter imagens estatísticas t nas quais se encontrem diferentes valores de t e se identifiquem as regiões com diferenças de volume médio estatisticamente significativas.

4.3.1.5.2. Teste ANOVA *One-way*

Como mencionado, o teste *t-student* apenas pode ser usado para testar diferenças entre duas médias. A análise de variância (ANOVA) é uma generalização do teste *t-student* quando três ou mais conjuntos de dados estão a ser comparados⁶³. A ANOVA *One-way* é, portanto, usada para determinar se existem diferenças estatisticamente significativas entre as médias de três ou mais grupos independentes, testando a hipótese nula (**Equação (4.2)**):

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k \quad (4.2)$$

onde μ é a média de cada grupo e k é o número de grupos.

A probabilidade de obter um determinado valor de F sob H_0 pode ser calculada a partir da distribuição da estatística F criada pela aplicação do teste^{66,67}.

Neste trabalho, recorreu-se à ANOVA com o objetivo de comparar todos os grupos de síndromes e perceber se existiam diferenças estatisticamente significativas entre eles. Este teste paramétrico foi realizado aplicando os passos descritos no subcapítulo 4.3.1.5 correspondente à análise estatística efetuada na *toolbox* **SPM12** do *software* **Matlab R2015b**.

O *design* usado foi o “*one-way* ANOVA” e foram consideradas as covariáveis correspondentes a sexo e à idade dos doentes em estudo.

Uma vez que a ANOVA *One-way* é um teste paramétrico, as condições da sua aplicação devem ser respeitadas. Por defeito, as medidas são assumidas como independentes e as variâncias como heterogêneas, no **SPM12**. Assim, o **SPM12** aplica mais uma vez o teorema da máxima verossimilhança restrita para avaliar as componentes de covariância e ajustar as estatísticas e os graus de liberdade⁵². Tendo em conta que os dados de imagem foram submetidos a todas as etapas de pré-processamento essenciais para assegurar a validação dos pressupostos, considerou-se adequada a aplicação do teste ANOVA *One-way*.

Recorreu-se às imagens segmentadas, moduladas e suavizadas correspondentes aos grupos DP, AMS, DCL e DCB para avaliar a existência de diferenças estatísticas significativas entre esses grupos.

Os contrastes considerados para este modelo estatístico estão descritos na **Tabela 4.3** e foram aplicados nas comparações realizadas para as imagens de substância cinzenta e de substância branca, para os quatro grupos de síndromes em estudo neste trabalho.

Tabela 4.3: Contraste definido para o modelo “*one-way* ANOVA” – comparação entre os diferentes grupos de síndromes. O modelo ANOVA foi aplicado às imagens de substância cinzenta e substância branca de forma a avaliar a significância estatística. Os grupos em comparação foram DP, AMS, DCL e DCB.

Contrastes do modelo “ <i>One-way</i> ANOVA”		
Contraste	Definição do contraste	Contraste F
Contraste F:	Síndrome versus Síndrome: comparação entre todos os grupos de síndromes.	$1 \ -1/3 \ -1/3 \ -1/3$ $-1/3 \ 1 \ -1/3 \ -1/3$ $-1/3 \ -1/3 \ 1 \ -1/3$ $-1/3 \ -1/3 \ -1/3 \ 1$

Após a aplicação do modelo estatístico, foram obtidas imagens estatísticas F, onde podem ser observadas as regiões em que existem diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância cinzenta e substância branca entre os grupos de síndromes em comparação.

4.3.1.5.3. Identificação das regiões cerebrais

Após a aplicação dos processos estatísticos paramétricos, as regiões cerebrais onde se verificaram diferenças estatisticamente significativas de volumes médios foram identificadas. A identificação dessas regiões realizou-se aplicando a conversão das coordenadas no espaço MNI em coordenadas no espaço de Talairach de forma a serem associadas às diferentes áreas de Brodmann conhecidas. As áreas de Brodmann são regiões do córtex cerebral definidas com base nas suas estruturas citoarquitetónicas e organização das células ⁶⁸. Uma descrição sumarizada das diferentes áreas de Brodmann é disponibilizada no Apêndice A.

O espaço MNI (do inglês *Montreal Neurological Institute*) é pré-definido pelo **SPM12** como *standard*. O espaço de Talairach é um sistema a 3 dimensões (também conhecido por “atlas”) do cérebro humano, usado para mapear a localização de estruturas cerebrais independentes ⁶⁹.

Efetou-se a conversão das coordenadas MNI para coordenadas de Talairach de forma a identificar as diferentes regiões cerebrais definidas pelas áreas de Brodmann,

recorrendo à aplicação disponibilizada online gratuitamente (em <http://sprout022.sprout.yale.edu/mni2tal/mni2tal.html>) e desenvolvida pela Universidade de Yale ⁷⁰.

4.3.2. MBV com DARTEL

A normalização espacial não linear altera os volumes das regiões cerebrais. Estas alterações têm implicações na interpretação dos testes aplicados pelo MBV cujo objetivo é identificar as diferenças regionais na composição de tecido cerebral. Para preservar a quantidade de um tipo de tecido dentro de cada vóxel, é necessário multiplicar as imagens pelos volumes relativos de cada vóxel antes e após a deformação. Esses volumes são os determinantes Jacobianos do campo de deformação ⁷¹.

O DARTEL (do inglês *Diffeomorphic Anatomical Registration Using Exponentiated Lie Algebra*) é um algoritmo difeomórfico de alinhamento de imagem, implementado para imagens a 2D e 3D. A ideia geral deste algoritmo é registrar as imagens criando um campo de fluxo, que pode ser exponenciado para gerar diversos tipos de deformações. O modelo DARTEL assume um campo de fluxo u que permanece constante ao longo do tempo. Neste modelo, a equação diferencial que descreve a evolução de uma transformação é representada pela **Equação (4.3)**:

$$\frac{d\phi}{dt} = u(\phi^{(t)}) \quad (4.3)$$

Para produzir uma deformação, é necessário iniciar com uma transformada identidade ($\phi^{(0)} = x$) e integrar ao longo do tempo para obter $\phi^{(1)}$.

As derivadas (matrizes Jacobianas) das transformações formam um campo tensor de segunda ordem representado abaixo (**Equação (4.4)**):

$$J_{\phi}(x) = (\nabla\phi^T)^{\circ}x = \begin{pmatrix} \frac{\partial\phi_1(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial\phi_1(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial\phi_1(x)}{\partial x_3} \\ \frac{\partial\phi_2(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial\phi_2(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial\phi_2(x)}{\partial x_3} \\ \frac{\partial\phi_3(x)}{\partial x_1} & \frac{\partial\phi_3(x)}{\partial x_2} & \frac{\partial\phi_3(x)}{\partial x_3} \end{pmatrix} \quad (4.4)$$

As matrizes Jacobianas codificam a expansão, o corte e a rotação local do campo de deformação. Dessas matrizes, podem ser derivadas medidas úteis como os determinantes Jacobianos que indicam os volumes relativos antes e depois da transformação espacial ⁷².

O *dataset* deste trabalho foi normalizado, segmentado e modulado recorrendo ao algoritmo DARTEL.

4.3.3. Limitações da MBV

Embora todos os passos de pré-processamento sejam necessários, podem introduzir erros e variabilidade nas análises, o que por sua vez pode reduzir a sensibilidade.

O MBV não consegue diferenciar mudanças reais em volumes de tecido de locais que tenham sido mal registados ao realizar a normalização espacial. A precisão da normalização varia ao longo das regiões e conseqüentemente, a capacidade de detetar mudanças irá também variar ao longo das regiões. A precisão da segmentação dependerá também da qualidade da normalização. Para funcionar corretamente, o método de segmentação requer um bom contraste entre os diferentes tipos de tecido. No entanto, muitas estruturas centrais de substância cinzenta têm intensidades de imagem quase indistintas das intensidades de substância branca, sendo, portanto, a classificação pouco precisa nessas regiões. Têm sido desenvolvidos métodos iterativos de normalização e segmentação com o objetivo de otimizar ambos os processos ^{54,56}.

É importante que todas as imagens estruturais sejam adquiridas no mesmo equipamento de ressonância magnética, com parâmetros de imagem idênticos. Caso contrário, efeitos significativos poderão ser devido ao equipamento de aquisição / parâmetros das sequências de ressonância magnética em vez de ser relacionado com os sujeitos propriamente ditos.

Por fim, a aplicação dos testes paramétricos obriga a que os dados estejam normalmente distribuídos. Caso existam dúvidas, é sugerido o uso de uma análise estatística não-paramétrica ⁵⁴.

No entanto, como já referido, a análise estatística não paramétrica é ainda uma área especializada na comunidade de imagem, sendo aplicada apenas por alguns investigadores. Neste trabalho foi escolhida a análise paramétrica uma vez que os dados de imagem foram tratados de modo a apresentarem distribuições não muito díspares dos pressupostos exigidos pela análise paramétrica ⁵⁹. Não se exclui a possibilidade de falsos positivos ou falsos negativos devidos a erros na análise estatística, que a acontecer não serão muito significativos ⁵⁵.

4.4. Classificação Binária e Multiclasse: SVM e LIBSVM

Os estudos em neuroimagem permitem observar, por exemplo, diferenças entre grupos de doentes e controlos. No entanto, os médicos devem tomar decisões clínicas acerca de doentes, de forma individual.

Este trabalho procurou classificar individualmente os indivíduos em estudo com base em dados volumétricos de substância cinzenta retirados das imagens de RM obtidas após a aplicação da técnica MBV.

O *Supervised Machine Learning* é um método inserido numa área da inteligência artificial que permite a caracterização ao nível individual ⁷³. Um dos principais métodos de *Supervised ML* para classificação é o *Support Vector Machine* (SVM).

O SVM foi desenvolvido para classificação binária e pretende estimar uma função de decisão a partir de um conjunto de dados de treino, a qual será depois usada para classificar novos casos. Isto é, a função decisão devolverá a classe prevista de um exemplo novo. Para tal, o SVM calcula o hiperplano separador ótimo em termos de distância entre classes capaz de discriminar um conjunto de dados com *labels* binárias e de classificar, posteriormente, dados novos (**Figura 4.4**) ⁷⁴⁻⁷⁶.

Para a construção de um classificador, o primeiro passo deve ser a extração e seleção de *features*, seguindo-se depois a avaliação da sua performance ⁷³.

Neste trabalho, foram avaliados os classificadores construídos para realizar a classificação binária entre os grupos em estudo indicados na **Tabela 4.4**. A classificação binária foi realizada com as funções implementadas no *software* **Matlab R2015b**.

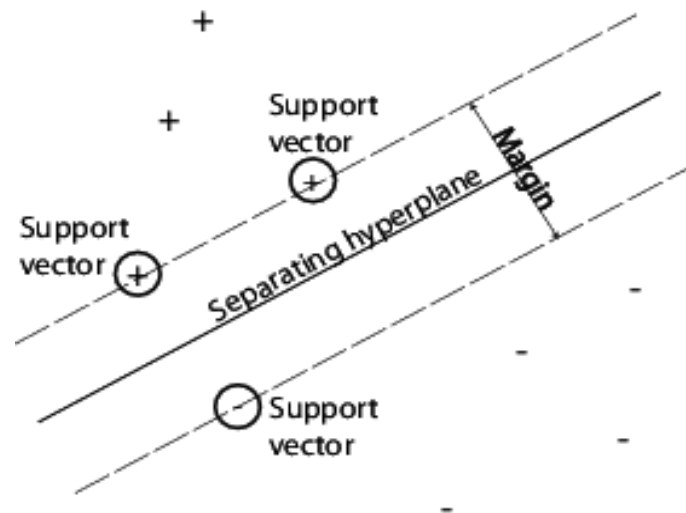


Figura 4.4: Hiperplano separador da classificação binária realizada pelo SVM. Retirada de ⁷⁶.

Tendo em conta os diferentes grupos em estudo, foi ainda realizada uma classificação multiclasse. Para tal, recorreu-se biblioteca LIBSVM, a qual permite resolver problemas de classificação multiclasse como a classificação síndromes versus síndromes realizada neste trabalho. O LIBSVM permite implementar o método “*one-against-one*” na classificação multiclasse através da aplicação de um sistema de votação no qual se considera cada classificação binária como uma votação e se realiza a contagem do número de vezes em que cada caso foi classificado em cada classe (votos). Um caso será classificado como sendo pertencente à classe que apresentar o maior número de votos ⁷⁷.

Tabela 4.4: Grupos para a classificação recorrendo ao SVM e à biblioteca LIBSVM – classificação binária e multiclasse.

Grupos para classificação
Classificação Binária: SVM
Controlo versus Síndrome
Classificação entre controlo e cada uma das síndromes:
<ul style="list-style-type: none">○ Controlo versus DP○ Controlo versus AMS○ Controlo versus DCL○ Controlo versus DCB
Controlo versus Síndromes
Classificação entre controlo e todas as síndromes
Síndrome versus Síndrome
Classificação entre cada uma das síndromes, duas a duas:
<ul style="list-style-type: none">○ DP versus AMS○ DP versus DCL○ DP versus DCB○ AMS versus DCL○ AMS versus DCB○ DCL versus DCB
Classificação Multiclasse: LIBSVM
Síndromes versus Síndromes
Classificação entre todas as síndromes

Uma vez que se verifica heterogeneidade no número de casos em cada classe, foi ainda necessário atribuir pesos diferentes a cada classe nas classificações realizadas. O peso de cada classe, w_i , deve ser tal que quando multiplicado pelo respetivo número de casos de cada classe, C_i , o resultado seja constante (**Equação (4.5)**):

$$w_1 \times C_1 = w_2 \times C_2 = w_3 \times C_3 = \dots = w_i \times C_i \quad (4.5)$$

4.4.1. Extração e seleção de *features*

A extração de *features* envolve a transformação do conjunto de dados original num conjunto de *features* que possa ser usado como *input* no SVM. A seleção de *features* envolve a seleção de um subconjunto de *features* que possibilita uma aprendizagem mais correta e fácil por parte do classificador ⁷³.

As *features* usadas neste trabalho foram os valores normalizados de volume de substância cinzenta calculados nas ROI (do inglês *Regions of Interest*) do cérebro de cada indivíduo. As ROI, por sua vez, foram obtidas após aplicação de máscaras que permitem identificar as regiões onde existem diferenças significativas de volume médio de substância cinzenta entre os casos em estudo (**Tabela 4.5**).

A máscara usada para definir as ROI para as classificações binárias síndrome versus controlo e síndromes versus controlo foi obtida recorrendo à imagem estatística *t* resultante da aplicação do teste *t-student* para a comparação síndromes versus controlo, na técnica MBV. A imagem estatística em questão permitiu identificar as regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância cinzenta comuns em todas as síndromes em relação ao grupo de controlos saudáveis. Essas regiões correspondem às ROI usadas para as classificações binárias mencionadas.

Para a classificação binária síndrome versus síndrome e para a classificação multiclasse síndromes versus síndromes, recorreu-se à imagem da estatística *F* (obtida após aplicação do teste ANOVA no método MBV) para a definição de ROI onde se verificassem diferenças significativas de volume médio de substância cinzenta entre síndromes.

Tabela 4.5: Definição de ROI – aplicação de máscaras definidas através das imagens estatísticas *t* e *F*.

Definição de ROI – aplicação de máscaras
Aplicação da máscara obtida através da imagem da estatística <i>t</i> do teste <i>t-student</i> (comparação síndromes versus controlo)

Classificação:

- Controlo versus DP
- Controlo versus AMS
- Controlo versus DCL

Definição de ROI – aplicação de máscaras

- Controlo versus DCB
- Controlo versus síndromes

Aplicação da máscara obtida através da imagem da estatística F do teste ANOVA (comparação síndromes versus síndromes)

Classificação:

- DP versus AMS
 - DP versus DCL
 - DP versus DCB
 - AMS versus DCL
 - AMS versus DCB
 - DCL versus DCB
 - Síndromes versus Síndromes
-

Os volumes normalizados de substância cinzenta foram obtidos através dos valores de intensidade dos vóxeis.

Numa primeira etapa, foram calculados os somatórios dos valores de intensidade de substância cinzenta de cada vóxel, em cada uma das imagens de ressonância magnética obtidas após aplicação das máscaras criadas. Desta forma, garantiu-se que apenas os vóxeis das ROI fossem somados. Para obter o volume normalizado, foi ainda necessário dividir os somatórios referidos acima pelos somatórios dos valores de intensidade total (soma da substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano) de cada vóxel presente no cérebro, em cada uma das imagens. Isto é, o volume de substância cinzenta das ROI foi normalizado pelo volume total cerebral. Este passo foi fundamental para corrigir os valores de volume de substância cinzenta obtidos uma vez que o tamanho do cérebro difere entre indivíduos.

A obtenção dos valores referidos foi possível recorrendo ao *software* **Matlab R2015b**.

4.4.2. Treino e avaliação do classificador

Na fase de treino, o SVM é treinado usando o conjunto de treino predefinido pelo utilizador de forma a estimar a função decisão ou hiperplano que melhor distingue os diferentes grupos experimentais (por exemplo, doentes e controlos) ⁷³.

Na fase de teste, o algoritmo é usado para prever o grupo ao qual pertence uma nova observação. Um método muito usado para testar a performance do classificador, nesta etapa, é a validação cruzada “Leave-one-out” (LOOCV, do inglês *Leave-One-Out Cross-validation*) que se procede excluindo um único indivíduo de cada grupo e treinando o classificador usando apenas os indivíduos que permanecem no grupo. Cada indivíduo excluído é depois usado para testar a capacidade do classificador. Este procedimento é repetido para todos os indivíduos de forma a estimar a capacidade de generalização do classificador ^{73,78}.

