UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE NEUROCIÊNCIAS E CIÊNCIAS DO COMPORTAMENTO

SAMUEL SULLIVAN CARMO

Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia
Inflamatória Desmielinizante Crônica: um estudo mediante técnicas quantitativas de Imagem
por Ressonância Magnética

Ribeirão Preto

2014

SAMUEL SULLIVAN CARMO

Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia
Inflamatória Desmielinizante Crônica: um estudo mediante técnicas quantitativas de Imagem
por Ressonância Magnética

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do
título de doutor em ciências (neurociências).

Curso: Doutorado

Programa: Medicina (Neurologia)

Área de concentração: Neurologia

Opção: Neurociências

Orientador: Prof. Dr. Amilton Antunes Barreira

Coorientador: Prof. Dr. Carlos Ernesto Garrido Salmon

Ribeirão Preto

2014

Ficha Catalográfica

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E RESPEITADOS OS PRINCÍPIOS ÉTICOS DA BEFEFICÊNCIA DE NÃO-MALEFICÊNCIA.

VERSÃO PÚBLICA

Catálogo na Publicação
Serviço Individual de Documentação da Informação

Carmo, Samuel Sullivan.

Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica: um estudo mediante técnicas quantitativas de Imagem por Ressonância Magnética / Samuel Sullivan Carmo; Orientador, Amilton Antunes Barreira. Coorientador, Carlos Ernesto Garrido Salmon. Ribeirão Preto, 2014.

260f.: fig.; 30 cm

Tese de doutoramento, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Programa de pós-graduação: medicina (neurologia). Área de concentração: neurologia. Opção: neurociências

Orientador: Barreira, Amilton Antunes.

Coorientador: Salmon, Carlos Ernesto Garrido.

1. Polineuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica (PIDC); 2. Sistema Nervoso Central (SNC); 3. Imagem por Ressonância Magnética (IRM); 4. Imagem por Tensor de Difusão (ITD); 5. Volumetria Encefálica (VE); 6. Morfometria Baseada em Voxel (MBV); 7. Conectividade Cerebral Estrutural (CCE); 8. Estatística Espacial Baseada em Tratos (EEBT).
I. Título.

Folha de aprovação

Samuel Sullivan Carmo

Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica: um estudo mediante técnicas quantitativas de Imagem por Ressonância Magnética

Tese apresentada ao Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de doutorado em ciências (neurociências).

Área de Concentração: Neurologia. Opção: Neurociências

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Prof. Dr.

Assinatura:

Instituição:

Resumo

Carmo, S. S. Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica: um estudo mediante técnicas quantitativas de Imagem por Ressonância Magnética 260f. Tese [Doutorado em Medicina (Neurologia), opção: Neurociências] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

A polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC) é uma síndrome caracterizada fundamentalmente pela disfunção do Sistema Nervoso Periférico e que afeta muito a qualidade de vida dos pacientes. O envolvimento da PIDC com o Sistema Nervoso Central tem sido descrito, maiormente como sendo subclínico, porém não há estudos sobre a caracterização deste envolvimento de uma forma ampla e quantitativa. Avaliamos 11 pacientes com PIDC, todos tratados e sem sinais clínicos de alterações centrais, e 11 controles, pareados em gênero e faixa etária de 19 a 69 anos. Foram adquiridas neuroimagens em uma máquina de Ressonância Magnética de alto campo (3T) usando diferentes técnicas de imagens; volumétricas ponderadas em T1, volumétricas de inversão e recuperação com atenuação de fluidos e ponderadas em T2, relaxométricas de cinco ecos para mapas de T2, de transferência de magnetização e por tensor de difusão. As imagens foram processadas em diferentes ferramentas computacionais e foram obtidos resultados para estudos da difusibilidade, volumetria, morfometria, tratometria e conectividade cerebral, além de achados radiológicos para os pacientes. As análises de grupos foram executadas por; 1) testes paramétricos monocaudais de duas amostras pareadas para os resultados da volumetria, da tratometria e conectividade cerebral; 2) mapeamento estatístico paramétrico para os resultados da morfometria baseada em voxel e; 3) estatística espacial baseada em tratos para os resultados da difusibilidade. Foram detectas alterações em todas as comparações. Os principais achados indicam um envolvimento possivelmente caracterizado por uma perda volumétrica encefálica generalizada, sobretudo nas regiões periventriculares associadas a ventrículos proeminentes acrescido de, um aumento da difusibilidade transversa e oblíqua nos maiores tratos de substância branca e, também há uma perda de densidade na substância branca periventricular e um aumento na substância cinzenta em uma região que sinaliza para o espessamento trigeminal bilateral e, uma redução geral da conectividade cerebral estrutural.