A *performance* de um algoritmo de classificação pode ser descrita pela sua sensibilidade, especificidade e precisão ⁷³. Olhando para a tabela de contingência de um problema de classificação entre duas classes representada na **Tabela 4.6**, a sensibilidade refere-se à quantidade de verdadeiros positivos corretamente identificados e pode ser obtida pela **Equação (4.6)**:

$$\text{Sensibilidade} = \frac{\text{VP}}{(\text{VP}+\text{FN})} \quad (4.6)$$

A especificidade, por sua vez, diz respeito à proporção de verdadeiros negativos corretamente identificados (**Equação (4.7)**) [46], [51]:

$$\text{Especificidade} = \frac{\text{VN}}{(\text{VN}+\text{FP})} \quad (4.7)$$

Quando um conjunto de treino é constituído por diferentes números de elementos de cada classe, pode observar-se que o classificador tende a classificar os elementos como pertencentes à classe mais frequente. Para evitar que o classificador se torne tendencioso, é geralmente usada uma métrica adicional, a precisão balanceada, que pode ser definida como a média da especificidade com a sensibilidade (**Equação (4.8)**) ⁷⁹:

$$\text{Precisão Balanceada} = \frac{\text{Especificidade} + \text{Sensibilidade}}{2} \quad (4.8)$$

Se o classificador demonstrar classificar de forma correta em ambas as classes, o termo referido acima reduzir-se-á à precisão convencional calculada a partir da **Equação (4.9)** ⁷⁹:

$$\text{Precisão} = \frac{VP+VN}{VP+FN+VN+FP} \quad (4.9)$$

A precisão é definida como a proporção de resultados verdadeiros (isto é, corretamente classificados) sobre o número total de casos em estudo ^{79,80}.

Tabela 4.6: Tabela de contingência para a classificação binária. Adaptada de ⁸⁰.

	Positivo previsto	Negativo previsto
Classe Positiva	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Negativo (FN)
Classe Negativa	Falso Positivo (FP)	Verdadeiro Negativo (VN)

Neste trabalho, a *performance* do algoritmo de classificação binária foi avaliada através dos valores de especificidade, sensibilidade e precisão balanceada. Considerou-se o valor da precisão balanceada a métrica com mais peso na avaliação do classificador binário pois os conjuntos de treino usados não são equilibrados (isto é, o número de elementos em cada classe é diferente). A *performance* do algoritmo de classificação multiclasse foi avaliada recorrendo à precisão.

4.4.3. Avaliação estatística dos classificadores

Uma vez que os conjuntos de dados usados para a classificação são pequenos, os resultados obtidos poderão ser pouco robustos. Com o objetivo de verificar a validade do processo de classificação e a sua significância estatística, aplicou-se ainda uma técnica que permite avaliar a proporção de classificações corretas que um classificador obtém se

classificar à sorte e assim comparar a precisão do classificador com a sua precisão se classificar à sorte.

Para tal, foi criado um ciclo que permitiu a troca aleatória das *labels* das *features* dos conjuntos de treino. Este processo de troca foi repetido 200 vezes em cada classificação binária e multiclasse sendo calculados os valores de precisão balanceada e precisão, respetivamente, no final de cada ciclo. Desta forma, foram obtidos conjuntos de 200 valores de precisão balanceada e precisão, para cada classificação binária e multiclasse efetuadas à sorte.

Por fim, foram calculados os valores da média de precisão balanceada e precisão à sorte, sendo esses valores comparados, posteriormente, com os obtidos nas classificações com os dados originais.

É desejado que os valores da média de precisão balanceada e precisão obtidos nas classificações à sorte (binária e multiclasse) sejam significativamente inferiores aos valores obtidos com os dados originais uma vez que as *labels* das classes estão atribuídas de forma aleatória e errada ⁸¹. É ainda desejado que a comparação estatística efetuada apresente um valor de p inferior a 0,05. Caso estas duas condições não se verifiquem em simultâneo, o classificador não terá qualquer interesse estatístico.

As comparações estatísticas mencionadas foram realizadas recorrendo ao *software* **SPSS**. O **IBM SPSS Statistics** é um *software* estatístico usado na resolução de problemas da área dos negócios e da pesquisa que permite a realização de testes de hipóteses, seleção e realização de análises, entre outras técnicas e ferramentas fornecidas ⁸². O teste estatístico aplicado no **SPSS** foi o teste *t-student* para uma amostra.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

5.1. Análise da aplicação do método MBV

A aplicação do método MVB implicou a realização das etapas de pré-processamento e a posterior análise estatística paramétrica de forma a obter mapas estatísticos paramétricos onde se observassem regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância cinzenta e substância branca. Com a finalidade de auxiliar à localização espacial das regiões com diferenças estatisticamente significativas, todos os mapas estatísticos obtidos foram sobrepostos à imagem "Single_subj_T1.nii" disponibilizada pelo **SPM12**.

Segue-se uma análise dos resultados obtidos após a aplicação do método MBV às imagens de ressonância magnética.

5.1.1. Análise do pré-processamento das imagens de ressonância magnética

O pré-processamento das imagens de ressonância magnética foi realizado aplicando o método MBV disponibilizado pelo **SPM12** do *software* **MATLAB R2015b**. As etapas de normalização, segmentação e modulação foram realizadas recorrendo ao método MBV com DARTEL, tendo sido obtidas imagens segmentadas moduladas de substância cinzenta, substância branca e líquido cefalorraquidiano.

Recorrendo ao *software* **ITK-SNAP (Figura 5.1)**, foi possível analisar o resultado da segmentação aplicada nas imagens obtidas, avaliando assim a qualidade dos passos de pré-processamento realizados. A avaliação do pré-processamento foi ainda

efetuada sobrepondo as imagens segmentadas à imagem correspondente ao *template* padrão usado pelo *software* **SPM12** para realizar a normalização no espaço MNI (*template* “single_subj_T1.nii”). Esta sobreposição foi realizada recorrendo ao *software* **3D-Slicer** (**Figura 5.2**).

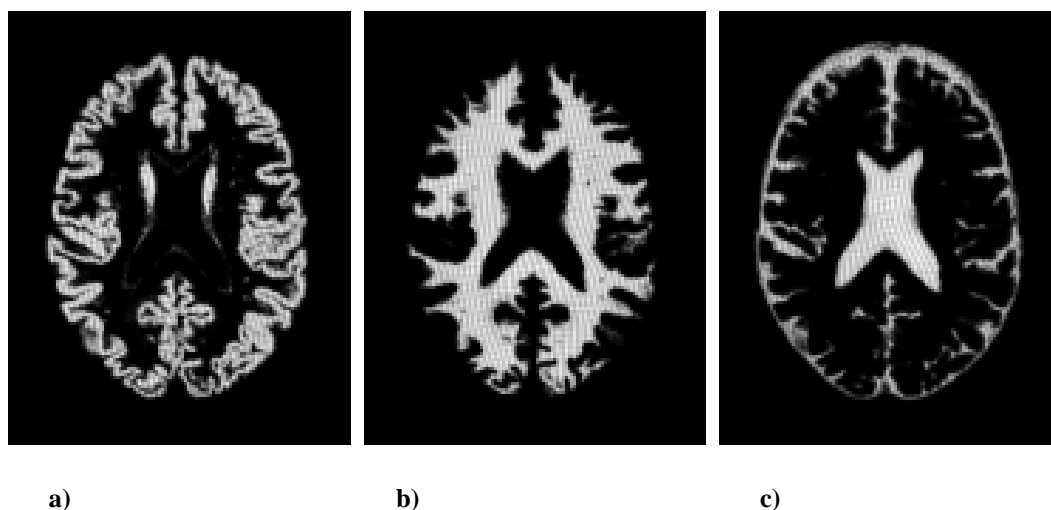


Figura 5.1: Análise do pré-processamento das imagens de RM recorrendo ao *software* **ITK-SNAP**. Representação do corte axial da substância cinzenta (a), substância branca (b) e líquido cefaloraquidiano (c) do cérebro de um doente diagnosticado com doença de Parkinson.

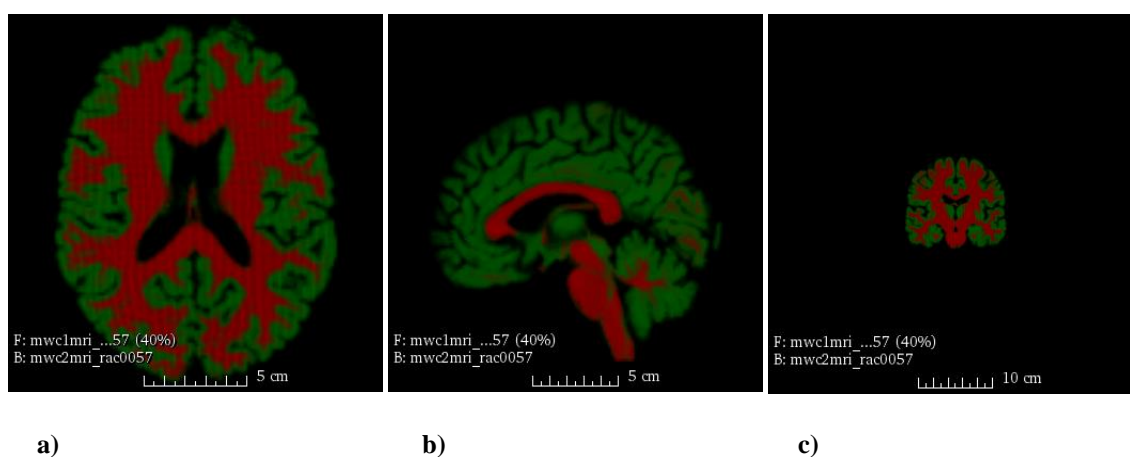


Figura 5.2: Análise do pré-processamento das imagens de RM recorrendo ao *software* **3D-Slicer**. Representação do corte axial (a), sagital (b) e coronal (c) da substância cinzenta (verde) e da substância branca (vermelho) do cérebro de um controlo saudável.

Após a avaliação das imagens obtidas do pré-processamento realizado pelo método MBV, foi confirmado que as etapas de normalização e de segmentação foram corretamente aplicadas nas imagens iniciais de RM.

Através da análise visual e manual efetuada nos *softwares* mencionados, verificou-se ainda a correta localização da substância cinzenta no córtex cerebral e nos núcleos e da substância branca abaixo do córtex cerebral e em redor dos núcleos.

Foram, assim, reunidas as condições para aplicar a análise estatística paramétrica e analisar a existência de diferenças significativas de volumes médios de substâncias entre os cérebros dos diferentes indivíduos em estudo.

5.1.2. Análise da aplicação da estatística paramétrica – Teste “*Two-sample t-test*” e “*One-way ANOVA*”

A análise estatística paramétrica foi iniciada com a criação dos modelos estatísticos recorrendo à *toolbox SPM12* que foram aplicados nas imagens suavizadas, segmentadas e moduladas correspondentes à substância cinzenta e substância branca de cada grupo em estudo.

Foram obtidas imagens estatísticas com os valores *t* de cada região cerebral, no caso da aplicação dos modelos *t-student* e imagens estatísticas com os valores *F* de cada região cerebral, no caso da aplicação do modelo ANOVA.

As imagens estatísticas finais permitiram identificar regiões cerebrais com diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substâncias cinzenta e branca (isto é, com valor $p < 0,001$). Essas regiões foram associadas às diferentes áreas de Brodmann correspondentes (descritas no Apêndice A) de forma a analisar e discutir os resultados obtidos.

5.1.2.1. Teste “*Two-sample t-test*” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndrome versus controlo e síndromes versus controlo

Como descrito no capítulo anterior deste trabalho, o teste “*Two-sample t-test*” foi aplicado, numa primeira fase, com o objetivo a efetuar a comparação síndrome versus controlo (comparação de cada um dos grupos de síndrome com o grupo controlo) e

síndromes versus controlo (comparação de todos os grupos síndromes com o grupo controlo).

Estas comparações permitiram obter as regiões cerebrais onde se observam diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância cinzenta e substância branca entre o grupo de cada síndrome e o grupo de controlos saudáveis (de forma individual) e onde se verificam diferenças estatisticamente significativas comuns de volume médio entre todas as síndromes comparadas com o grupo de controlos saudáveis.

Os resultados das comparações efetuadas encontram-se na **Tabela 5.1** e na **Tabela 5.2**, abaixo representadas.

Tabela 5.1: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, controlo, AMS, DCL, DCB e todas as síndromes. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “ <i>Two-sample t-test</i> ” – Resultados da análise da substância cinzenta			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
DP < Controlo			
	37 -56 65	4,29	Right-BA7
	-21 -2 -46	4,15	Left-BA38
3,33	10 6 -36	4,08	OdBas
	18 21 -41	3,66	OdBas
	-50 -38 58	3,64	Left-PrimSensory (1)
DP > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
AMS < Controlo			
3,61	0 -27 -15	5,08	OdBas
	-49 -39 -12	4,77	Left-Fusiform (37)
AMS > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
DCL < Controlo			
3,65	16 -33 -27	8,61	OdBas

Teste “Two-sample t-test” – Resultados da análise da substância cinzenta			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
	24 13 -33	8,58	Right-BA38
	-12 -40 -3	8,46	Left-Parahip (36)
	-37 21 54	5,05	Left-BA8
	-44 -32 60	4,71	Left-PrimSensory (1)
	-34 -28 70	4,00	Left-PrimMotor (4)
	-39 -18 67	3,84	Left-BA6
	10 -22 56	4,62	Right-BA6
	10 -9 51	3,84	Right-BA6
	34 -82 9	4,42	Right-BA19
	25 -70 30	4,01	Right-BA19
	32 -76 26	3,96	Right-BA39
	-39 -4 62	4,36	Left-BA6
	60 -57 -3	3,95	Right-Fusiform (37)
	33 -40 72	3,85	Right-PrimSensory (1)
	33 -42 63	3,76	Right-PrimSensory (1)
DCL > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
DCB < Controlo			
	-8 10 50	9,73	Left-BA6
3,65	24 -88 -11	9,53	Right-VisualAssoc (18)
	18 6 -29	9,09	Right-Parahip (36)
DCB > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
Síndromes < Controlos			
	42 -56 63	4,07	Right-BA7
	45 -30 -20	3,68	Right-BA20
3,24	6 -36 -3	3,35	Right-Parahip (36)
	-54 9 46	3,65	Left-BA6
	-52 -34 58	3,63	Left-PrimSensory (1)
Síndromes > Controlos			
Nenhum cluster encontrado			

Tabela 5.2: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, controle, AMS, DCL, DCB e todas as síndromes. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “<i>Two-sample t-test</i>” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
DP < Controle			
Nenhum cluster encontrado			
DP > Controle			
Nenhum cluster encontrado			
AMS < Controle			
Nenhum cluster encontrado			
AMS > Controle			
Nenhum cluster encontrado			
DCL < Controle			
3,65	-8 44 0	6,67	Right-BA32
	-8 44 -9	5,65	Left-BA10
	59 -46 -10	5,58	Right-Fusiform (37)
	51 -9 -36	5,27	Right-BA20
	58 -14 -27	3,89	Right-BA21
	30 18 39	5,27	Right-BA8
	46 18 44	4,20	Right-BA8
	21 -75 25	5,20	Right-BA19
	16 -84 18	4,88	Right-VisualAssoc (18)
	9 -66 22	4,21	Right-BA31
	-6 20 38	4,82	Left-BA32
	-46 -10 -34	4,65	Left-BA20
	-33 6 -35	4,28	Left-BA38
	-48 3 -33	4,20	Left-BA38
	12 18 60	4,61	Right-BA6
-36 20 22	4,42	Left-BA44	

Teste “Two-sample t-test” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
	-28 24 31	3,91	Left-BA9
	-20 -15 -27	4,41	Left-Parahip (36)
	-4 -38 -52	4,34	OdBas
	-14 14 59	4,33	Left-BA6
	34 -6 52	4,32	Right-BA6
	48 -6 55	4,15	Right-BA6
	40 4 -36	4,29	Right-BA38
	-15 -78 14	4,00	Left-PrimVisual (17)
	34 38 -18	3,93	Right-BA47
	29 30 -15	3,90	Right-BA47
	-29 -51 -38	3,87	OdBas
DCL > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
DCB < Controlo			
	9 44 -3	6,25	Right-BA10
	-2 39 8	4,07	Left-BA24
	-4 32 20	3,83	Left-BA24
	-32 10 30	5,12	Left-BA8
	4 -40 -69	4,81	OdBas
	-4 56 -9	4,78	Left-BA10
3,65	32 21 40	4,59	Right-BA8
	30 10 34	3,89	Right-BA8
	-36 18 3	4,55	Left-Insula (13)
	-40 15 10	4,14	Left-BA44
	-48 9 -36	4,19	Left-BA38
	33 12 -36	4,12	Right-BA38
	-45 -9 -24	3,96	Left-BA21
	-30 9 -33	3,83	Left-BA38
DCB > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			
Síndromes < Controlo			
Nenhum cluster encontrado			

Teste “ <i>Two-sample t-test</i> ” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
Síndromes > Controlo			
Nenhum cluster encontrado			

Nas **Figuras 5.3 a 5.7** podem ser visualizadas as regiões com diferenças significativas para as comparações realizadas.

- **DP versus Controlo:**

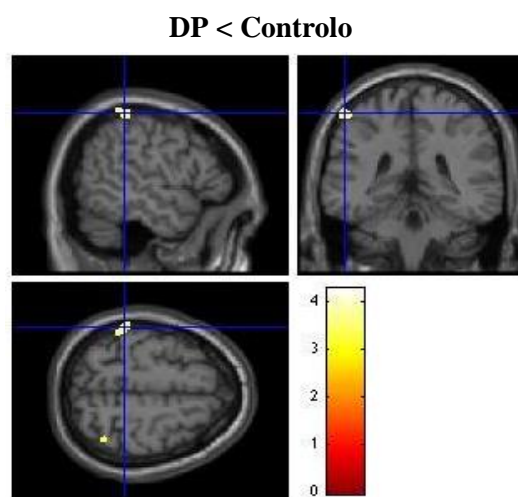


Figura 5.3: Imagem estatística t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DP < controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos DP e controlo.