Palavras-chave: 1. Polineuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica (PIDC); 2. Sistema Nervoso Central (SNC); 3. Imagem por Ressonância Magnética (IRM); 4. Imagem por Tensor de Difusão (ITD); 5. Volumetria Encefálica (VE); 6. Morfometria Baseada em Voxel (MBV); 7. Conectividade Cerebral Estrutural (CCE); 8. Estatística Espacial Baseada em Tratos (EEBT).

Abstract

Carmo, SS. Characteristics of involvement of the central nervous system in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a quantitative magnetic resonance imaging study. 260p. PhD Thesis [PhD of Science, Medicine (Neurology), option: Neuroscience]. Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2014.

Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP) is a severe disease fundamentally characterized by dysfunction of the Peripheral Nervous System and affects greatly the quality of life of patients. The Central Nervous System (CNS) involvement in CIDP has not been described using recent quantitative neuroimaging techniques. We evaluated 11 patients with CIDP, all treated and without clinical signs of central alterations and 11 controls matched for gender and age group of 19 to 69 years. Magnetic Resonance Imaging were performed on a 3T scanner using different imaging techniques; structural 3D T1-weighted, fluid-attenuated inversion recovery, relaxometry with 5 echoes pulse sequence for T2 maps, magnetization transfer weighted and diffusion tensor imaging. The images were processed on different tools and were obtained results for the studies of diffusivity, volumetry, morphometry, tractometry, brain connectivity, and radiological findings of patients. Different statistical group analyses were performed in the quantitative results: 1) Parametric test for volumetry, tractometry and brain connectivity; 2) Parametric mapping for voxel morphometry; 3) Tract-based spatial statistics (TBSS) for diffusion coefficients. Changes were detected in all comparisons. In the patients, our main findings are: generalized loss brain volume more pronounced in periventricular regions associated with prominent ventricles, increased simultaneously perpendiculars and parallel diffusivity in the major tracts of the TBSS analyze, white matter density loss in the periventricular area, some bilateral trigeminal thickening, and general reduction of the brain connectivity. The CIDP affects the global brain and represents a demyelination in the CNS.

Keywords: Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP); Central Nervous System (CNS); Magnetic Resonance Imaging (MRI); Diffusion Tensor Imaging (DTI); Brain volumetry (BV); Voxel-based Morphometry (VBM); Brain Connectivity (BC); Tract-based Spatial Statistic (TBSS).

Figuras

Figura 01: Fases de seleção e inclusão dos sujeitos de pesquisa e formação dos grupos	55
Figura 02: Subgrupos de gênero dos pares comparados dos sujeitos de pesquisa	56
Figura 03: Exemplo de neuroimagem e segmentações de substâncias, de um sujeito controle masculino de 19 anos. a) Imagem adquirida na orientação sagital, b) Segmentação da substância cinzenta, c) Segmentação da substância branca.	62
Figura 04: Exemplos de neuroimagens FLAIR evidenciando pontos de hipersinal em regiões periventriculares, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos: a) Aquisição FLAIR-VISTA ponderada em T2 na fatia axial 62 de 100, b) Aquisição FLAIR-VISTA ponderada em T2 na fatia axial 64 de 100.....	63
Figura 05: Exemplos de neuroimagens em T2, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos; Aquisições em diferentes tempos ao eco pela técnica de relaxometria transversal e o mapa resultante: a) TE = 20ms, b) TE = 80ms, c) Mapa de T2.	64
Figura 06: Exemplos de neuroimagens MT, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos: a) Aquisição MT inicial, b) Aquisição MT final, para a mesma fatia feita dois minutos e quarenta e quatro segundos depois da inicial.....	66
Figura 07: Exemplos de neuroimagens DTI, de um controle saudável, feminino de 32 anos: a) Difusibilidade média, b) Anisotropia colorida, c) Difusão paralela (há similaridade com a difusibilidade média, porém os valores são diferentes).	67
Figura 08: Sala de aquisição: máquina 3T; maca, magneto e bobina de cabeça.....	69
Figura 09: Diagrama de blocos para o processamento do estudo morfométrico.	74
Figura 10: Tela de interface do FreeSurfer - FS v5.1.0.....	80
Figura 11: Controle masculino de 49 anos; alinhamento manual prévio para morfometria	88
Figura 12: Segmentações prévias, exemplo, controle feminino de 32 anos; (a) Original 3DT1; (b) Substância cinzenta; (c) Substância branca e; (d) Fluido encéfalo-raquidiano	89
Figura 13: Segmentação corrigida, templates da primeira iteração DARTEL e campo de deformações aplicado a cada sujeito para se obter o template final, controle feminino de 32 anos; (a) Corregistro da segmentação de substância cinzenta; (b) substância branca; (c) Template_0 do sujeito corrigido; (d) campo de deformação para o template final e; (e) template final DARTEL com seis iterações	89
Figura 14: Exemplo de arquivos gerados para o processamento SPM com cada sujeito de pesquisa; (a) Segmentação de substância cinzenta suavizada e; (b) Substância branca suavizada.	90
Figura 15: Diagrama de blocos do processamento para o estudo de conectividade cerebral	102
Figura 16: Conversão DCM/Analyze no MRIcro para tratometria e conectividade cerebral	106

Figura 17: Reorientação DTI por gradientes para tratometria e conectividade cerebral	107
Figura 18: Realinhamento manual 3DT1 no SPM para tratometria e conectividade cerebral; (1) ordem dos planos coronal, sagital e axial; (2) reorientação por deslocamentos e rotações; (3) salvar nova reorientação na imagem e; (4) ajusta para o centro da imagem.....	108
Figura 19: Corregistro de 3DT1 em DTI por SPM5 para IbaSPM.....	108
Figura 20: Gerando atlas, segmentações e normalizações com o IbaSPM.....	109
Figura 21: Criação das máscara no MabC para o DTItool.....	110
Figura 22: Interface geral do DTItool (esquerda); Opção para estimar, e exibir mapas (direita); Resultados sobrepostos (centro), controles (acima) e pacientes (abaixo).....	111
Figura 23: Criação das zonas de conectividade no MabC.....	112
Figura 24: Criação dos caminhos das fibras no MabC.....	113
Figura 25: Criação das matrizes de conectividade por sujeito processado.....	114
Figura 26: Exemplo de resultados TBSS/FSL: (a) Esqueletonização sobre FA médio; (b) Resultados (1-p) > 0,95; (c)Esqueletonização sobre MNI152 e resultados (1-p) > 0,95.....	122
Figura 27: Desenho do estudo para a comparação estatística spmT; condição 1 = grupo controle, condição 2 = grupo caso, pares de mesmo gênero e faixa etária, vetor de idade na data do exame = covariável; podendo ser aplicado o contraste (1, -1) quando o valor de T for controles > pacientes e o contraste inverso (-1, 1) quando for pacientes < controles.	126
Figura 28: Imagens do SPM; (a) mapa de coeficientes beta de primeira iteração; (b) máscara do processamento SPM; (c) mapa de coeficientes beta da última iteração sobre a máscara; (d) mapa de RPV (e) mapa de ResMS (f) mapa de contraste 1 e; (g) mapa dos valores T.....	127
Figura 29: Índices de Conectividade Anatômica usados nas matrizes; Probabilidade de Conectividade Anatômica (ACP); Intensidade de conectividade Anatômica (ACS); e Densidade de Conectividade Anatômica (ACD).....	129
Figura 30: Exemplo de mapa de cores de ACP, ACS, ACD e LONG gerado das matrizes de conectividade cerebral para as cinquenta estruturas cerebrais selecionadas.....	130
Figura 31: Imagens L1, L2, L3, MD e FA (da esquerda para a direita) de um controle (acima) e de um paciente (abaixo); (a) Fatia axial na altura do corpo caloso; (b)Fatia axial na altura de maior diversidade de tratos.....	132
Figura 32: Imagens do processamento no TBSS/FSL; (a) Mapa de FA médio (gradiente de cores do NIH [National Institute of Health] que segue o espectro da luz visível do frio/violeta/baixo valor ao quente/vermelho/alto valor); (b)Máscara do FA médio; (c)Esqueletonização do FA médio; (d) Máscara da esqueletonização do FA médio	133
Figura 33: Alterações das imagens de ressonância magnética nos laudos dos pacientes.....	134