Foram encontradas regiões onde o volume médio de substância cinzenta no cérebro de doentes com DP é inferior ao valor de volume médio de substância cinzenta no cérebro de indivíduos saudáveis (**Figura 5.3**).

As regiões onde se observam essas diferenças correspondem ao giro pós-central (lado esquerdo da área 1), córtex associativo somatossensorial (lado direito da área 7) e à área temporopolar (lado esquerdo da área 38). Existem ainda regiões com diferenças significativas de volume de substância cinzenta que não se encontram definidas no espaço das áreas de Brodmann, podendo ser associadas a ruídos ou erros de normalização ou segmentação originados pelas etapas de pré-processamento das imagens. Portanto, foi

constatada, uma atrofia bilateral do lobo parietal e do lado esquerdo do lobo temporal nos doentes com DP em relação aos controlos.

Em relação à substância branca, não foi observada nenhuma diferença estatisticamente significativa de volume médio no estudo realizado.

- **AMS versus Controlo:**

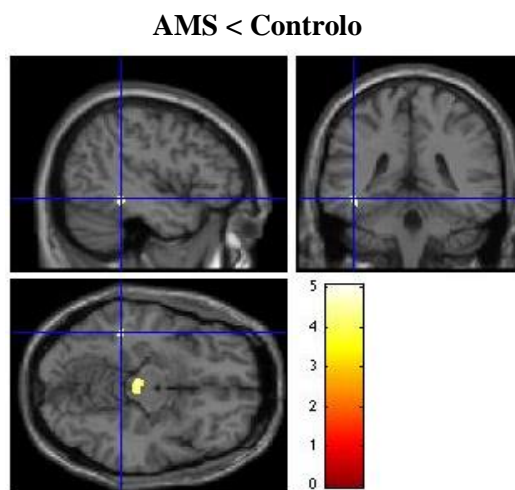


Figura 5.4: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste AMS < Controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos AMS e controlo.

Foram observadas regiões de menor volume médio de substância cinzenta em doentes com AMS (**Figura 5.4**), sendo uma dessas regiões a área de Brodmann 37 (lado esquerdo). A outra região destacada é mais uma vez definida como ObBas (do inglês *Outside Defined Brodmann Areas*). Tendo em conta a sua posição relativa, essa região corresponde ao mesencéfalo, observando-se, portanto, uma atrofia do tronco cerebral.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de volume cerebral de substância branca.

- **DCL versus Controlo:**

Observando os resultados da comparação de substância cinzenta, foi constatado que existem regiões em que o volume cerebral médio dos doentes com DCL é menor em relação aos controlos, de forma significativa (**Figura 5.5 (a)**). As regiões afetadas

correspondem ao giro pós-central (bilateral) e pré-central (lado esquerdo), córtex pré-motor (bilateral), campo ocular frontal (lado esquerdo), córtex visual associativo (lado direito), aos giros parahipocampal (lado esquerdo) e angular (lado direito) e à área temporopolar (lado direito), destacando-se uma atrofia bilateral dos lobos frontal, temporal, parietal e uma atrofia do lado direito do lobo occipital nos doentes com DCL. Foram ainda identificadas atrofia em regiões correspondentes ao cerebelo e ao diencéfalo, nos doentes com DCL.

Relativamente à substância branca, foram também observadas regiões onde o volume cerebral médio dos doentes com DCL é menor que o volume cerebral médio dos indivíduos controlo (**Figura 5.5 (b)**). As regiões de menor volume de substância branca encontram-se distribuídas pelo cérebro, afetando os lobos frontal, temporal e occipital. A análise da **Figura 5.5 (b)** permitiu ainda identificar uma atrofia do tronco cerebral, mais precisamente do bulbo raquidiano, e do cerebelo.

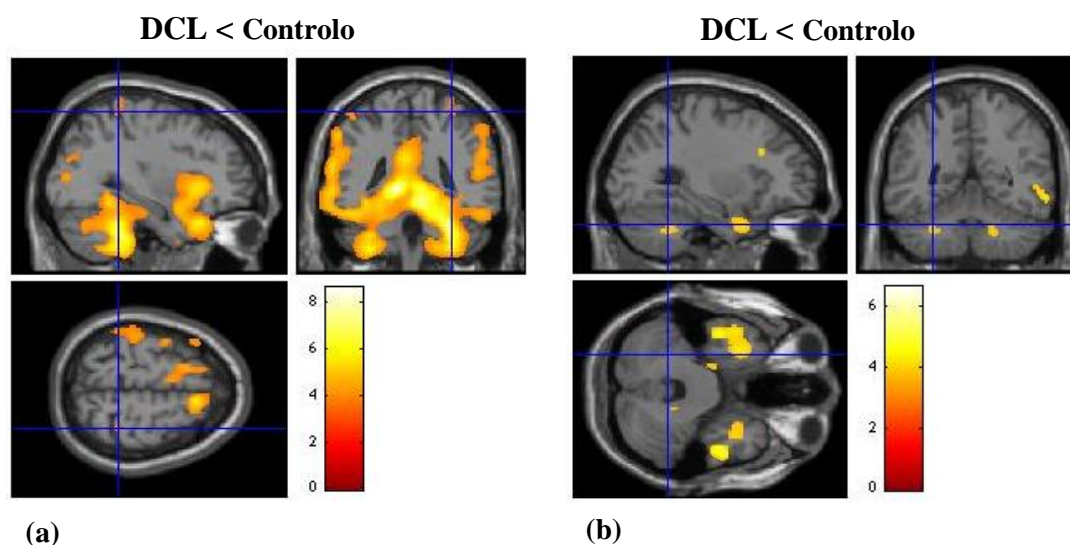


Figura 5.5: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DCL < Controlo nas imagens de substância cinzenta (a) e nas imagens de substância branca (b), para os grupos DCL e controlo.

- **DCB versus Controlo:**

Foram observadas regiões de menor volume cerebral médio de substância cinzenta em doentes com DCB em relação aos indivíduos saudáveis (**Figura 5.6 (a)**). As regiões cerebrais com diferenças estatisticamente significativas estão situadas nas áreas de

Brodmann 6 (lado esquerdo), 18 (lado direito) e 36 (lado direito), correspondendo ao córtex pré-motor, ao córtex visual secundário e ao giro parahipocampal. Desta forma, foi constatada uma atrofia dos lobos frontal, occipital e temporal nos cérebros dos doentes com DCB. Foi ainda identificada uma atrofia correspondente ao diencéfalo nos doentes com DCB.

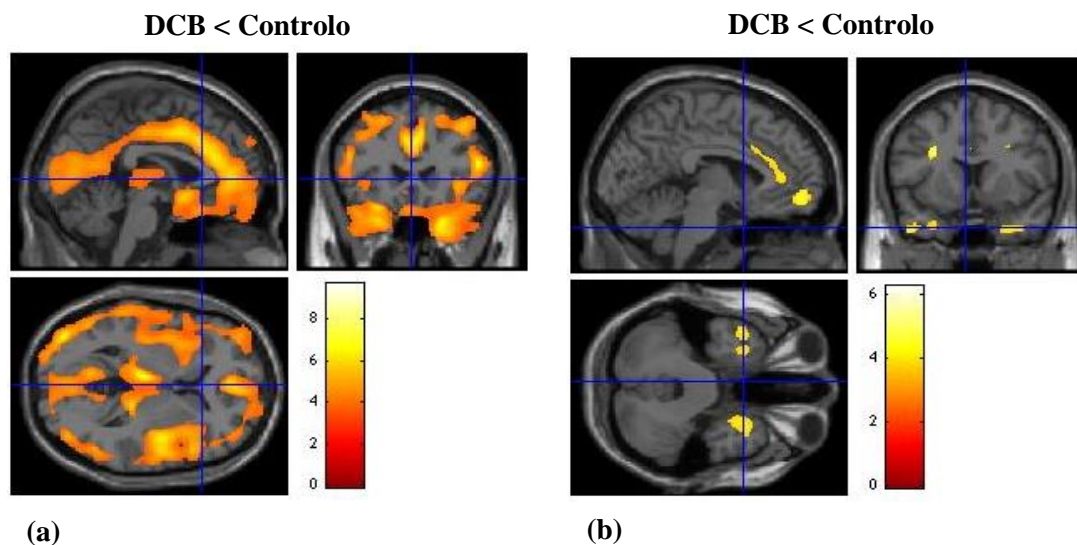


Figura 5.6: Imagens estatísticas *t* obtidas após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DCB < Controlo nas imagens de substância cinzenta **(a)** e nas imagens de substância branca **(b)**, para os grupos DCB e controlo.

No caso da comparação dos grupos relativamente à substância branca foi observado que os doentes com DCB apresentavam regiões cerebrais com menor volume médio (**Figura 5.6 (b)**). As áreas de Brodmann com diferenças estatisticamente significativas são a 8 (bilateral), 10 (bilateral), 13 (lado esquerdo), 21 (lado esquerdo), 24 (lado esquerdo), 38 (bilateral) e 44 (lado esquerdo), correspondentes, ao campo ocular frontal, córtex da ínsula, giro temporal médio, área temporopolar, córtex do cíngulo e lobo frontal.

- **Síndromes versus Controlo:**

Foi notada uma perda de substância cinzenta, nos dentes com síndromes, nas áreas 1 (lado esquerdo), 6 (lado esquerdo), 7 (lado direito), 20 (lado direito) e 36 (lado direito) correspondentes ao giro pós-central, córtex pré-motor, córtex somatossensorial

associativo, giro temporal inferior e giro parahipocampal (**Figura 5.7**), respetivamente. Assim, foi observada uma atrofia bilateral do lobo parietal, uma atrofia do lado esquerdo do lobo frontal e outra do lado direito do lobo temporal.

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância branca.

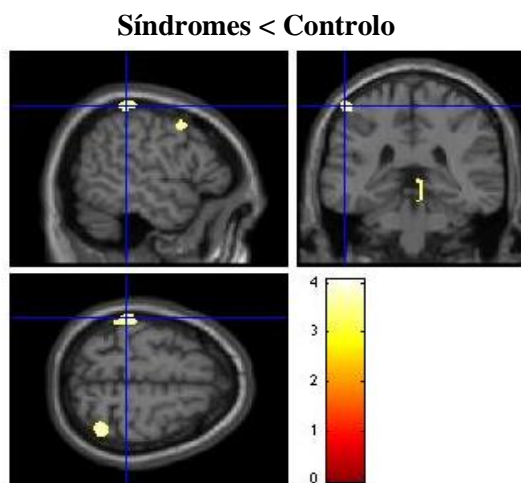


Figura 5.7: Imagens estatísticas t obtidas após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste Síndromes < Controlo nas imagens de substância cinzenta, para os grupos síndromes (DP, DCB, DCL e AMS) e controlo.

5.1.2.2. Teste “*One-way ANOVA*” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndromes versus síndromes

A aplicação deste teste estatístico paramétrico teve por objetivo avaliar as diferenças entre os quatro grupos de síndromes em estudo (DP, AMS, DCL e DCB).

A “*One-way ANOVA*” devolveu imagens estatísticas F da substância cinzenta e da substância branca (**Figura 5.8 (a) e (b)**), nas quais podem ser observadas diferenças estatisticamente significativas de volumes entre os grupos em estudo. Os resultados encontram-se na **Tabela 5.3** e na **Tabela 5.4**.

Relativamente às diferenças de volume médio de substância cinzenta, foi observado que os diferentes grupos em comparação apresentavam diferenças significativas nas regiões situadas nas áreas de Brodmann 6 (lado esquerdo), 7 (lado esquerdo), 8

(bilateral) , 10 (lado direito), 18 (lado direito), 19 (lado direito), 20 (lado direito), 22 (lado direito), 31 (lado esquerdo), 39 (lado esquerdo), 40 (lado direito), 41 (lado direito), 45 (lado direito), 50 (lado direito) e 53 (bilateral).

Foram, portanto, observadas diferenças bilaterais nos lobos frontal e parietal, no lado direito dos lobos temporal e occipital e ainda no sistema límbico entre todas as síndromes em estudo.

Foram também observadas diferenças de volume médio de substância branca nas áreas de Brodmann 7, 8, 18, 21, 22, 24, 36, 38 e 39 correspondentes ao córtex somatossensorial, campo ocular, córtex visual secundário, giro temporal (que constitui parte da área de Wernicke), córtex do cíngulo (responsável por funções autónomas) e giro angular.

Tabela 5.3: Resultados da análise estatística “*One-way ANOVA*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold F*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor F associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; Odbas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “ <i>One-way ANOVA</i> ” – Resultados da análise da substância cinzenta			
Threshold F	MNI	Valor F	Área de Brodmann
	16 -32 3	16,99	Right-Thalamus (50)
	-14 -32 2	15,98	Right-Thalamus (50)
	-27 2 -24	15,06	Left-Amygdala (53)
	-6 10 45	16,39	Left-BA6
	-8 -3 46	15,37	Left-BA6
	-6 22 38	14,92	Left-BA8
6,53	56 -39 -21	10,15	Right-BA20
	-44 -62 33	9,45	Left-BA39
	-10 -59 72	9,35	Left-BA7
	52 -6 -6	9,13	Right-BA22
	63 -14 8	9,08	Right-PrimAuditory (41)
	42 -29 18	8,37	Right-BA40
	38 -84 12	8,65	Right-BA19

Teste “One-way ANOVA” – Resultados da análise da substância cinzenta			
Threshold F	MNI	Valor F	Área de Brodmann
	36 30 4	8,49	Right-BA45
	8 -59 12	8,28	Right-VisualAssoc (18)
	-4 -62 27	7,14	Left-BA31
	-12 22 59	8,22	Left-BA6
	21 4 -27	8,21	Right-Amygdala (53)
	21 21 -36	7,46	OdBas
	22 64 -14	8,20	Right-BA10
	16 38 50	7,94	Right-BA8

Tabela 5.4: Resultados da análise estatística “One-way ANOVA” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold F*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor F associado e ainda da Área de Brodmann e respectiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “One-way ANOVA” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold F	MNI	Valor F	Área de Brodmann
	-46 -9 -16	12,09	Left-BA22
	-42 2 -21	9,70	Left-BA38
	-21 -33 -6	8,97	Left-Parahip (36)
	-3 -9 33	9,63	Left-BA24
	9 15 41	9,63	Right-BA8
	-27 -15 32	8,90	OdBas
6,53	9 -82 16	9,59	Right-VisualAssoc (18)
	-4 29 18	8,87	Left-BA24
	-29 -62 30	8,73	Left-BA39
	-39 -56 16	8,18	Left-BA39
	-9 -75 56	8,43	Left-BA7
	27 16 38	8,29	Right-BA8
	56 -32 -4	7,00	Right-BA21

Teste “ <i>One-way ANOVA</i> ” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold F	MNI	Valor F	Área de Brodmann
	46 -32 -7	6,87	Right-BA21

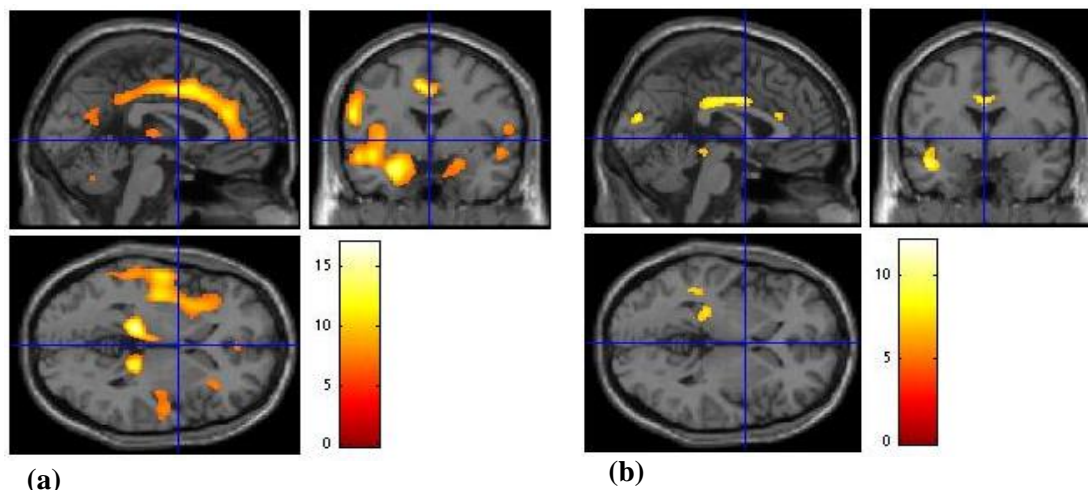


Figura 5.8: Imagens estatísticas F obtidas após aplicação do modelo estatístico “*One-way ANOVA*”, considerando o contraste F nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b).

5.1.2.3. Teste “*Two-sample t-test*” – Análise das imagens estatísticas: comparação síndrome versus síndrome

A comparação síndrome versus síndrome foi realizada recorrendo ao teste estatístico *t-student*, como referido no capítulo anterior. A aplicação deste teste teve como objetivo a identificação de padrões diferenciais de volumes de substância cinzenta e branca característicos dos quatro grupos de doenças em estudo para posterior classificação de doentes.

O SPM12 permitiu a aplicação do teste estatístico paramétrico comparando os quatro grupos de síndromes (DP, AMS, DCL e DCB) entre si, obtendo-se dessa forma, as áreas de Brodmann onde se verificam diferenças estatisticamente significativas (representadas na **Tabela 5.5** e **Tabela 5.6**).

Tabela 5.5: Resultados da análise estatística “*Two-sample t-test*” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância cinzenta para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de vóxeis igual a 100. Encontram-

se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T associado e ainda da Área de Brodmann e respectiva região correspondente. BA, *Brodman Area*; Odbas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “Two-sample t-test” – Resultados da análise da substância cinzenta			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
DP < AMS			
3,38	-10 -4 -42	3,89	Odbas
DP > AMS			
Nenhum cluster encontrado			
DP < DCL			
Nenhum cluster encontrado			
DP > DCL			
3,40	-14 -32 2	6,31	Left-Thalamus (50)
	15 -32 2	6,20	Right-Thalamus (50)
	21 -40 -24	6,20	Odbas
	-9 22 39	5,37	Left-BA8
	-8 36 34	4,83	Left-BA8
	-8 42 27	4,68	Left-BA9
	12 22 64	4,70	Right-BA6
	36 32 2	4,60	Right-BA45
	33 9 5	3,84	Right-Insula (13)
	45 21 8	3,43	Right-BA45
	32 -75 29	4,43	Right-BA39
	-14 24 59	4,35	Left-BA6
22 0 -18	4,05	Right-Amygdala (53)	
46 -66 10	3,74	Right-BA19	
DP < DCB			
Nenhum cluster encontrado			
DP > DCB			
3,40	-8 -4 46	7,05	Left-BA24
	-6 8 44	7,01	Left-BA6
	-2 36 21	4,82	Left-BA32
	18 -29 3	6,50	Right-Thalamus (50)

-27 2 -24	6,09	Left-Amygdala (53)
-16 -33 0	5,86	Left-Thalamus (50)
60 -3 10	5,64	Right-PrimMotor (4)
42 -9 -2	4,54	Right-Insula (13)
60 -21 39	4,32	Right-BA40
42 -81 6	5,02	Right-BA19
56 -58 4	4,90	Right-Fusiform (37)
27 -86 -21	4,35	OdBas
-10 -59 72	4,82	Left-BA7
14 -63 72	4,01	Right-BA7
59 -44 -20	4,72	Right-Fusiform (37)
8 -62 15	4,35	Right-VisualAssoc (18)
-3 -62 14	3,79	Left-BA31
-10 -68 12	3,72	Left-PrimVisual (17)
12 40 50	4,23	Right-BA8
15 46 42	3,84	Right-BA9
36 12 -14	4,22	Right-Insula (13)
-27 -52 42	4,09	Left-BA7
-40 -55 39	3,45	Left-BA39
-18 21 54	4,08	Left-BA6
-36 34 32	4,05	Left-BA9
-40 27 36	3,89	Left-BA9
39 50 18	4,02	Right-BA10

AMS < DCL

Nenhum cluster encontrado

		AMS > DCL
	-48 -8 4	5,41 Left-BA6
4,02	-45 4 -15	5,30 Left-BA38
	-59 -20 12	4,77 Left-BA40
	-70 -32 -9	4,87 Left-BA21

AMS < DCB

Nenhum cluster encontrado

AMS > DCB

Diagnóstico diferencial de síndromes parkinsonianas com base em dados de imagem de ressonância magnética

	-3 -14 6	7,08	Left-Thalamus (50)
	16 -27 8	5,56	Right-Thalamus (50)
	0 24 31	6,65	Right-BA32
	-3 4 42	6,51	Left-BA24
	2 46 11	4,27	Right-BA10
	-36 32 39	6,32	Left-BA9
	20 64 -10	6,03	Right-BA10
	24 63 -3	5,77	Right-BA10
	45 52 -14	4,95	Right-BA10
	-51 -40 -30	5,57	Left-Fusiform (37)
	-26 -100 4	5,52	Left-VisualAssoc (18)
4,02	-22 -99 -15	5,18	Left-VisualAssoc (18)
	-15 -102 -8	5,14	Left-VisualAssoc (18)
	12 -4 -29	5,39	OdBas
	-14 -10 -32	5,36	OdBas
	-38 38 -16	5,04	Left-BA47
	-26 24 -24	4,81	Left-BA47
	-33 27 -21	4,47	Left-BA47
	-62 -21 8	4,97	Left-PrimAuditory (41)
	42 -86 -4	4,94	Right-VisualAssoc (18)
	-20 62 16	4,71	Left-BA10
	24 34 -24	4,57	Right-BA11
	-48 -82 24	4,45	OdBas
DCL < DCB			
4,14	27 -42 -30	5,94	OdBas
	24 -38 -38	5,78	OdBas
DCL > DCB			
4,14	-18 12 24	6,01	OdBas
	-20 2 27	5,77	OdBas

Tabela 5.6: Resultados da análise estatística “Two-sample t-test” aplicada aos grupos DP, AMS, DCL e DCB. Representação das regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume de substância branca para um valor de $p < 0,001$ (não corrigido) e *threshold* de véxeis igual a 100. Encontram-se representados os valores de *Threshold T*, das coordenadas no espaço MNI (x,y e z em mm), do Valor T

associado e ainda da Área de Brodmann e respetiva região correspondente. BA, *Brodmann Area*; OdBas, *Outside defined Brodmann Areas*.

Teste “Two-sample t-test” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
DP < AMS			
Nenhum cluster encontrado			
DP > AMS			
Nenhum cluster encontrado			
DP < DCL			
Nenhum cluster encontrado			
DP > DCL			
	0 -85 16	5,22	Right-VisualAssoc (18)
	21 -74 20	5,00	OdBas
	12 -66 21	4,77	Right-BA31
	51 -56 8	5,05	Right-Fusiform (37)
	-34 -32 44	5,01	Left-PrimSensory (1)
	-32 -21 51	4,84	Left-PrimMotor (4)
	-6 -33 -9	4,70	OdBas
3,40	26 16 37	4,62	Right-BA8
	12 20 36	3,87	Right-BA8
	16 2 60	4,23	Right-BA6
	20 -62 -4	4,01	Right-BA19
	18 -80 -4	3,91	Right-VisualAssoc (18)
	33 -81 -8	3,81	Right-BA19
	14 20 62	3,91	Right-BA6
	3 -29 33	3,58	Right-BA23
DP < DCB			
Nenhum cluster encontrado			
DP > DCB			
	-46 -9 -16	5,41	Left-BA22
	-29 10 28	5,39	OdBas
3,40	-3 -16 33	5,33	Left-BA23
	54 -44 15	4,21	Right-BA39

Teste “Two-sample t-test” – Resultados da análise da substância branca			
Threshold T	MNI	Valor T	Área de Brodmann
	46 -59 21	4,10	Right-BA39
	-15 -52 62	4,01	Left-BA7
	-36 44 15	3,99	Left-BA10
	54 18 12	3,94	Right-BA44
	2 -59 57	3,85	Right-BA7
	-51 -40 45	3,77	Left-BA40
	38 14 -17	3,71	Right-Insula (13)
	40 4 -16	3,61	Right-Insula (13)
	30 15 -32	3,52	Right-BA38
	26 57 -8	3,68	Right-BA10
AMS < DCL			
Nenhum cluster encontrado			
AMS > DCL			
4,02	-4 -72 51	5,27	Left-BA7
AMS < DCB			
Nenhum cluster encontrado			
AMS > DCB			
4,02	-45 -20 -22	4,81	Left-BA20
	-8 32 15	4,63	Left-BA24
DCL < DCB			
Nenhum cluster encontrado			
DCL > DCB			
Nenhum cluster encontrado			

- **DP versus AMS:**

O **SPM12** possibilitou a observação de uma diminuição de volume médio de substância cinzenta nos doentes com DP em relação aos doentes com AMS (**Figura 5.9**). No entanto, a região correspondente à diminuição de volume observada não se encontra definida nas áreas de Brodmann podendo estar associada a ruídos ou erros de segmentação ou normalização resultantes do pré-processamento das imagens.

Não foram observadas nenhuma diferença estatisticamente significativas de volume médio de substância branca.

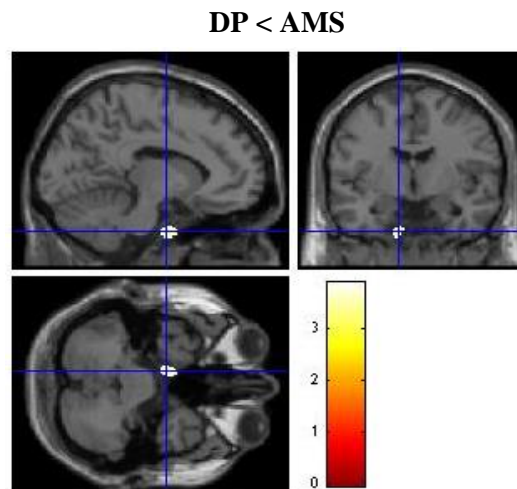


Figura 5.9: Imagem estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DP < AMS nas imagens de substância cinzenta, para os grupos DP e AMS.

- **DP versus DCL:**

Foram encontradas regiões com aumento significativo de volume médio de substância cinzenta em doentes com DP (**Figura 5.10 (a)**). Essas regiões encontram-se nas áreas de Brodmann 6, 8, 9, 13, 19, 39, 45, 50 e 53 e estão associadas ao córtex pré-motor (bilateral), lado esquerdo do campo ocular frontal, lado esquerdo do córtex pré-frontal, lado direito do córtex insular, lado direito do córtex visual associativo, lado direito do giro angular, lado direito da *pars triangularis* (que constitui parte da área de Broca), ao tálamo (bilateral) e às amígdalas (lado direito). Desta forma, foi observada uma atrofia bilateral do lobo frontal, do lado direito dos lobos occipital, parietal e da ínsula e ainda do sistema límbico em doentes com DCL em relação aos doentes com DP. Foi também identificada uma atrofia associada ao diencéfalo nos doentes com DCL.

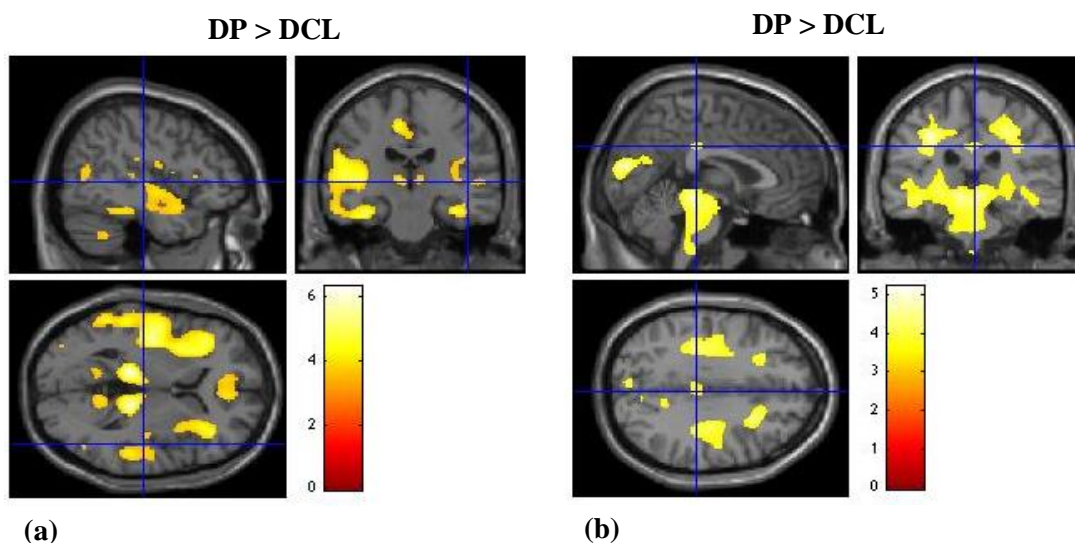


Figura 5.10: Imagens estatísticas *t* obtidas após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DP > DCL nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos DP e DCL.

Relativamente à substância branca, o grupo de doentes com DP demonstrou um aumento de volume médio em diversas regiões do cérebro em comparação com os doentes com DCL (**Figura 5.10 (b)**). Foram notadas diferenças no córtex somatossensorial primário, córtex motor primário, córtex pré-motor, córtex visual secundário, córtex visual associativo, córtex do cíngulo e giro fusiforme associadas aos lobos parietal, frontal, occipital e temporal. A análise da **Figura 5.10 (b)** possibilitou ainda a identificação de uma atrofia associada ao diencéfalo e mesencéfalo nos doentes com DCL em relação aos doentes com DP.

- **DP versus DCB:**

Observaram-se diferenças significativas de substância cinzenta na comparação efetuada. De facto, verificou-se que existem regiões nos cérebros dos doentes diagnosticados com DP com maior volume médio de substância cinzenta em relação aos doentes diagnosticados com DCB (**Figura 5.11 (a)**). Essas diferenças encontram-se distribuídas pelas áreas de Brodmann 4, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 17, 18, 19, 24, 31, 32, 37, 40, 50 e 53 destacando-se uma atrofia bilateral dos lobos parietal, frontal, da ínsula e do sistema límbico, maioritariamente.

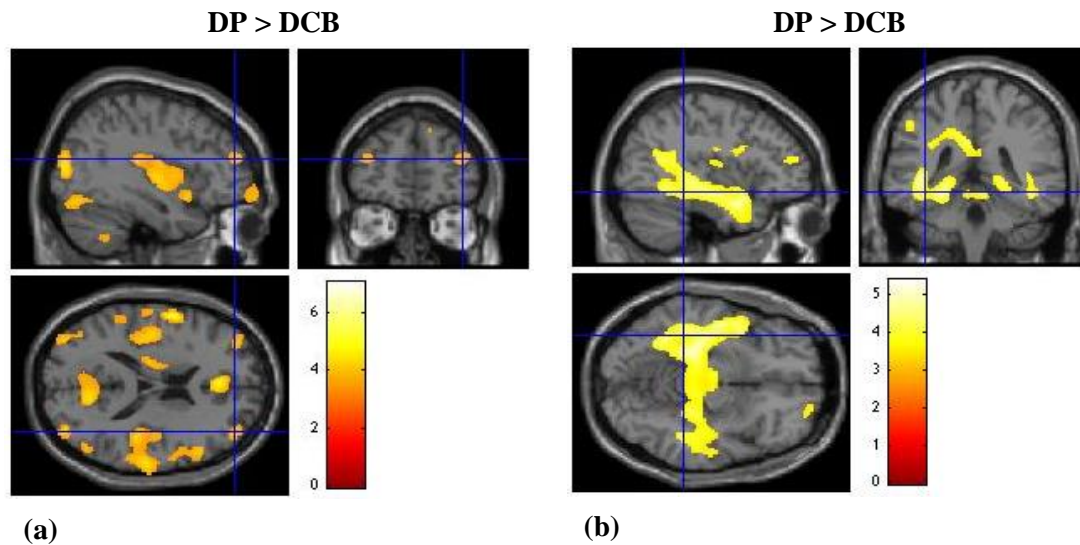


Figura 5.11: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DP > DCB nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos DP e DCB.

Os doentes com DP apresentam também maior volume médio de substância branca nas áreas 7, 10, 13, 22, 23, 38, 39, 40 e 44 (**Figura 5.11 (b)**) correspondentes aos lobos parietal, temporal, frontal e da ínsula.

- **AMS versus DCL:**

Foram observadas regiões com maior volume médio de substância cinzenta em cérebros de doentes com AMS relativamente aos doentes com DCL (**Figura 5.12 (a)**). Essas regiões correspondem ao córtex pré-motor, giro temporal médio, área temporopolar e giro supramarginal, verificando-se uma atrofia do lado esquerdo dos lobos temporal, frontal e parietal nos doentes com DCL.

Relativamente ao volume médio de substância branca, verificou-se um aumento significativo na área de Brodmann 7 (correspondente ao córtex associativo somatossensorial) dos doentes com AMS em relação aos doentes com DCL (**Figura 5.12 (b)**).

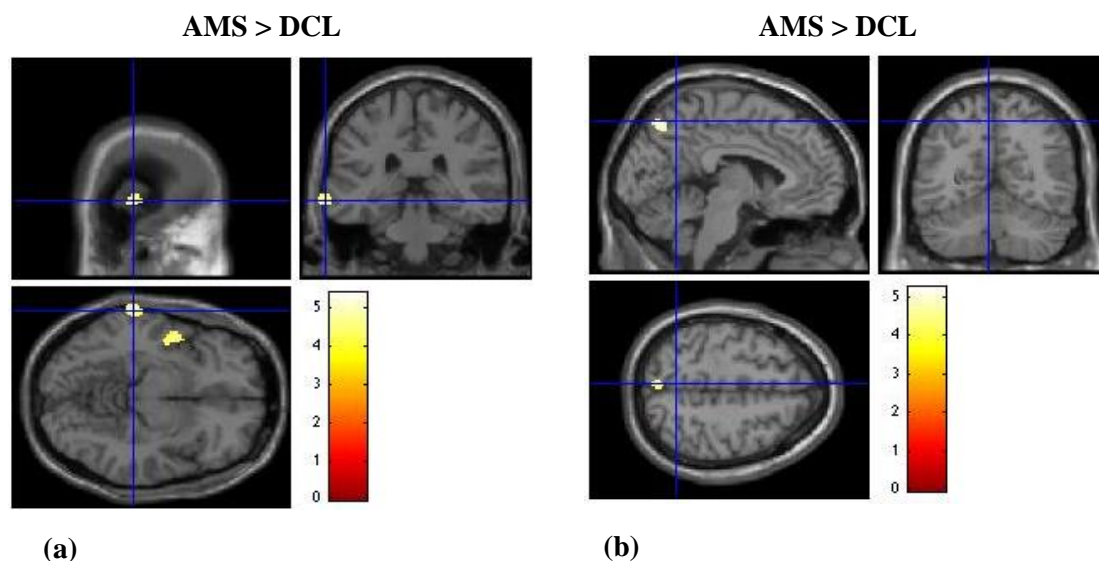


Figura 5.12: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste AMS > DCL nas imagens de substância cinzenta **(a)** e de substância branca **(b)**, para os grupos AMS e DCL.

- **AMS versus DCB:**

Foram observadas diferenças de volume significativas na comparação entre as imagens cerebrais dos doentes com AMS e imagens cerebrais dos doentes com DCB.

Os cérebros dos doentes com AMS apresentam maior volume médio de substância cinzenta no córtex pré-frontal dorsolateral, córtex visual primário, giro parahipocampal, giro do cíngulo, giro fusiforme, córtex auditivo primário, córtex associativo pré-frontal e no tálamo (**Figura 5.13 (a)**), sendo essas regiões associadas aos lobos frontal, temporal e occipital e ao sistema límbico.