Figura 34: Hipersinal em IRM com TR longo encontrado nos (nossos) pacientes mais idosos da presente série; (a) feminino, 64 anos, (b) masculino, 61 anos, (c) feminino, 66 anos.	135
Figura 35: IRM, sagital FLAIR de um controle saudável (à esquerda), comparada à de um paciente com PIDC (à direita) - masculino com 61 anos.....	136
Figura 36: Hipersinal observado na IRM de paciente masculino de 57 anos, por FLAIR-TR5000; (acima-direita) fatia axial 60/100, (acima-esquerda) fatia axial 63/100, (abaixo-esquerda) fatia axial 66/100, (abaixo-direita) fatia axial 67/100.....	137
Figura 37: Histograma referente às conclusões dos laudos dos pacientes com PIDC.....	138
Figura 38: Volumetria encefálica absoluta (mm ³) pacientes versus controles.....	140
Figura 39: Volumetria percentual ponderada na máscara (brain).....	141
Figura 40: Volumetria percentual ponderada na máscara "brain" intracraniana e fracionada por estrutura encefálica registrada em atlas ou segmentada por tipo de substância (s.) encefálica. (a)hipointensidade em s. não-branca, vasos do hemisfério (h.) esquerdo e accumbens direito; (b) amídalas, plexo coróide direito e globos pálidos; (c) caudado esquerdo, putâmens e diencéfalos ventrais; (d) tronco cerebral e s. branca do h. esquerdo do cerebelo; (e) Córtices cerebelares; (f) S. branca dos córtices cerebrais e córtex esquerdo	144
Figura 41: Diferenças bilaterais significativas identificadas, no lobo occipital lateral, no córtex pericalcarino (adjacente ao sulco calcarino), no giro précentral, na porção rostral média do lobo frontal, no lobo parietal superior e temporal superior, em todas estas regiões os pacientes apresentaram menor volume.	146
Figura 42: O número total de vértices originalmente calculado pelo FS para cada sujeito de pesquisa processado apresentou diferenças com significância científica entre pacientes e controles normais pareados (valores de p indicados) e voluntários testes randomizados (valores de p omitidos), tanto no cérebro todo como em cada um dos hemisférios cerebrais.....	147
Figura 43: Área (mm ²) da superfície cortical, os pacientes apresentaram valores menores que os controles, tanto no cérebro todo como em cada um dos hemisférios cerebrais separadamente.	148
Figura 44: Os pacientes apresentaram menor área para a porção caudal média do lobo frontal, córtex entorrinal, lobo parietal inferior bilateral, lobo occipital lateral, lobo temporal medial, giro paracentral pós-central, giro do cíngulo posterior, porção rostral média do lobo frontal, lobo frontal superior e lobo parietal superior.....	149
Figura 45: A espessura cortical (mm) dos pacientes foi menor que dos controles nas regiões do: cuneus e pré-cuneus, lobo parietal inferior, lobo occipital lateral e a pars orbitalis [parte orbital do giro frontal inferior].....	150
Figura 46: Resultado SPM para morfometria de substância cinzenta (controles > pacientes)	152
Figura 47: Resultado SPM para morfometria de substância cinzenta (controles > pacientes)	154
Figura 48: Imagens do SPM; (a) mapa de coeficientes beta da última iteração; (b) máscara do processamento C2; (c) mapa de RPV e; (e) mapa de ResMS.....	155

Figura 49: O resultado SPM-T indicando quatro regiões com valores superiores ao limiar 3,25 e com nível de significância p menor que 0,05 após as correções FDR e FWE.	157
Figura 50: O resultado SPM-T indicando uma região com maior densidade de substância branca para os pacientes coincidindo com o achado incidental radiológico de um granuloma de colesterol no ápice do petroso em um paciente.	159
Figura 51: O resultado SPM-T indicando que sem o par de sujeitos cujo paciente tem laudo radiológico que descreve um granuloma no ápice do petroso como achado incidental não há nenhuma região cujo p corrigido seja menor que 0,05.	160
Figura 52: Sobreposição de imagens dos tratos [vermelho = direita/esquerda, verde = anterior/posterior, azul = caudal/rostral e combinações primárias da luz para as inclinadas, p.ex. amarelo = verde+vermelho]; (a) Grupo controle ; (b) Grupo paciente.	162
Figura 53: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACP" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte seis das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.	163
Figura 54: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACP" por estrutura.	164
Figura 55: Diferenças significativas de ACP para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.	167
Figura 56: Diferenças para o Maior ACS; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)	167
Figura 57: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACS" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte quatro das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.	168
Figura 58: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACS" por estrutura;	169
Figura 59: Diferenças significativas de ACS para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.	172
Figura 60: Diferenças para o Maior ACD; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)	172
Figura 61: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACD" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte seis das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.	173
Figura 62: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACD" por estrutura;	174
Figura 63: Diferenças significativas de ACD para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.	177
Figura 64: Diferenças para o Maior LONG; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)	178

Figura 65: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de LONG" por estrutura; Houve diferenças significativas em trinta e cinco das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.	178
Figura 66: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de LONG" por estrutura;.....	179
Figura 67: Diferenças significativas de LONG para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.....	182
Figura 68: O número total de elementos gerados pelas matrizes do processamento de conectividade cerebral foi menor entre os pacientes do que entre os controles;.....	182
Figura 69: Em cinco da dez maiores conexões avaliadas houve diferenças com significância ($p < 0,05$); em todas as comparações, o Grupo PIDC teve resultados menores que o Controle.....	183
Figura 70: Em cinco da dez maiores conexões avaliadas houve diferenças com significância ($p < 0,05$); em todas as comparações, o Grupo PIDC teve resultados menores que o Controle.....	184
Figura 71: As principais conexões (com maior número de elementos processados) nos pacientes com PIDC foram menores que as mesmas conexões (que ligam as mesmas estruturas cerebrais) nos controles.	185
Figura 72: Mapas resultantes do processamento TBSS/FSL para o FA com valores de (1-p) (a) pacientes maior que controles; (b) controles maior que pacientes; (c) item "a" com p corrigido; (d) item "b" com p corrigido; (e) região com valores (1-p)>0,95.	187
Figura 73: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores de MD foram significativamente maiores no grupo de pacientes com PIDC quando comparados com os valores de MD do grupo controle.	189
Figura 74: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores de L1, L2 e L3 atingiram significância estatística somente para o contraste 2 (paciente > controle) sendo L1 com menos regiões e L2 e L3 com mais regiões (1-p>0,95).	190
Figura 75: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores dos mapas de B0, MTR e 5RLX não apresentaram diferenças entre os pacientes com PIDC e os controles normais.	192
Figura 76: O resultado do segundo processamento "FA e não-FA" no TBSS/FSL evidenciou que os valores dos mapas de FA, MD, L1, L3, MTR e 5RLX não apresentaram diferenças significativas entre os sujeitos do grupo teste e os sujeitos do grupo controle -	194