Foi também observado um aumento de volume médio de substância branca nas áreas de Brodmann 20 e 24 dos doentes com AMS (**Figura 5.13 (b)**) correspondentes ao giro temporal inferior e ao córtex do cíngulo.

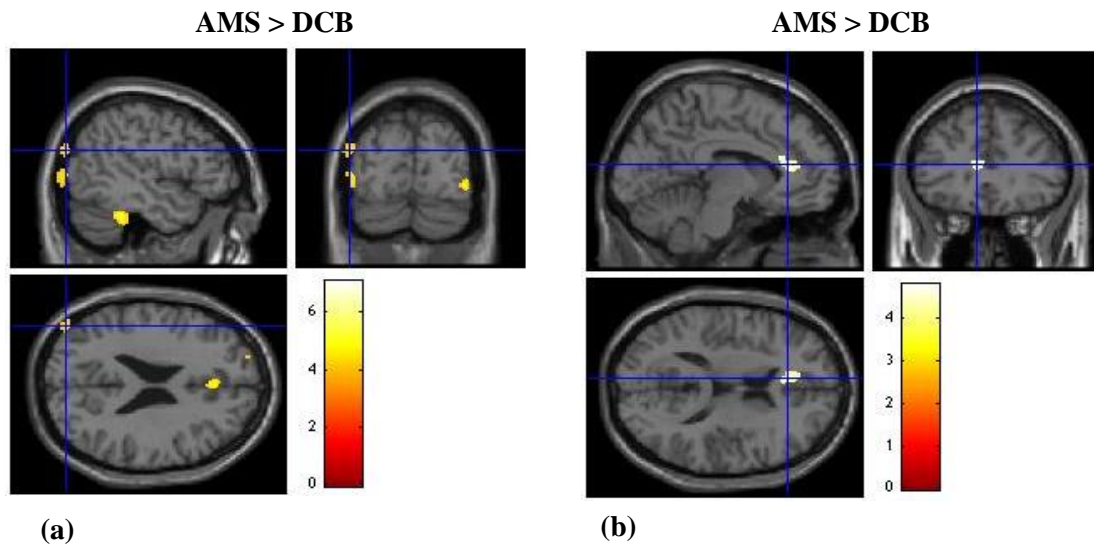


Figura 5.13: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste AMS > DCB nas imagens de substância cinzenta (a) e de substância branca (b), para os grupos AMS e DCB.

- **DCL versus DCB:**

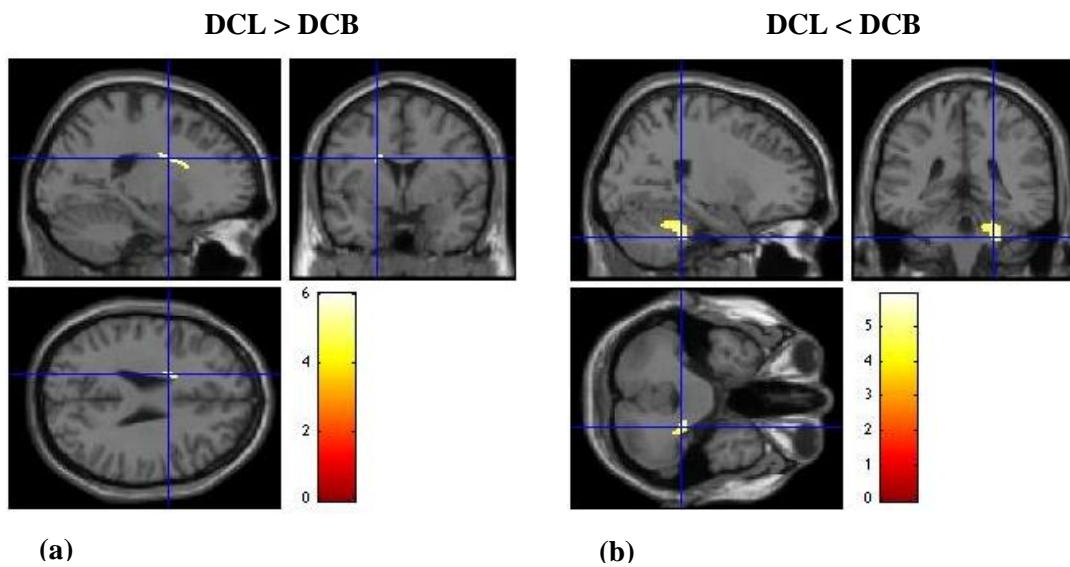


Figura 5.14: Imagens estatísticas t obtida após aplicação do modelo estatístico “*Two-sample t-test*”, considerando o contraste DCL > DCB (a) e o contraste DCL < DCB (b), nas imagens de substância cinzenta para os grupos DCL e DCB.

Relativamente às diferenças de volume médio de substância cinzenta, foram observadas regiões com diferenças estatisticamente significativas correspondentes a áreas não definidas no espaço de Brodmann (**Figura 5.14 (a) e (b)**). No entanto, observando **Figura 5.14 (b)** foi possível identificar uma atrofia do cerebelo em doentes com DCL, relativamente aos doentes com DCB.

Não foram encontradas diferenças significativas de volume médio de substância branca na comparação entre doentes com DCL e doentes com DCB.

5.2. Análise da classificação com o SVM e LIBSVM

A criação de classificadores recorrendo às bibliotecas SVM e LIBSVM do *software Matlab R2015b* permitiu classificar individualmente os indivíduos, recorrendo às *features* (neste caso, aos volumes normalizados de substância cinzenta das ROI) retiradas das imagens de ressonância magnética segmentadas após a aplicação de diferentes máscaras (referidas no Capítulo 4).

Segue-se uma análise dos valores obtidos após avaliação da *performance* dos classificadores binário e multiclasse.

5.2.1. Avaliação dos classificadores

Foi efetuada a classificação com os dados originais dos diferentes grupos representados na **Tabela 5.7**, tendo sido obtidos diferentes valores de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada para cada classificação binária e um valor de precisão para a classificação multiclasse em estudo

Relativamente à classificação à sorte, foram obtidos os valores de média de precisão balanceada para a classificação binária e o valor de média de precisão para a classificação multiclasse.

A **Tabela 5.7** permite ainda observar quais são as classificações estatisticamente significativas, resultantes da aplicação do teste *t-student* para uma

amostra. É importante realçar que todas as comparações estatísticas efetuadas apresentaram valores p inferiores a 0,05.

Tabela 5.7: Resultados das classificações com os dados originais e à sorte aplicadas aos grupos DP, AMS, DCL e DCB e controlo. Representação dos valores de Sensibilidade (%), Especificidade (%), Precisão balanceada (%), Precisão (%), Média da precisão balanceada (%) e Média da precisão (%). As classificações marcadas com * são estatisticamente significativas.

Avaliação das classificações				
	Classificação com dados originais			Classificação à sorte
Classificação Binária				
Grupos	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Precisão Balanceada (%)	Média Precisão Balanceada (%)
Controlo versus DP	78,57	92,31	85,44	49,99 *
Controlo versus AMS	71,43	75,00	73,21	51,43 *
Controlo versus DCL	85,71	100,00	92,86	49,07 *
Controlo versus DCB	78,57	100,00	89,29	49,02 *
Controlo versus Síndromes	78,57	89,58	84,08	48,06 *
DP versus AMS	38,46	87,50	62,98	48,81 *
DP versus DCL	73,08	71,43	72,25	51,22 *
DP versus DCB	73,08	85,71	79,40	49,97 *
AMS versus DCL	87,50	85,71	86,61	50,00 *
AMS versus DCB	87,50	85,71	86,61	48,91 *
DCL versus DCB	28,57	42,86	35,71	50,54
Classificação Multiclasse				

Avaliação das classificações		
	Classificação com dados originais	Classificação à sorte
	Precisão (%)	Média Precisão (%)
Síndromes versus Síndromes	45,83	30,20 *

Foram observados valores de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada, contidos em intervalos de 71,43%-87,50%, 71,43%-100% e 72,25%-92,86%, respetivamente, para as classificações binárias como dados originais. Constatou-se uma exceção relativa à classificação entre os grupos de doentes com DCL e doentes com DCB, cujos valores obtidos de especificidade, sensibilidade e precisão balanceada revelam ser bastante inferiores aos restantes (28,57%, 42,86% e 35,71%, respetivamente). A classificação multiclasse com os dados originais devolveu um valor de precisão de 45,83%.

Os valores da média de precisão balanceada obtidos na classificação binária à sorte situam-se no intervalo de 48,06%-51,43%. Relativamente à classificação multiclasse à sorte, foi obtido um valor de 30,20% para a média da precisão.

Os valores de precisão balanceada e precisão foram posteriormente comparados com valores da média precisão balanceada e precisão obtidos em classificações à sorte com o objetivo de avaliar a significância estatística dos resultados obtidos, como referido no capítulo anterior. Através da **Tabela 5.7**, pode ser observado que todas as classificações binárias são estatisticamente significativas à exceção da classificação DCL versus DCB. De facto, para essa classificação, verifica-se que o valor da média de precisão balanceada obtido à sorte é superior ao valor da média de precisão balanceada obtido com os dados originais. A classificação multiclasse síndromes versus síndromes revelou ser estatisticamente significativa.

CAPÍTULO 6

DISCUSSÃO

Análise estatística paramétrica:

A análise estatística paramétrica aplicada recorrendo ao método MBV teve por objetivo detetar regiões cerebrais com diferenças significativas de volume médio de substância cinzenta e substância branca nas diferentes comparações mencionadas ao longo deste trabalho.

Como já referido, para além da correção por clusters, não foi aplicado nenhum método de correção para comparações múltiplas que possa prevenir o surgimento de falsos positivo uma vez que este estudo apresenta uma vertente meramente exploratória. Assim, poderão surgir regiões com diferenças estatisticamente significativas de volume que poderão não existir na realidade. No entanto, com o intuito de tornar a análise estatística mais conservadora foi considerado um valor de p pequeno e foram criadas duas covariáveis correspondentes à idade e ao sexo dos indivíduos em estudo.

Tendo em conta as limitações do método aplicado, o tamanho do *dataset* e o protocolo de diagnóstico estabelecido para cada um dos indivíduos em estudo, os resultados obtidos apenas poderão ser apresentados como resultados exploratórios, não permitindo que sejam considerados consistentes ou válidos sem a confirmação de estudos futuros com os mesmos métodos e objetivos.

DP versus Controlo

Estudos realizados para comparar diferenças de volume de substância cinzenta entre doentes com DP e indivíduos controlo saudáveis demonstraram uma atrofia cerebral distribuída por regiões corticais e subcorticais, incluindo o lobo frontal, lobo temporal, lobo parietal, lobo occipital e as áreas límbicas e paralímbicas, nos doentes diagnosticados com doença de Parkinson^{1,4-7}. As áreas afetadas permitem descrever os sintomas observados nos doentes com doença de Parkinson, com e sem demência.

Os resultados obtidos neste trabalho vão ao encontro dos obtidos nesses estudos, uma vez que foi observada uma atrofia bilateral do lobo parietal e uma atrofia do lado esquerdo do lobo temporal nos doentes com DP em relação aos controlos. É, no entanto, importante referir que não é possível retirar conclusões consistentes destes resultados uma vez que os estudos realizados acerca da DP, recorrendo ao método MBV, não demonstraram ainda conclusões concordantes entre si.

Um estudo conduzido por Kassubek *et al* revelou ainda um aumento de substância cinzenta no tálamo em doentes com DP com tremores em repouso ⁸³. O estudo efetuado não revelou aumentos de volume de substância cinzenta nos doentes com DP em relação aos controlos observando-se assim, uma inconsistência entre os resultados, que pode relacionar-se com a heterogeneidade dos doentes, erros de diagnóstico, e covariáveis usadas neste estudo. Para correlacionar os resultados obtidos com os sintomas clínicos observados, seria ainda necessário realizar uma análise clínica individual dos doentes com DP usados neste trabalho.

Choi *et al*, encontraram evidências, recorrendo à DTI, de que as lesões na substância branca aumentam o risco de demência em pacientes com DP ⁸⁴. Esse facto foi ainda comprovado Beyer *et al*, que observaram que os doentes com DP com demência apresentavam lesões peri ventriculares de substância branca mais graves do que os doentes com DP sem demência ⁸⁵. Por outro lado, outros estudos permitiram também observar que os doentes com DP com demência apresentavam alterações de substância branca em várias regiões cerebrais como por exemplo, o corpo caloso e os lobos temporal, occipital e frontal ⁸⁶⁻⁸⁸. Outras investigações observaram uma redução de substância branca em regiões como o cíngulo, tálamo, putâmen, córtex frontal e ainda córtex temporal nos doentes DP em relação a indivíduos controlo saudáveis ^{86,89}.

Não foram encontradas diferenças significativas de volume médio de substância branca na comparação entre doentes com DP e controlos. Os resultados obtidos neste estudo não se encontram em concordância com os resultados descritos acima, não sendo possível retirar conclusões ou realizar comparações válidas. As diferenças observadas podem relacionar-se com diferenças nas características clínicas de cada doente em estudo.

AMS versus Controlo

O estudo da substância cinzenta em doentes com AMS revelou uma atrofia do lado esquerdo do lobo temporal em relação aos indivíduos controlo saudáveis.

Segundo a literatura, os doentes com AMS apresentam sintomas como o parkinsonismo, a incontinência urinária, disfunção erétil e hipotensão, estando relacionados com disfunções do sistema nervoso autónomo responsável por controlar as ações involuntárias^{12,34}.

Estudos de neuroimagem anteriores recorreram a imagens de ressonância magnética e ao método MBV para identificar as regiões cerebrais afetadas em doentes com AMS relativamente a indivíduos controlo saudáveis. Nesses estudos, também de carácter exploratório, foi possível observar atrofia do córtex primário sensitivo-motor, do córtex pré-motor, do córtex pré-frontal (bilateral) e do córtex da ínsula (bilateral) nos doentes diagnosticados com AMS-P^{11,12}.

A área de Brodmann afetada neste estudo encontra-se relacionada com as funções de perceção, leitura e visão. Nenhum dos sintomas característicos da AMS parece ser associado à lesão da área referida. Por outro lado, a falta de concordância entre os resultados obtidos e os presentes na literatura poderá ser explicado por uma maior incidência de doentes com AMS-C do que com AMS-P no *dataset* em estudo. Esta explicação deverá, no entanto, ser alvo de estudos neuropsicológicos aprofundados dos doentes e melhorias no diagnóstico do *dataset*.

Relativamente à substância branca, não foi observada nenhuma alteração estatisticamente significativa de volume, não sendo assim possível retirar conclusões acerca da sua utilidade no diagnóstico diferencial da AMS.

DCL versus Controlo

Recorrendo à análise efetuada no Capítulo 2 do presente trabalho, é possível afirmar que os doentes com DCL apresentam geralmente sintomas relacionados com a redução da capacidade cognitiva e visual-espacial, assim como défices na capacidade verbal. Podem ainda ter alucinações visuais fortes e recorrentes, rigidez nos movimentos e alguns sintomas emotivos como a desilusão, falta de iniciativa, depressão e ansiedade.

A comparação efetuada entre os doentes com DCL e os indivíduos controlo saudáveis permitiu observar uma diminuição bilateral de volume médio de substância

cinzenta nos lobos frontal, temporal e parietal e no lado direito do lobo occipital dos doentes com DCL.

Burton *et al* usaram imagens de ressonância magnética e aplicaram a MBV para estudar padrões de atrofia cerebral em doentes com DCL. Demonstraram uma perda de substância cinzenta global e bilateral nos lobos temporal e frontal, e ainda no córtex da ínsula e no lobo parietal, na comparação com indivíduos controlo. Observaram também, uma perda de substância cinzenta regional envolvendo a ínsula, os giros temporal inferior, médio e superior e os giros frontal superior, médio e inferior. As atrofias observadas nesse estudo justificam, segundo os autores, o défice cognitivo característico dessa síndrome¹³.

Uma vez que as regiões afetadas neste estudo estão em concordância com os estudos anteriores e que se encontram relacionadas com funções associadas à visão e percepção, poderão explicar as alucinações visuais recorrentes e o défice cognitivo observados nos doentes com DCL. Seria interessante recorrer às avaliações neuropsicológicas dos doentes para correlacionar as alterações estruturais observadas e retirar conclusões acerca da sua relação com os sintomas clínicos característicos da síndrome em estudo, mas esta avaliação está fora do âmbito deste trabalho.

A análise da substância branca permitiu observar atrofias dos lobos frontal, temporal e occipital, assim como atrofias em regiões correspondentes ao tronco cerebral e ao cerebelo. Não foi encontrado nenhum estudo aplicado sob as mesmas condições e recorrendo aos mesmos métodos, com o qual possam ser comparados os resultados obtidos. É importante lembrar que o estudo é meramente exploratório, podendo estas regiões corresponder a falsos positivos.

DCB versus Controlo

É esperado que os doentes com DCB apresentem sintomas depressivos, rigidez, apraxia assimétrica, distonia, bradicinesia e tremores, observando-se também um envolvimento da atenção, concentração, função executiva, linguagem e função visual-espacial.

Estudos de neuroimagem efetuados por Josephs *et al*, em 2004 e 2008, aplicando a técnica MBV, relataram padrões de atrofia do córtex frontal posterior e córtex parietal superior nas imagens de ressonância magnética ponderadas em T1 dos doentes de DCB, na comparação com indivíduos controlo saudáveis. Foram ainda observadas perdas

de substância cinzenta em doentes de DCB nos lobos frontal superior e médio, no córtex pré-motor e no lobo temporal inferior. Os doentes com DCB demonstraram também atrofias em regiões subcorticais como o globo pálido, putâmen e núcleo caudado. As disfunções das regiões frontal e parietal têm sido relacionadas com a apraxia característica dos doentes com DCB^{9,10}.

Por outro lado, os padrões de atrofia encontrados por Josephs *et al* apresentaram simetria, o que revelou alguma surpresa uma vez que a DCB apresenta-se como uma síndrome atípica assimétrica¹⁰.