Sumário

RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VI
1. INTRODUÇÃO	15
1.1. ESTUDO	15
1.1.1. <i>Temática.....</i>	15
1.1.2. <i>Problema de pesquisa</i>	15
1.1.3. <i>Tipo de estudo.....</i>	16
1.1.4. <i>Delineamento.....</i>	16
1.1.5. <i>Hipótese científica</i>	17
1.2. JUSTIFICATIVA	18
1.2.1. <i>Relevância social.....</i>	18
1.2.2. <i>Contribuição original</i>	19
1.3. ABORDAGEM INICIAL SOBRE PIDC	19
1.3.1. <i>Caracterização nosológica.....</i>	19
1.3.2. <i>Doenças sistêmicas associadas</i>	20
1.3.3. <i>Fisiopatologia, aspectos evolutivos e tratamento</i>	21
1.4. REVISÃO GERAL SOBRE PIDC	22
1.4.1. <i>Epidemiologia e clínica.....</i>	22
1.4.2. <i>Critérios para diagnóstico</i>	23
1.4.3. <i>Variantes clínicas</i>	23
1.4.4. <i>Envolvimento imunopatogênico.....</i>	24
1.4.5. <i>Envolvimento imunopatológico</i>	25
1.5. ABORDAGEM INICIAL SOBRE RM	27
1.5.1. <i>RM como técnica física</i>	27
1.5.2. <i>RM como técnica de imagem.....</i>	34
1.5.3. <i>Técnicas quantitativas de IRM</i>	37
1.6. REVISÃO ESPECÍFICA DO ESTUDO	41
1.6.1. <i>O envolvimento da PIDC com o SNC</i>	41
1.6.2. <i>Relato de casos sobre PIDC & SNC.....</i>	43
1.6.3. <i>Trabalhos recentes de PIDC & SNC.....</i>	47
2. OBJETIVOS.....	49
2.1. OBJETIVO GERAL.....	49
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
3. SUJEITOS E MÉTODOS	51
3.1. PROCEDIMENTOS GERAIS	51
3.1.2. <i>Delineamento.....</i>	52
3.1.4. <i>Riscos e benefícios.....</i>	52
3.1.4. <i>Sujeitos e casuística.....</i>	54
3.1.5. <i>Pacientes.....</i>	57
3.1.6. <i>Critérios de inclusão.....</i>	57
3.1.7. <i>Critérios de exclusão</i>	57
3.1.8. <i>Controles.....</i>	60
3.2. PROTOCOLO DE AQUISIÇÃO DAS NEUROIMAGENS.....	60
3.2.1. <i>Sequência T1 volumétrica</i>	61
3.2.2. <i>Sequência T2 FLAIR.....</i>	62
3.2.3. <i>Sequência de Relaxometria</i>	63
3.2.4. <i>Sequência de Transferência de Magnetização.....</i>	64
3.2.5. <i>Sequência de Tensores de Difusão.....</i>	66

3.3. PRÉ-PROCESSAMENTO	70
3.3.1. <i>Pré-processamento volumétrico</i>	70
3.3.2. <i>Pré-processamento morfométrico</i>	72
3.3.3. <i>Pré-processamento de tratometria e conectividade</i>	75
3.3.4. <i>Pré-processamento de difusibilidade</i>	76
3.3.5. <i>Pré-processamento geral</i>	77
3.4. VOLUMETRIA BASEADA EM SUPERFÍCIES LIVRES	79
3.4.1. <i>FreeSurfer: os conceitos gerais</i>	79
3.4.2. <i>Cálculo do tamanho da amostra</i>	84
3.4.3. <i>Teste de normalidade e de hipóteses</i>	84
3.5. MORFOMETRIA BASEADA EM VOXEL	86
3.5.1. <i>VBM/SPM: os conceitos gerais</i>	87
3.5.2. <i>Processamento Morfométrico Geral</i>	90
3.5.3. <i>O diretório de saída</i>	93
3.5.4. <i>Arquivos gerados por resultados</i>	98
3.6. TRATOMETRIA & CONECTIVIDADE CEREBRAL	101
3.6.1. <i>Pré-processamento</i>	102
3.6.2. <i>Processamento Inicial</i>	103
3.6.3. <i>Processamento Intermediário</i>	103
3.6.4. <i>Processamento Principal</i>	105
3.6.5. <i>IbaSPM/MabC/DTItool: os conceitos gerais</i>	105
3.7. DIFUSIBILIDADE POR ESTATÍSTICA ESPACIAL BASEADA NOS TRATOS	115
3.7.1. <i>Primeira Etapa: gerar os mapas</i>	115
3.7.2. <i>Segunda Etapa: processamento FA</i>	116
3.7.3. <i>Terceira Etapa: processamento não-FA</i>	118
3.7.4. <i>TBSS/FSL: os conceitos gerais</i>	119
5. RESULTADOS.....	123
5.1. CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DOS RESULTADOS	123
5.1.1. <i>Resultados da radiologia</i>	124
5.1.2. <i>Resultados da volumetria</i>	124
5.1.3. <i>Resultados da morfometria</i>	125
5.1.4. <i>Resultados da tratometria e conectividade cerebral</i>	127
5.1.5. <i>Resultados da difusibilidade</i>	130
5.2. ALTERAÇÕES ENCONTRADAS NAS IMAGENS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA	134
5.3. VOLUMETRIA	139
5.3.1. <i>Achados da volumetria</i>	139
5.4. MORFOMETRIA	150
5.4.1. <i>Achados da morfometria</i>	150
5.5. TRATOMETRIA & CONECTIVIDADE	161
5.5.1. <i>Achados da tratometria</i>	161
5.5.2. <i>Resultados para o ACP</i>	162
5.5.3. <i>Resultados para o ACS</i>	167
5.5.4. <i>Resultados para o ACD</i>	172
5.5.5. <i>Outros achados</i>	177
5.6. DIFUSIBILIDADE	186
5.6.1. <i>Achados da difusibilidade</i>	186
6. DISCUSSÃO.....	195
6.1. TAMANHO DA AMOSTRA	195
6.2. HETEROGENEIDADE	195
6.3. COMORBIDADES	195
6.4. DIAGNÓSTICO DIVERSO	196
6.5. INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO	196
6.6. SINTOMATOLOGIA CLÍNICA AUSENTE	197
6.7. APLICABILIDADE LIMITADA	197
7. CONCLUSÕES	198

7.1. CONCLUSÕES ESPECÍFICAS.....	198
7.1.1. <i>Avaliação descritiva das IRM</i>	198
7.1.2. <i>Volumetria FS</i>	198
7.1.3. <i>Morfometria VBM/SPM</i>	199
7.1.4. <i>Tratometria e Conectividade Cerebral</i>	199
7.1.5. <i>Difusibilidade TBSS</i>	200
7.2. CONCLUSÃO GERAL.....	200
REFERÊNCIAS	202
A. ANEXOS.....	213
A.1. APROVAÇÃO DO CEP.....	214
A.2. LEVANTAMENTO MÉDICO DA CASUÍSTICA (PACIENTES DO ESTUDO).....	215
B. APÊNDICES	218
B.1. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	219
B.2. MANUSCRITO PARA PUBLICAÇÃO.....	221

1. Introdução

1.1. Estudo

1.1.1. Temática

Polirradiculoneuropatia é denominação concernente a uma síndrome neurológica que afeta diversos nervos periféricos concomitantemente, sobretudo em suas raízes. Chama-se de Inflamatória quando nesta síndrome são observados processos inflamatórios nos nervos acometidos pela sintomatologia pertinente. Diz-se Desmielinizante porque a bainha de mielina destes nervos tem sua integridade comprometida pela desmielinização (normalmente associada a processos imunomediados) e remielinização formando, em alguns casos, os característicos “bulbos de cebola” histologicamente observados nas biópsias dos nervos periféricos respeitantes a este acometimento. Define-se Crônica a neuropatia inflamatória cuja fase sintomática ultrapassa oito semanas. Forma-se assim a entidade nosológica Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica (PIDC).

1.1.2. Problema de pesquisa

O problema de pesquisa a ser investigado é o comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC) na PIDC. Busca-se identificar se há algum envolvimento cientificamente significativo e caracterizá-lo pela quantificação das alterações morfofisiológicas encontradas, valendo-se de uma análise de grupo do tipo caso-controle sobre os dados resultantes dos específicos processamentos de neuroimagens encefálicas adquiridas em exames de Ressonância Magnética.