As regiões afetadas no estudo da substância cinzenta (atrofia do lado esquerdo do lobo frontal, atrofia do lado direito dos lobos occipital e temporal e atrofia do diencefalo, nos cérebros dos doentes com DCB) encontradas neste estudo coincidem com algumas das áreas afetadas nos estudos supracitados podendo explicar alguns dos sintomas associados à DCB. Constata-se também uma simetria no padrão de atrofia obtido, tal como observado no estudo efetuado por Josephs *et al*, em 2008. Uma vez que ambos os hemisférios podem ser afetados na DCB, a simetria observada poderá estar relacionada com o maior envolvimento do hemisfério direito em alguns doentes e do hemisfério esquerdo noutros doentes, deste estudo.

O estudo do volume de substância branca revelou uma atrofia dos lobos frontal e temporal, assim como do córtex da ínsula. Lesões de substância branca do lobo frontal estão implicadas na depressão observada na DP⁹⁰. Relacionando essa observação com o presente estudo, verificamos que existe uma correspondência entre as regiões cerebrais afetadas e os sintomas mais depressivos de um doente com DCB. Por outro lado, as outras regiões afetadas encontram-se associadas à linguagem e à visão, podendo estar relacionadas com os restantes sintomas não-motores da DCB.

Síndromes versus Controlo

Uma vez que não foi encontrado nenhum estudo semelhante, este trabalho demonstrou um perfil pioneiro na comparação de substância cinzenta e substância branca entre indivíduos com síndromes (DP, AMS, DCL e DCB) e indivíduos controlo saudáveis (comparação síndromes versus controlo realizada recorrendo ao teste *t-student*). Esta comparação apenas permitiu observar diferenças de volume de substância cinzenta.

Foi observada uma atrofia bilateral do lobo parietal e ainda atrofia do lado direito do lobo temporal e do lado esquerdo do lobo frontal, estando afetadas funções como o tato, planejamento motor, percepção visual-motora e reconhecimento da forma visual, memória, olfato e emoções.

Esta comparação permitiu detectar diferenças de volume gerais das síndromes em relação aos controles. De salientar que estas diferenças gerais não implicam obrigatoriamente que todos estes síndromes apresentem essas diferenças em relação aos controles. As áreas afetadas permitem explicar alguns dos sintomas verificados nas síndromes, sendo assim necessário confirmar os resultados obtidos com resultados de estudos futuros de forma a analisar robustez da análise efetuada.

Síndromes versus Síndromes

Foi ainda realizada uma comparação entre todas as síndromes (teste ANOVA) com o objetivo de detectar regiões cerebrais em que o volume médio de substância cinzenta e substância branca difere de forma significativa entre cada síndrome em estudo (DP, AMS, DCB e DCL). Através dessa análise estatística, foi notado que as síndromes apresentam, entre si, diferenças de volume de substância cinzenta nas regiões correspondentes aos lobos frontal e parietal (bilateralmente), aos lobos occipital e temporal (do lado direito) e ao sistema límbico. As áreas afetadas encontram-se associadas a funções de planejamento motor, pensamento e cognição, visão (profundidade, cor e movimento), reconhecimento da forma visual e memória, audição, leitura, olfato e emoções.

Por outro lado, observaram-se diferenças de volume médio de substância branca significativas nas áreas correspondentes aos lobos parietal, frontal e temporal.

As regiões encontradas com diferenças de volume médio de substância cinzenta e de substância branca poderão explicar alguns dos diferentes sintomas observados entre cada síndrome em estudo.

Uma vez observadas diferenças de volumes entre as síndromes, foi possível realizar a comparação entre síndromes, duas a duas, de forma a identificar regiões com diferenças de volume médio de substância cinzenta ou branca que possam explicar os sintomas observados em cada síndrome e desta forma, contribuir para o diagnóstico diferencial.

DP versus AMS

Relativamente à comparação entres doentes com DP e doentes com AMS, seria de esperar uma diminuição do volume de substância cinzenta nos doentes com AMS nas regiões correspondentes ao putâmen, núcleo caudado, córtex pré-motor, pré-frontal e insular e ainda na área suplementar motora e no córtex motor primário, segundo resultados apresentados em estudos semelhantes ^{11,14,91}. Foi ainda reportada, por Delmaire *et al*, uma diminuição de volume de substância cinzenta no córtex occipital de doentes com DP em relação aos doentes com AMS ⁹¹. Os resultados observados nesses estudos não são, no entanto, concordantes entre si, não podendo ser retirada nenhuma conclusão generalizada acerca da redução de substância cinzenta em doentes com AMS em relação a doentes com DP.

Nenhuma das diferenças referidas nos estudos supracitados foi observada nos resultados obtidos. Na realidade, a região com diferenças significativas de volume médio de substância cinzenta encontrada não se encontra definida no espaço de Brodmann. Portanto, pode ser considerado que o objetivo da comparação realizada não foi alcançado, não sendo possível identificar regiões com diferenças significativas de volume de substância cinzenta que permitem diferenciar doentes com DP e doentes com AMS.

Relativamente à substância branca, não foram observadas diferenças significativas de volume médio.

DP versus DCL

Lee *et al* observaram uma diminuição significativa de volume de substância cinzenta no lado esquerdo das áreas occipital e parietal em doentes com DCL relativamente a doentes com DP com demência ⁹². No entanto, esses resultados não são coincidentes com os resultados de um outro estudo, realizado por Beyer *et al*, no qual não foram obtidas diferenças de volume de substância cinzenta entre doentes diagnosticados com DCL e doentes com DP com demência ⁵.

Os resultados deste estudo (atrofias bilaterais dos lobos frontal, temporal e parietal, do lado direito do lobo occipital e do sistema límbico nos doentes com DCL) demonstraram alguma semelhança com os observados por Lee *et al*, embora seja notada uma oposição em relação ao lado afetado dos lobos parietal e occipital. Foi também

observada, neste estudo, uma atrofia cerebral subcortical nos doentes com DCL, que não se encontra relatada em estudos anteriores.

É ainda possível associar as diferenças encontradas na comparação DP versus DCL com as comparações de doentes com DCL versus controlos e doentes com DP versus controlos. De facto, a comparação entre doentes com DCL e indivíduos saudáveis permitiu observar uma atrofia bilateral dos lobos frontal e parietal e uma atrofia do lado direito do lobo occipital que não se observam na comparação entre doentes com DP e indivíduos saudáveis. Estas diferenças observadas nas atrofias explicam as alterações de volume verificadas na comparação DP versus DCL.

As alterações de volume médio de substância cinzenta constatadas poderão refletir alguns dos diferentes sintomas observados em cada uma das síndromes em estudo. De facto, observa-se uma maior lesão de regiões associadas à capacidade verbal, visual e cognitiva nos doentes com DCL em relação aos doentes com DP, como esperado pelo diagnóstico clínico.

A análise do volume de substância branca permitiu observar diferenças no córtex somatossensorial primário, córtex motor primário, córtex pré-motor, córtex visual secundário, córtex visual associativo, córtex do cíngulo e giro fusiforme associadas aos lobos parietal, frontal, occipital e temporal. A atrofia dessas regiões nos doentes com DCL em relação aos doentes com DP poderá explicar as diferenças observadas nos sintomas cognitivos e motores destas duas síndromes.

Lee et al. observaram uma diminuição de volume de substância branca das áreas occipital e occipito-parietal nos doentes com DCL em relação aos doentes com DP com demência, recorrendo ao método MBV ⁹². Confrontando os resultados desse estudo com os resultados obtidos neste trabalho, verifica-se que existe uma atrofia compatível dos lobos parietal e occipital. No entanto, apenas poderão ser retiradas conclusões consistentes após a comparação dos resultados obtidos com resultados de estudos futuros semelhantes.

DP versus DCB

As regiões afetadas na comparação de volume médio de substância cinzenta de doentes com DCB e doentes com DP são responsáveis por funções como o controlo de movimentos voluntários, planeamento motor, perceção visual e visão, controlo de emoções, leitura e palavra.

Embora não tenham sido encontrados estudos semelhantes que permitam comparar os resultados obtidos na análise efetuada, é possível relacionar alguns dos sintomas da DCB que diferem dos sintomas da DP, com as regiões onde se observam atrofias (atrofia bilateral dos lobos parietal e frontal, do córtex da ínsula e do sistema límbico). O padrão de atrofia analisado nos doentes com DCB em relação aos doentes com DP é simétrico, ao contrário do esperado pelos critérios clínicos. Este facto poderá, mais uma vez, ser explicado pelas diferentes atrofias observadas nos hemisférios dos doentes com DCB usados neste estudo.

Por outro lado, é possível observar que as atrofias observadas na comparação DP versus DCB coincidem com as diferenças entre padrões de atrofia observados nas comparações DP versus controlo e DCB versus controlo. De facto, a atrofia do lobo frontal é característica apenas dos doentes com DCB uma vez que apenas é observada na comparação DCB versus indivíduos saudáveis.

Os doentes com DCB apresentaram também uma perda significativa de volume de substância branca nos lobos parietal, temporal, frontal e córtex da ínsula em relação aos doentes com DP. Na pesquisa efetuada não foram encontrados estudos de substância branca, envolvendo a comparação destas duas síndromes, com os quais possam ser comparados os resultados obtidos neste trabalho. No entanto, a perda de substância branca nas regiões observadas poderá, mais uma vez, encontrar-se relacionada com alguns sintomas associados às emoções, visão e funções executivas mais afetados nos doentes com DCB do que nos doentes com DP.

AMS versus DCL

Foi observado um aumento de volume médio de substância cinzenta nos doentes com AMS relativamente aos doentes com DCL. O lado esquerdo dos lobos temporal, frontal e parietal encontra-se diminuído nos doentes com DCL em relação aos doentes com AMS.

A maior atrofia do lobo parietal observada nos doentes com DCL poderá explicar a diferença entre os sintomas observados nos doentes com DCL e nos doentes com AMS. De facto, podemos observar, através da análise dos sintomas efetuada no capítulo 2 deste trabalho, que os doentes com DCL apresentam sintomas mais marcados por alucinações visuais.

Relativamente ao volume médio de substância branca, os doentes com DCL apresentaram uma atrofia do córtex associativo somatossensorial em relação aos doentes com AMS. Essa região encontra-se associada a funções visuais-motoras e funções de percepção, podendo explicar as alucinações visuais características dos doentes com DCL, mais marcadas do que nos doentes com AMS.

Estudos futuros deverão ser realizados, sob as mesmas condições, de forma a comparar resultados e retirar conclusões válidas.

AMS versus DCB

Foi observada uma perda de volume médio de substância cinzenta nos lobos frontal, temporal e occipital e no sistema límbico, relacionada com a diminuição da capacidade de efetuar funções como o pensamento, cognição, planeamento de movimentos, visão e leitura, nos doentes com DCB em relação aos doentes com AMS.

Tendo em conta a comparação efetuada entre doentes com DCB e AMS e os sintomas associados a cada uma dessas síndromes (descritos no capítulo 2), observou-se que o envolvimento das regiões supracitadas poderá explicar a diminuição da capacidade de visão e linguagem e o surgimento de sintomas depressivos mais destacados nos doentes com DCB do que nos doentes com AMS.

O estudo volumétrico nas comparações AMS versus controlo e DCB versus controlo permitiu verificar que existe uma relação entre os padrões de atrofia observados nessas comparações e na comparação AMS versus DCB. De facto, a atrofia dos lobos frontal, occipital e temporal apenas é verificada na comparação entre doentes com DCB e indivíduos saudáveis, explicando o seu surgimento na comparação AMS versus DCB.

Por outro lado, foram observadas atrofia do giro temporal inferior e do córtex do cíngulo, nos doentes com DCB em comparação com os doentes com AMS, no estudo do volume de substância branca. A associação dessas regiões a funções de memória, forma visual e controlo de emoções permite explicar o destaque de sintomas mais depressivos e associados à função visual presentes no diagnóstico de doentes com DCB em relação aos doentes com AMS.

Este estudo revela-se, segundo a pesquisa efetuada, pioneiro na procura de diferenças entre as duas síndromes envolvidas nesta comparação, não sendo possível

comparar os resultados obtidos com resultados existentes na literatura com o objetivo de perceber se são falsos positivos ou verdadeiros positivos.

DCL versus DCB

A comparação entre doentes com DCB e doentes com DCL revelou diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância cinzenta em regiões não definidas no espaço de Brodmann. Essas regiões encontram-se associadas ao cerebelo, verificando-se uma atrofia cerebral subcortical nos doentes com DCL.

Uma vez que as áreas de Brodmann afetadas nas comparações DCL versus Controlo são coincidentes com as áreas afetadas nas comparações DCB versus controlo, é natural que não sejam observadas diferenças significativas nas áreas de Brodmann na comparação DCL versus DCB. No entanto, verificou-se que o cerebelo apenas apresentou diminuição de substância cinzenta nos doentes com DCL, na comparação com controlos. Esta observação, permite justificar a diminuição de volume de substância cinzenta observada no cerebelo dos doentes com DCL na comparação DCL versus DCB.

Esta comparação não revelou nenhuma região com diferenças estatisticamente significativas de volume médio de substância branca. Os resultados observados poderão estar associados, mais uma vez, a erros causados pela aplicação do método ou a problemas relacionados com o *dataset* em estudo (tamanho, heterogeneidade, protocolo de diagnóstico, entre outros). Uma vez que não existem estudos anteriores que possam ser usados para realizar uma comparação, não foi possível retirar conclusões válidas e consistentes acerca desta comparação.

Classificação – Binária e Multiclasse:

A segunda etapa deste trabalho pretendeu criar um classificador, recorrendo ao SVM e LIBSVM, capaz de classificar de forma individual cada caso em estudo, baseando-se no volume de substância cinzenta normalizado nas ROI obtidas no passo anterior.

Foi observado, numa primeira fase, que as classificações binárias realizadas apresentaram valores estatisticamente significativos. Foi, no entanto, notada uma exceção no caso da comparação entre doentes com DCL e doentes com DCB, na qual a classificação não revelou significância estatística. A classificação multiclasse, por sua vez, demonstrou originar um valor de precisão significativo, uma vez que o valor de média de

precisão obtido na classificação à sorte é inferior ao valor de precisão obtido com os dados originais.

Deste modo, e em função dos bons resultados na classificação binária e multiclasse, pode-se inferir que os classificadores desenvolvidos podem ser úteis na ajuda à classificação numa de duas síndromes e também quando existem várias possibilidades em aberto.

É fundamental realçar que na realidade os resultados de precisão dos classificadores construídos não refletem a verdadeira capacidade de diferenciação, pois foi usado o diagnóstico clínico como *gold standard*. Deste modo, os resultados refletem a concordância entre a avaliação clínica e os dados de volumetria usando classificadores estatísticos.

A classificação das diferentes síndromes parkinsonianas tem sido realizada recorrendo a critérios clínicos de diagnóstico e a dados de imagem SPECT com DaTSCAN (¹²³I-Ioflupano). A comparação dos resultados obtidos neste estudo com os resultados presentes na literatura permite inferir sobre a significância clínica e a contribuição dos resultados deste estudo para um diagnóstico diferencial das síndromes parkinsonianas.

DP versus Controlo

Os valores de especificidade e sensibilidade obtidos com base em observações clínicas para a DP, têm sofrido variações ao longo dos anos. Em 2001, Hughes *et al* recorreram a um *dataset* constituído por 100 doentes diagnosticados com DP e obtiveram um valor para a precisão de diagnóstico da DP de 90% ⁹³. Em 2002, usando um *dataset* constituído por 143 doentes (70 doentes diagnosticados com DP e 73 doentes diagnosticados com outras síndromes parkinsonianas), Hughes *et al* obtiveram valores de especificidade e sensibilidade de 98,4% e 91,1%, respetivamente ⁹⁴.

Investigações anteriores devolveram valores de precisão obtidos utilizando dados de imagem. Por exemplo, Oliveira *et al*, recorreram a valores de BP (do inglês *Binding Potential*) e ao SVM para desenvolver um classificador, tendo obtido uma precisão de 97,86%, uma sensibilidade de 97,75% e uma especificidade de 98,09% na classificação DP versus controlo saudável ⁹⁵. Esse estudo recorreu ao *dataset* disponibilizado pela PPMI (do inglês Parkinson's Progression Markers Initiative),

constituído por 654 imagens cerebrais [^{123}I]FP-CIT SPECT correspondentes a 209 indivíduos controlo saudáveis e 445 doentes com DP.⁹⁵

Prashanth *et al* recorreram à imagem SPECT com DaTSCAN e aos valores de SBR (do inglês *Striatal Binding Ratio*) para construir um modelo de classificação entre doentes com DP e controlos. O *dataset* usado nesse estudo foi disponibilizado pela PPMI e era constituído por 179 controlos e 369 doentes com DP. Nos seus estudos, obtiveram valores de precisão, sensibilidade e especificidade, com um classificador binário, iguais a 92,28%, 95,33% e 83,98%, respetivamente⁹⁶. Usando métodos diferentes, Toweya *et al* também conseguiram elevados valores para a precisão, sensibilidade e especificidade (94,8%, 93,7% e 97,3%, respetivamente) na classificação de doentes com DP⁹⁷. Para tal recorreram a imagens obtidas com FP-CIT e a um *dataset* constituído por 116 indivíduos (37 controlos e 79 doentes com DP).

A classificação realizada neste trabalho, na comparação entre doentes com DP e controlos, apresentou valores de especificidade, sensibilidade e precisão balanceada de 92,31%, 78,57% e 85,44%, respetivamente. Tendo em conta os estudos supracitados, os valores obtidos neste estudo são inferiores aos valores apresentados na literatura. No entanto, atendendo que a técnica usada é diferente da utilizada nesses estudos, as diferenças eram esperadas.

AMS versus Controlo

Hughes *et al* obtiveram valores de especificidade e sensibilidade para a comparação AMS versus controlos (95,4% e 88,2%, respetivamente), na classificação realizada com base em observações clínicas⁹⁴. Um outro estudo realizado por Osaki *et al* relatou uma precisão de diagnóstico de 86% na comparação entre doentes com AMS e controlos, usando um *dataset* constituído por 59 casos de doentes diagnosticados com AMS⁹⁸. Não foram encontrados estudos de classificação de doentes com AMS recorrendo a dados de imagem.