1.1.3. Tipo de estudo

Clínico; tem seres humanos por sujeitos de pesquisa. Observacional; não experimental e não intervencionista. Analítico; não somente descritivo ou relato de caso, mas também comparativo por análise de grupo. Transversal; não longitudinal de coorte, sem prospecção ou retrospecção temporal, mas considera unicamente a data do exame. Caso-controle; possui o desenho característico de comparação controlada de duas amostras balanceadas e pareadas, entre um grupo-caso composto de pacientes com PIDC e um grupo-controle de voluntários saudáveis.

1.1.4. Delineamento

Os pacientes com PIDC tratados no Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP) da Universidade de São Paulo (USP) incluídos na pesquisa (atendidos os critérios de inclusão e observados os critérios de exclusão) foram submetidos a um único exame de Ressonância Magnética (RM) - sempre que aqui usado este termo e/ou sigla refere-se à técnica de imagem médica por ressonância magnética nuclear, não à ressonância magnética eletrônica e não a outra aplicação - seguindo um protocolo específico que possibilitou a execução dos processamentos das neuroimagens nos parâmetros exigidos para a avaliação da volumetria intracraniana segmentada, morfometria encefálica, tratometria e conectividade cerebral anatômica e da difusibilidade estatístico-espacial baseada nos tratos. O mesmo processamento foi feito com neuroimagens já adquiridas com as mesmas sequências e no mesmo aparelho com a mesma bobina e mesma configuração técnica para voluntários aprovados como controles normais pelo Centro de Ciência das Imagens e Física Médica (CCIFM) do HC-FMRP. A análise de grupo foi feita de forma intrínseca pelas próprias ferramentas computacionais usadas nos processamentos (produzindo mapas de probabilidades $1-h_0$ com correções de nível de significância para múltiplas comparações baseados em voxel ou tratos e espacialmente definidos em Atlas de coordenadas anatômicas)

ou por comparações estatísticas paramétricas de teste t (*estudante*) monocaudal para duas amostras pareadas (pares com mesmo gênero e, idade na data do exame, escolaridade e região geográfica semelhante) acompanhada de representações gráficas destas diferenças pela média (medida de tendência central) e erro padrão (medida de dispersão) dos valores de cada grupo.

1.1.5. Hipótese científica

A *priori*, a hipótese nula h_0 do teste bioestatístico foi de que o grupo-caso teria os mesmos resultados do grupo-controle para cada uma das variáveis resultantes avaliadas e esta hipótese foi rejeitada quando houve menos de 5% de probabilidade estatística disto ocorrer. Nas análises paramétricas cabíveis, os grupos tiveram seus sujeitos vinculados em pares com o mesmo gênero (masculino ou feminino) tendo valores semelhantes para idade aplicada em algumas análises como covariável. A *posteriori*, a escolaridade também foi vista semelhante entre os pares e a característica étnico-regional de ambos os grupos também são iguais, posto que todos são brasileiros caucasianos e da região sudeste. A hipótese científica assumida foi de que havendo uma diferença estatisticamente significativa para uma variável dependente comparada entre os grupos há o entendimento científico de que a PIDC relaciona-se com este achado. Não obstante, métodos de correções do nível de significância para múltiplas comparações foram usados em alguns processamentos, e ainda assim, para evitar falsos positivos, em alguns casos também foram usadas normalizações percentuais ou até mesmo a comparação com um terceiro grupo "teste" de sujeitos controles não pareados, para aumentar a significância científica dos achados.

1.2. Justificativa

1.2.1. Relevância social

O estudo usou do banco de imagens de controles normais aprovados no CCIFM do HC-FMRP, dispensando assim a aquisição de novos voluntários saudáveis. Os sujeitos de pesquisa chamados ao estudo foram somente os pacientes com PIDC tratados no HC-FMRP em 2013, aproveitando o traslado e leito/internação do dia de retorno já agendado. Posto o princípio da beneficência, esta pesquisa realizou exames diagnósticos sem custos aos voluntários e disponibilizou ressarcimento de despesas de traslado e alimentação. Os exames acompanham uma avaliação descritivo-radiológica especializada e os laudos emitidos são automaticamente disponibilizados no sistema de atendimento hospitalar (ATHOS) onde o médico responsável pelo paciente pode obtê-lo e se necessário providenciar o encaminhamento adequado à condição do paciente. Os pacientes voluntários foram convidados a participar do estudo e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) onde estavam assegurados em todos os seus direitos facultados pela lei, podendo, inclusive, interromper a participação a qualquer tempo, se considerassem o exame de ressonância magnética (RM) realizado (cujo protocolo de aquisição contou menos de trinta minutos em aparelho moderno e sem uso de contrastes) muito desconfortável (visto que o exame é razoavelmente ruidoso, e manter-se imóvel na maca do aparelho poderia engendrar em alguns pacientes reações claustrofóbicas), assim, respeitado o princípio da não-maleficência, este exame foi o único procedimento envolvendo os sujeitos de pesquisa e, não há, portanto, nenhuma evidência científica de que qualquer procedimento adotado durante o estudo venha a causar qualquer malefício a seus sujeitos de pesquisa voluntários.