Os valores de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada obtidos no presente estudo, para a comparação entre doentes com AMS e controlos, foram 71,43%, 75% e 73,21%, respetivamente. Observam-se diferenças entre os valores obtidos e os valores presentes na literatura que poderão ser explicadas, em grande parte, pelo recurso a *datasets* diferentes. Por outro lado, o facto dos resultados presentes na literatura se

basearem apenas em critérios de diagnóstico clínico, poderá também explicar a discrepância observada entre os valores uma vez que os resultados obtidos neste trabalho resultaram de uma classificação com recurso a dados volumétricos de imagens de ressonância magnética.

DCL versus Controlo

Relativamente ao estudo da DCL, Mckeith *et al* referem que a especificidade de um diagnóstico clínico de DCL provável (presença de duas ou mais características principais) é superior a 80%, mas a sensibilidade situa-se próxima dos 50% ⁹⁹. Em 1998, Litvan *et al* classificaram os doentes com DCL recorrendo aos critérios de diagnóstico clínico dessa síndrome e a um *dataset* de 105 doentes (29 doentes com DCL e 76 doentes com outras síndromes sem ser DP e DCL). Nesse estudo, os valores de sensibilidade e especificidade obtidos encontram-se entre 51,7%- 75,8% e 82,9%- 96,0%, respetivamente ¹⁰⁰.

Recorrendo a dados de imagem SPECT com ¹²³I-FP-CIT, Mckeith *et al* obtiveram um valor médio de sensibilidade igual a 77,7% e um valor médio de especificidade de 90,4% para o diagnóstico de DCL provável ¹⁰¹. Nesse estudo, o *dataset* usado foi constituído por 326 doentes diagnosticados com DCL possível (57 doentes), provável (94 doentes) e outra demência (147 doentes).

Comparando os resultados obtidos neste estudo (sensibilidade = 85,71%, especificidade = 100% e precisão balanceada = 92,86%) com os resultados descritos na literatura, podemos observar que os valores de sensibilidade e especificidade obtidos são consideravelmente superiores aos valores referidos em estudos anteriores. Uma vez que o classificador construído apresenta valores superiores de sensibilidade, especificidade e precisão aos existentes na literatura e é baseado em dados volumétricos de imagem por ressonância magnética, este poderá representar uma mais-valia quando usado em conjunto com os métodos de classificação atualmente usados e conhecidos. No entanto, não podemos esquecer que os doentes usados neste trabalho foram diagnosticados segundo os critérios clínicos, o que é a forma habitual.

DCB versus Controlo

Litvan *et al* observaram, em 1997, recorrendo a um *dataset* de 105 doentes, que o diagnóstico clínico da DCB apresentava uma sensibilidade e uma especificidade de 48,3% e 99,6%, respetivamente ¹⁰². Também Hughes *et al* avaliaram a capacidade de diagnóstico da DCB recorrendo aos critérios clínicos. Esse estudo devolveu valores de sensibilidade e especificidade iguais a 25% e 98,6%, respetivamente ⁹⁴. Não foram encontrados estudos anteriores de classificação de DCB recorrendo a métodos de imagem SPECT.

Desta forma, é possível inferir que a classificação realizada neste trabalho, para a comparação entre doentes com DCB e controlos, poderá permitir uma melhoria na capacidade de diagnóstico da DCB uma vez que apresenta valores de sensibilidade e especificidade (78,57% e 100%, respetivamente) superiores aos observados na literatura.

Controlo versus Síndromes

O presente estudo analisou ainda a capacidade dos classificadores criados em diferenciar os controlos em relação a todas as síndromes em estudo. Não foram encontrados estudos semelhantes na literatura, com os quais possam ser comparados os resultados obtidos.

Os valores de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada obtidos foram 78,57%, 89,58% e 84,08%, respetivamente.

Desta forma, apenas poderá ser afirmado que a classificação controlo versus síndromes apresenta significância estatística, ficando a significância clínica por ser comprovada em estudos futuros e semelhantes.

Síndromes versus Síndromes

A classificação multiclasse síndromes versus síndromes mostrou um valor de precisão de 45,83%. Por falta de estudos semelhantes na literatura, esse valor não pode ser comparado com resultados anteriores.

O baixo valor de precisão obtido poderá ser explicado pela utilização de *features* pouco adequadas nesta comparação. De facto, as *features* foram retiradas de ROI onde existem diferenças estatisticamente significativas entre síndromes, podendo, no entanto, essas ROI não ser adequadas para classificar todas as síndromes, entre si. Pode-se

concluir, portanto que um classificador multiclasse (várias síndromes em aberto) não é uma boa opção.

Síndrome versus Síndrome

Como observado na **Tabela 5.7**, os classificadores binários para as classificações DP versus DCL, DP versus DCB, AMS versus DCL e AMS versus DCB devolveram valores elevados de sensibilidade, especificidade e precisão balanceada (superiores a 70%).

Foi encontrada uma exceção no caso da classificação entre doentes com DCL e doentes com DCB. Os baixos valores observados poderão significar que não há diferenças significativas em termos de volumetria entre estes dois grupos de doentes. Este resultado está de acordo com a baixa capacidade de diferenciação, entre essas duas síndromes, observada na primeira etapa deste trabalho.

Também a classificação DP versus AMS apresentou valores de sensibilidade e precisão balanceada baixos (38,46% e 62,98%, respetivamente). O que indica que a técnica usada não parece ser indicada para diferenciar estas duas síndromes.

Não foram encontrados estudos semelhantes na literatura, relativos às classificações binárias mencionadas, que permitam uma comparação entre resultados.

Limitações do estudo:

Os resultados obtidos neste estudo podem ter sido influenciados por erros associados ao diagnóstico e à reduzida dimensão, em termos estatísticos, de cada conjunto de doentes.

Como já referido, o método aplicado na primeira parte deste trabalho apresenta limitações que poderão ter influenciado negativamente os resultados. Desta forma, a classificação realizada com dados volumétricos obtidos após aplicação da técnica MBV em imagens de RM deve ter em conta os possíveis erros de diagnóstico associados ao *dataset* em estudo e os erros de segmentação que poderão ter influenciado os cálculos das *features* e, conseqüentemente, tornado as classificações realizadas menos precisas.

O recurso às áreas de Brodmann para identificar as regiões cerebrais afetadas poderá também ter influenciado os resultados devido às incertezas associadas às funções e localizações de algumas áreas cerebrais.

É ainda importante realçar que as comparações entre os resultados presentes neste estudo e os resultados descritos na literatura foram realizadas com cuidado uma vez que os *datasets* e os métodos usados foram diferentes.

Por fim, a falta de informação acerca das avaliações neuropsicológicas dos indivíduos em estudo, não permitiu relacionar corretamente as alterações observadas neste estudo com sintomas característicos das síndromes em comparação.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÕES

Usando a técnica MBV, foram obtidas regiões cerebrais com diferenças volumétricas de substância cinzenta e substância branca que foram, posteriormente, associadas a diversos sintomas motores e não-motores característicos das síndromes em estudo. As teorias relativas às alterações neuropatológicas provocadas na DP permitem prever alterações nos sistemas límbico, autónomo e somatomotor que foram também observadas nos resultados deste trabalho, reforçando a importância do uso deste tipo de estudos para o conhecimento aprofundado da patologia da DP.

É assim possível concluir que o uso de imagens de ressonância magnética estrutural, com aplicação do método MBV, representa um ponto forte no diagnóstico diferencial das síndromes parkinsonianas uma vez que foram encontrados alguns resultados coincidentes com estudos presentes na literatura.

A classificação realizada com dados volumétricos obtidos após aplicação da técnica MBV em imagens de RM aliada a diferentes métodos de classificação existentes poderá também representar uma mais valia para o diagnóstico diferencial das diferentes síndromes parkinsonianas, uma vez que a maioria dos valores se revelaram estatisticamente e clinicamente significativos.

Trabalhos futuros:

Trabalhos futuros deverão considerar uma melhoria no *dataset* em estudo, através da revisão dos diagnósticos efetuados e do aumento do número de doentes. A heterogeneidade dos dados em relação ao número de doentes em cada grupo deverá ser também considerada e melhorada.

A revisão das avaliações neuropsicológicas e neuropatológicas dos doentes deverá ser considerada de forma a criar uma relação mais robusta entre as alterações volumétricas cerebrais observadas e os sintomas característicos de cada grupo.

A junção de várias modalidades de imagem e de vários métodos de classificação possibilitará a criação de uma relação mais realista entre as alterações cerebrais de volume observadas e os sintomas característicos das diferentes síndromes parkinsonianas, permitindo um diagnóstico diferencial mais robusto.

Trabalhos futuros deverão avaliar, de forma mais detalhada, as diferenças volumétricas observadas em regiões subcorticais para além das observadas nas áreas de Brodmann definidas neste trabalho. A exploração das comparações introduzidas neste estudo deverá também ser considerada em trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jia X, Liang P, Li Y, Shi L, Wang D, Li K. Longitudinal Study of Gray Matter Changes in Parkinson Disease. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015;1-8.
2. Li X, Xing Y, Schwarz ST, Auer DP. Limbic Grey Matter Changes in Early Parkinson's Disease. *Hum Brain Mapp*. 2017;0:1-13. doi:10.1002/hbm.23610.
3. Alonso B de C, Hidalgo-Tobón SS, Menéndez-González M, Salas-Pacheco J, Arias-Carrión O. Magnetic resonance techniques applied to the diagnosis and treatment of Parkinson's disease. *Front Neurol*. 2015;6:1-10. doi:10.3389/fneur.2015.00146.
4. Burton EJ, Mckeith IG, Burn DJ, Williams ED, Brien JTO. Cerebral atrophy in Parkinson's disease with and without dementia: a comparison with Alzheimer's disease, dementia with Lewy bodies and controls. *Brain*. 2004;127(4):791-800. doi:10.1093/brain/awh088.
5. Beyer MK, Larsen JP, Aarsland D, Beyer MK. Gray matter atrophy in Parkinson disease with dementia and dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 2007;69(8):747-754. doi:10.1212/01.wnl.0000269666.62598.1c.
6. Kostic VS, Agosta F, Petrovic I, Spica V, Jecmenical-Lukic M, Filippi M. Regional patterns of brain tissue loss associated with depression in Parkinson disease. *Neurology*. 2010;75(10):857-863.
7. Compta Y, Ibarretxe-bilbao N, Pereira JB, et al. Grey matter volume correlates of cerebrospinal markers of Alzheimer-pathology in Parkinson ' s disease and related dementia. *Park Relat Disord*. 2012;18(8):941-947. doi:10.1016/j.parkreldis.2012.04.028.
8. Stamelou M, Hoeglenger GU. Atypical parkinsonism: an update. *Curr Opin Neurol*. 2013;26(4):401-405. doi:10.1097/WCO.0b013e3283632da6.
9. Josephs KA, Tang-Wai DF, Edland SD, et al. Correlation between antemortem magnetic resonance imaging findings and pathologically confirmed corticobasal degeneration. *Arch Neurol*. 2004;61(12):1881-1884.
10. Josephs KA, Whitwell JL, Dickson DW, et al. Voxel-based morphometry in autopsy proven PSP and CBD. *Neurobiol Aging*. 2008;29(2):280-289.

- doi:10.1016/j.neurobiolaging.2006.09.019.
11. Brenneis C, Seppi K, Schocke MF, et al. Voxel-Based morphometry detects cortical atrophy in the Parkinson variant of multiple system atrophy. *Mov Disord.* 2003;18(10):1132-1138. doi:10.1002/mds.10502.
 12. Tolosa E, Wenning G, Poewe W. The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2006;5(1):75-86. doi:10.1016/S1474-4422(05)70285-4.
 13. Burton EJ, Karas G, Paling SM, et al. Patterns of Cerebral Atrophy in Dementia with Lewy Bodies Using Voxel-Based Morphometry. *Neuroimage.* 2002;17(2):618-630. doi:10.1006/nimg.2002.1197.
 14. Focke NK, Helms G, Scheewe S, et al. Individual Voxel-Based Subtype Prediction can Differentiate Progressive Supranuclear Palsy from Idiopathic Parkinson Syndrome and Healthy Controls. *Hum Brain Mapp.* 2011;32(11):1905-1915. doi:10.1002/hbm.21161.
 15. Al-Radaideh AM, Rababah EM. The role of magnetic resonance imaging in the diagnosis of Parkinson's disease: A review. *Clin Imaging.* 2016;40(5):987-996. doi:10.1016/j.clinimag.2016.05.006.
 16. Pringsheim T, Jette N, Frolkis A, Steeves TDL. The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Mov Disord.* 2014;29(13):1583-1590. doi:10.1002/mds.25945.
 17. Ferreira J, Freire RA. Incidência e Prevalência. In: *Doença de Parkinson: Manual Prático.* ; 2013:2-7.
 18. Brooks DJ, Pavese N. Imaging biomarkers in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol.* 2011;95(4):614-628. doi:10.1016/j.pneurobio.2011.08.009.
 19. DeLong MR. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *TINS.* 1990;13(7):281-285.
 20. Galvan A, Wichmann T. Pathophysiology of Parkinsonism. *Clin Neurophysiol.* 2008;119(7):1459-1474.
 21. Smith Y, Wichmann T, Factor SA, DeLong MR. Parkinson's Disease Therapeutics: New Developments and Challenges Since the Introduction of Levodopa. *Neuropsychopharmacology.* 2011;37(1):213-246. doi:10.1038/npp.2011.212.
 22. Langston JW. The Parkinson's Complex: Parkinsonism Is Just the Tip of the Iceberg. *Am Neurol Assoc.* 2006;59:591-596. doi:10.1002/ana.20834.
-

23. Sulzer D, Surmeier DJ. Neuronal vulnerability, pathogenesis and Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2013;28(1):41-50. doi:10.1002/mds.25095.Neuronal.
24. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. A Estrutura do Sistema Nervoso. In: Artmed, ed. *Neurosciências: Desvendando O Sistema Nervoso.* 2nd ed. ; 2002:164-254.
25. Herrero M, Barcia C, Navarro JM. Functional anatomy of thalamus and basal ganglia. *Child's Nerv Syst.* 2002;18:386-404. doi:10.1007/s00381-002-0604-1.
26. Weingarten CP, Sundman MH, Hickey P, Chen NK. Neuroimaging of Parkinson's disease: Expanding views. *Neurosci Biobehav Rev.* 2015;59:16-52. doi:10.1016/j.neubiorev.2015.09.007.
27. Haber SN. *Integrative Networks Across Basal Ganglia Circuits.* Vol 20. Elsevier Inc.; 2008. doi:10.1016/B978-0-12-374767-9.00024-X.
28. Braak H, Ghebremedhin E, Rüb U, Bratzke H, Del Tredici K. Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell Tissue Res.* 2004;318(1):121-134. doi:10.1007/s00441-004-0956-9.
29. Brooks DJ. Examining Braak's Hypothesis by Imaging Parkinson's Disease. *Mov Disord.* 2010;25(SUPPL. 1):S83-S88. doi:10.1002/mds.22720.
30. Bastos Lima A, Cruto C, Ferreira J. Avaliação clínica e critérios de diagnóstico. In: *Doença de Parkinson: Manual Prático.* ; 2013:60-84.
31. Gelb DJ, Oliver E, Gilman S. Diagnostic Criteria for Parkinson Disease. *Arch Neurol.* 1999;56:33-39.
32. Almeida S. Parkinsonismo Atípico: diagnóstico diferencial. 2015.
33. Jankovic J. Parkinson's disease: clinical features and diagnosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2008;79(4):368-376. doi:10.1136/jnnp.2007.131045.
34. Levin J, Kurz A, Arzberger T, Giese A, Höglinger GU. The differential diagnosis and treatment of atypical parkinsonism. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(5):61-69. doi:10.3238/arztebl.2016.0061.
35. Ferreira J, Magalhães M, Correia AP. Outras Síndromes Parkinsonianas. In: *Doença de Parkinson: Manual Prático.* ; 2013:85-113.
36. N. Macedo M, Kim E-J, W. Seeley W. Neuropathology of dementia. In: L. Miller B, F. Boeve B, eds. *The Behavioral Neurology of Dementia.* ; 2009:142-160.
37. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Third report of the DLB consortium. *Neurology.*

- 2005;65(12):1863-1872. doi:10.1212/01.wnl.0000187889.17253.b1.
38. McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, et al. Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology*. 1996;47(5):1113-1124. doi:10.1212/WNL.47.5.1113.
39. Gilman S, Wenning GK, Low PA, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*. 2008;71(9):670-676. doi:10.1212/01.wnl.0000324625.00404.15.
40. Edmond T, A. Marshall G, L. Cummings J. Neuropsychiatric features of dementia. In: L. Miller B, F. Boeve B, eds. *The Behavioral Neurology of Dementia*. ; 2009:85-100.
41. Dickson DW. Parkinson's disease and parkinsonism: neuropathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(8):1-15. doi:10.1101/cshperspect.a009258.
42. Armstrong MJ, Litvan I, Lang AE, et al. Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. *Neurology*. 2013;80(5):496-503. doi:10.1212/WNL.0b013e31827f0fd1.
43. Symms M, Jäger HR, Schmierer K, Yousry T a. A review of structural magnetic resonance neuroimaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004;75(9):1235-1244. doi:10.1136/jnnp.2003.032714.
44. Saraiva Alves S. Avaliação por Imagem de Ressonância Magnética das alterações estruturais e fisiológicas dos músculos da perna após exercício. 2016.
45. Tavares H. Mapeamento de áreas visuais em cérebros sujeitos a reconstrução plana, usando ressonância magnética estrutural e funcional. 2007.
46. Hage MCFNS, Iwasaki M. Imagem por ressonância magnética: princípios básicos. *Ciência Rural*. 2009;39(4):1275-1283. doi:10.1590/S0103-84782009005000041.
47. Huettel S, Song A, McCarthy G. MR Contrast Mechanisms and Pulse Sequences. In: *FUNCTIONAL Magnetic Resonance Imaging*. Second. ; 2009:121-159.
48. ITK-SNAP. <http://www.itksnap.org/pmwiki/pmwiki.php?n=Main.HomePage>. Accessed March 10, 2017.
49. Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, et al. User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: Significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage*. 2006;31(3):1116-1128.
-

- doi:10.1016/j.neuroimage.2006.01.015.
50. 3D Slicer. <https://www.slicer.org/>. Published 2017. Accessed March 10, 2017.
 51. Wellcome Trust Centre for Neuroimaging. SPM: Statistical Parametric Mapping. <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>. Accessed February 22, 2017.
 52. Ashburner J, Barnes G, Chen C, et al. *SPM12 Manual: The FIL Methods Group (and Honorary Members)*.; 2016. doi:10.1111/j.1365-294X.2006.02813.x.
 53. Aguiar NAO, Oliveira SHA, Duran FLS, Geraldo F. *Análise de Imagens Cerebrais Utilizando O Método MBV- Otimizado*.; 2007.
 54. Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *Neuroimage*. 2000;11(6):805-821. doi:10.1006/nimg.2000.0582.
 55. Mechelli A, Price CJ, Friston KJ, Ashburner J. Voxel-Based Morphometry Applications of the Human Brain : Methods and Applications. *Curr Med Imaging Rev*. 2005;1:105-113. doi:10.2174/1573405054038726.
 56. Whitwell JL. Voxel-Based Morphometry: An Automated Technique for Assessing Structural Changes in the Brain. *J Neurosci*. 2009;29(31):9661-9664. doi:10.1523/JNEUROSCI.2160-09.2009.
 57. Kurth F, Luders E, Gaser C. Voxel-Based Morphometry. *Brain Mapp An Encycl Ref*. 2015;1:345-349. doi:10.1016/B978-0-12-397025-1.00304-3.
 58. Marôco J. Condições de aplicação dos testes paramétricos. In: *Análise Estatística Com O SPSS Statistics*. ; 2014:185-196.
 59. Friston K. A short history of SPM. In: Friston K, Ashburner J, Kiebel S, Nichols T, Penny W, eds. *Statistical Parametric Mapping - The Analysis of Functional Brain Images*. ; 2006:6-9.
 60. Marôco J. P-values e Erros estatísticos. In: *Análise Estatística Com O SPSS Statistics*. ; 2014:54-58.
 61. Ashburner J. VBM Tutorial. *Tech rep Wellcome Trust Cent Neuroimaging*. 2010:1-14.
 62. Poline J, Kherif F, Pallier C, Penny W. Contrasts and Classical Inference. In: *Statistical Parametric Mapping - The Analysis of Functional Brain Images*. ; 2006:126-139.
 63. Winters R, Winters A, Amedee RG. Statistics: a brief overview. *Ochsner J*. 2010;10(3):213-216.

64. Martz E, Paret M, Stone BK, Wheatley M, Barry C, Scibilia B. Understanding t-Tests: t-values and t-distributions. <http://blog.minitab.com/blog/adventures-in-statistics-2/understanding-t-tests-t-values-and-t-distributions>. Published 2017. Accessed June 22, 2017.
65. Marôco J. Teste t-student para duas amostras. In: *Análise Estatística Com O SPSS Statistics*. ; 2014:199-205.
66. Antonius R. T-Test and ANOVA. In: *Interpreting Quantitative Data with IBM SPSS Statistics*. ; 2013:252-283.
67. Marôco J. Análise da Variância (ANOVA). In: *Análise Estatística Com O SPSS Statistics*. ; 2014:205-258.
68. MRC: Cognition and Brain Sciences Unit. Reporting activity or lesion location. <http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/BrodmannAreas>. Accessed March 15, 2017.
69. MRC: Cognition and Brain Sciences Unit. The MNI brains and the Talairach atlas. <http://imaging.mrc-cbu.cam.ac.uk/imaging/MniTalairach>. Accessed March 15, 2017.
70. Lacadie CM, Fulbright RK, Constable RT, Papademetris X. More Accurate Talairach Coordinates for NeuroImaging using Nonlinear Registration. *Neuroimage*. 2009;42(2):717-725. doi:10.1016/j.neuroimage.2008.04.240.More.
71. Ashburner J, Friston K. Voxel-Based Morphometry. In: Friston K, Ashburner J, Kiebel S, Nichols T, Penny W, eds. *Statistical Parametric Mapping - The Analysis of Functional Brain Images*. ; 2006:92-98.
72. Ashburner J, Friston KJ. Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage*. 2001;14:1238-1243. doi:10.1006/nimg.2001.0961.
73. Orrù G, Pettersson-Yeo W, Marquand AF, Sartori G, Mechelli A. Using Support Vector Machine to identify imaging biomarkers of neurological and psychiatric disease: A critical review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(4):1140-1152. doi:10.1016/j.neubiorev.2012.01.004.
74. Salvatore C, Cerasa A, Castiglioni I, et al. Machine learning on brain MRI data for differential diagnosis of Parkinson's disease and Progressive Supranuclear Palsy. *J Neurosci Methods*. 2014;222:230-237. doi:10.1016/j.jneumeth.2013.11.016.
75. Hsu CW, Lin CJ. A comparison of methods for multiclass support vector machines.

-
- IEEE Trans Neural Networks*. 2002;13(2):415-425. doi:10.1109/72.991427.
76. Support Vector Machines for Binary Classification. <http://www.mathworks.com/help/stats/support-vector-machines-for-binary-classification.html>. Published 2017. Accessed June 20, 2017.
 77. Chang C, Lin C. LIBSVM: A Library for Support Vector Machines. *ACM Trans Intell Syst Technol*. 2013;2:1-39. doi:10.1145/1961189.1961199.
 78. Long D, Wang J, Xuan M, et al. Automatic Classification of Early Parkinson's Disease with Multi-Modal MR Imaging. *PLoS One*. 2012;7(11):1-9. doi:10.1371/journal.pone.0047714.
 79. Brodersen KH, Ong CS, Stephan KE, Buhmann JM. The balanced accuracy and its posterior distribution. *Proc - Int Conf Pattern Recognit*. 2010:3121-3124. doi:10.1109/ICPR.2010.764.
 80. García V, Mollineda RA, Sánchez JS. Index of Balanced Accuracy: A Performance Measure for Skewed Class Distributions. *Evaluation*. 2009:441-448.
 81. Westerhuis JA, Hoefsloot HCJ, Smit S, et al. Assessment of PLS-DA cross validation. *Metabolomics*. 2008;4(1):81-89. doi:10.1007/s11306-007-0099-6.
 82. IBM SPSS Statistics. <https://www.ibm.com/us-en/marketplace/spss-statistics>. Accessed June 19, 2017.
 83. Kassubek J, Juengling FD, Hellwig B, Spreer J, Lücking CH. Thalamic gray matter changes in unilateral Parkinsonian resting tremor: a voxel-based morphometric analysis of 3-dimensional magnetic resonance imaging. *Neurosci Lett*. 2002;323(1):29-32. doi:10.1016/S0304-3940(02)00111-8.
 84. Choi S, Evidente VGH, Caviness JN, et al. Are there differences in cerebral white matter lesion burdens between Parkinson's disease patients with or without dementia? *Acta Neuropathol*. 2010;119(1):147-149. doi:10.1007/s00401-009-0620-2.
 85. Beyer MK, Aarsland D, Greve OJ, Larsen JP. Visual rating of white matter hyperintensities in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2006;21(2):223-229. doi:10.1002/mds.20704.
 86. Kamagata K, Motoi Y, Abe O, et al. White matter alteration of the cingulum in Parkinson disease with and without dementia: Evaluation by diffusion tensor tract-specific analysis. *Am J Neuroradiol*. 2012;33(5):890-895. doi:10.3174/ajnr.A2860.
-

87. Hattori T, Orimo S, Aoki S, et al. Cognitive status correlates with white matter alteration in Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp.* 2012;33(3):727-739. doi:10.1002/hbm.21245.
88. Matsui H, Nishinaka K, Oda M, Niikawa H, Kubori T, Udaka F. Dementia in Parkinson's disease: Diffusion tensor imaging. *Acta Neurol Scand.* 2007;116(3):177-181. doi:10.1111/j.1600-0404.2007.00838.x.
89. Zhan W, Kang G., Glass G., et al. Regional Alterations of Brain Microstructure in Parkinson's Disease Using Diffusion Tensor Imaging. *Mov Disord.* 2015;27(1):90-97. doi:10.1002/mds.23917.Regional.
90. Bohnen NI, Albin RL. White matter lesions in Parkinson disease. *Nat Rev Neurol.* 2011;7(4):229-236. doi:10.1038/nrneurol.2011.21.
91. Tir M, Delmaire C, le Thuc V, et al. Motor-related circuit dysfunction in MSA-P: Usefulness of combined whole-brain imaging analysis. *Mov Disord.* 2009;24(6):863-870. doi:10.1002/mds.22463.
92. Lee JE, Park B, Song SK, Sohn YH, Park H, Lee PH. A comparison of gray and white matter density in patients with Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy Bodies using voxel-based morphometry. *Mov Disord.* 2010;25(1):28-34. doi:10.1002/mds.22858.
93. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology.* 2001;57(8):1497-1499. doi:10.1212/wnl.57.8.1497.
94. Hughes AJ, Daniel SE, Ben-Shlomo Y, Lees AJ. The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. *Brain.* 2002;125(4):861-870. doi:10.1093/brain/awf080.
95. Oliveira FPM, Castelo-Branco M. Computer-aided diagnosis of Parkinson's disease based on [123 I]FP-CIT SPECT binding potential images, using the voxels-as-features approach and support vector machines. *J Neural Eng.* 2015;12(2):26008. doi:10.1088/1741-2560/12/2/026008.
96. Prashanth R, Dutta Roy S, Mandal PK, Ghosh S. Automatic classification and prediction models for early Parkinson's disease diagnosis from SPECT imaging. *Expert Syst Appl.* 2014;41(7):3333-3342. doi:10.1016/j.eswa.2013.11.031.
97. Towey DJ, Bain PG, Nijran KS. Automatic classification of 123I-FP-CIT

- (DaTSCAN) SPECT images. *Nucl Med Commun.* 2011;32(8):699-707. doi:10.1097/MNM.0b013e328347cd09.
98. Osaki Y, Wenning GK, Daniel SE, et al. Do published criteria improve clinical diagnostic accuracy in multiple system atrophy? *Neurology.* 2002;59(10):1486-1491. doi:10.1212/01.WNL.0000028690.15001.00.
99. McKeith I. Dementia with Lewy bodies. *Dialogues Clin Neurosci.* 2009;6(3):7-26. doi:10.1017/CBO9780511581410.002.
100. Litvan I, MacIntyre A, Goetz C, et al. Accuracy of the Clinical Diagnoses of Lewy Body Disease, Parkinson Disease, and Dementia With Lewy Bodies. *Arch Neurol.* 1998;55:969-978.
101. McKeith I, O'Brien J, Walker Z, et al. Sensitivity and specificity of dopamine transporter imaging with 123I-FP-CIT SPECT in dementia with Lewy bodies: a phase III, multicentre study. *Lancet Neurol.* 2007;6(4):305-313. doi:10.1016/S1474-4422(07)70057-1.
102. Litvan I, Agid Y, Goetz C, Jankovic J, Wenning GK, Brandel JP. Accuracy of the clinical diagnosis of corticobasal degeneration: A clinicopathologic study. *Neurology.* 1997;48(October 1995):119-125.
103. Strotzer M. One century of brain mapping using Brodmann areas. *Clin Neuroradiol.* 2009;19(3):179-186. doi:10.1007/s00062-009-9002-3.
104. Santos RO dos. Estrutura e Funções do Córtex Cerebral. 2002.

APÊNDICE A

Descrição das funções das Áreas de Brodmann

As 52 áreas de Brodmann foram definidas e numeradas, pelo anatomista alemão Korbinian Brodmann, com base na organização cito arquitetônicas dos neurónios no córtex cerebral. Várias regiões definidas apenas pelas organizações observadas foram posteriormente correlacionadas com diversas funções corticais. É, no entanto, importante realçar que ainda existem incertezas relativas à localização e função de algumas ¹⁰³.

Este apêndice contém uma descrição sumariada das áreas de Brodmann mais importantes e das suas funções corticais na **Tabela A.1**. A **Figura A.1** permite uma localização visual das diferentes áreas descritas.

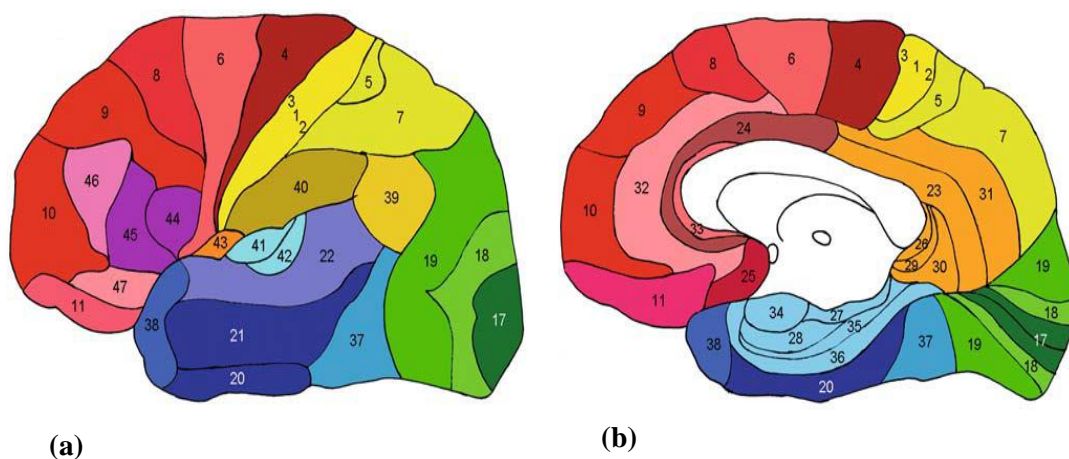


Figura A.1: Representação das áreas de Brodmann – vistas lateral (a) e medial (b) ¹⁰³.

Tabela A.1: Áreas de Brodmann – Funções e localizações das áreas ^{103,104}.

ÁREAS DE BRODMANN – Funções e localizações das áreas			
Área de Brodmann	Área funcional	Localização	Função
1, 2, 3	Córtex	Giro pós-central	Toque ou tato

ÁREAS DE BRODMANN – Funções e localizações das áreas			
Área de Brodmann	Área funcional	Localização	Função
	somatossensorial primário		
4	Córtex motor primário	Giro pré-central	Controlo do movimento voluntário
5	Córtex sensitivo; Área associativa parietal posterior	Lobo parietal superior	Estereognosia, memória
6	Córtex motor suplementar; Campo ocular suplementar; Córtex pré-motor	Giro pré-central; Córtex adjacente rostral	Planeamento motor e dos movimentos oculares
7	Área associativa parietal posterior; Córtex somatossensorial associativo	Lobo parietal superior	Perceção visual-motora
8	Campos oculares frontais	Giros frontal superior e médio; Lobo frontal	Movimentos oculares
9,10,11,12	Córtex associativo pré-frontal; Campos oculares frontais	Giros frontal superior e médio; Lobo frontal	Pensamento, cognição, planeamento motor
17 ¹	Córtex visual primário	Lobo occipital	Visão
18	Córtex visual secundário	Giros occipital médio e lateral	Visão e profundidade
19	Córtex visual associativo; Área	Giros occipital médio e lateral	Visão, cor, movimento e profundidade

¹ As áreas 13, 14, 15 e 16 são parte do córtex da insula.

ÁREAS DE BRODMANN – Funções e localizações das áreas			
Área de Brodmann	Área funcional	Localização	Função
	visual temporal média		
20	Área visual temporal inferior	Giro temporal inferior	Forma e memória visual
21	Área visual temporal inferior	Giro temporal médio	Forma e memória visual
22	Córtex auditivo de ordem superior	Giro temporal superior	Audição, palavra, memória auditiva e interpretativa
23, 24, 25, 26, 27	Córtex associativo límbico	Giro do cíngulo; Giro parahipocampal	Emoções
28	Córtex olfativo primário; Córtex associativo límbico	Giro parahipocampal	Olfato e emoções
29, 30, 31, 32 33	Córtex associativo límbico	Giro do cíngulo	Emoções
34, 35, 36	Córtex olfatório primário; Córtex associativo límbico	Giro parahipocampal	Olfato e emoções
37	Área associativa parieto-temporo-occipital; Córtex associativo límbico	Giros temporal médio e inferior; Giro fusiforme	Percepção, visão, leitura e palavra
38	Córtex olfativo primário; córtex associativo límbico	Lobo temporal	Olfato e emoções
39	Córtex associativo parieto-temporo-occipital	Lobo parietal inferior; Giro angular	Percepção, visão, leitura e palavra falada
40	Córtex associativo parieto-temporo-	Lobo parietal inferior; Giro	Olfato e emoções

ÁREAS DE BRODMANN – Funções e localizações das áreas			
Área de Brodmann	Área funcional	Localização	Função
	occipital	supramarginal	
41	Córtex auditivo primário	Giro de Heschl e giro temporal superior	Percepção, visão, leitura e palavra falada
42	Córtex auditivo secundário	Giro de Heschl e giro temporal superior	Audição
43	Córtex gustativo	Córtex insular	Gosto
44	Área de Broca; Córtex pré-motor lateral	Giro frontal inferior	Discurso, palavra e memória
45	Córtex associativo pré-frontal	Giro frontal inferior	Palavra, memória e planeamento motor
46	Córtex associativo pré-frontal dorsolateral	Giro frontal médio	Pensamento, cognição, planeamento do comportamento e controlo do movimento ocular
47	Córtex associativo pré-frontal	Giro frontal inferior	Pensamento, cognição e planeamento do comportamento