1.2.2. Contribuição original

Caracterizar com parâmetros quantitativos o envolvimento do SNC na PIDC através do processamento de neuroimagens por ressonância magnética que evidenciam diferenças de valores na volumetria percentual, na morfometria segmentada, na tratometria e nos coeficientes de difusibilidade anatômica e conectividade cerebral é uma contribuição original e bastante razoável para se ampliar o entendimento científico da PIDC. Além disto, as técnicas de análises quantitativas e processamento de neuroimagens usadas podem ser disponibilizadas para aplicação em muitas outras investigações científicas, realizadas futuramente no CCIFM do HC-FMRP da USP ou outro centro de pesquisas.

1.3. Abordagem inicial sobre PIDC

1.3.1. Caracterização nosológica

A PIDC é uma entidade nosológica bem definida por critérios clínicos, eletrofisiológicos e histológicos. Caracteriza-se pelo acometimento simultâneo de várias fibras mielínicas dos nervos periféricos, sobretudo com sintomatologia de perda de sensibilidade e força muscular nos membros superiores e inferiores, proximal e distalmente, os sintomas persistem da fase aguda ultrapassando oito semanas tornando a síndrome crônica. A etiologia ainda ignorada tem sua base em processo imunomediados nos quais o próprio sistema imunológico do paciente desencadeia eventos de desmielinização e remielinização da algumas fibras nervosas sobretudo em suas porções de raízes e com sinais inflamatórios. Portanto é uma polineuropatia com sinais inflamatórios em processos de desmielinização e relinização imunomediados cronicamente estabelecidos e sem intermitência sintomática ou remissão na ausência de tratamento (imunossupressores e imunomoduladores) e com progressão superior a dois meses.

Nela normalmente estão presentes achados eletroneuromiográficos indicativos de uma desmielinização multifocal dos nervos somáticos (ALBERS and KELLY, 1989) - tais como; diminuição da velocidade de condução (cm/s) que pode estar combinada com uma amplitude anormal do potencial (mV); aumento da medida de latência distal (s) para acima do limite superior da normalidade podendo ter a amplitude do potencial normal ou não; Dispersão Temporal (DT) e Bloqueio de Condução (BC) do sinal em um ou mais nervos - e, em parte dos casos, pode-se documentar - através de biópsia de nervo - possíveis bulbos de cebola, sinais de desmielinização e remielinizações deformadas; ou ainda ter o nível de proteína no líquido céfalo-raquidiano (LCR) aumentado - mais de 45mg/dl de proteínas no LCR e associada também com latência, ausência de onda F, alterações de reflexo H e/ou maior hipossensibilidade nas fibras grossas. (Barhon, AAN, Saperstein, Nicolas, EFNS, Koski, Thaise, Incat, Albers, Vanderberg e Magda, são alguns critérios internacionais de classificação diagnóstica da PIDC). Epidemiologicamente, a prevalência da PIDC na população mundial está estimada entre 2 e 7 casos por 100 mil habitantes. (MERKIES et al., 2009) A faixa etária mais frequente está entre 40 e 60 anos, com uma ligeira predominância do gênero masculino. (YOON, CHAN AND GOLD, 2011)

1.3.2. Doenças sistêmicas associadas

Caracterizada pelo achado de desmielinização e remielinização, associadas à presença de macrófagos entre os processos de células de Schwann, com preservação dos axônios, relacionados ou não a infiltrados inflamatórios endoneurais. A desmielinização e remielinização, por vezes, conduzem à constituição de bulbos de cebola, podendo haver perda axonal de intensidade variável. Perdas axonais maiores têm maior chance de engendrar sequelas definitivas. Doenças do tecido conjuntivo, Linfoma, Transplantes de órgãos e da medula óssea, Doença de Castleman, Síndrome nefrótica, Diabetes-mellitus, Mieloma osteoclerótico, Neuropatia sensitivo-motora hereditária, Tireotoxicose, Síndrome de Crow-

Fukase, Síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), Gamopatias monoclonais de significado incerto, Gamopatia monoclonal, Doenças do colágeno, Desmielinização do sistema nervoso central, Hepatite C, Doença inflamatória do intestino e Doença de Hodgkin.

1.3.3. Fisiopatologia, aspectos evolutivos e tratamento

Particularmente pela resposta terapêutica favorável obtida com o uso de imunossupressores e imunomoduladores, há um apreciável conjunto de evidências a sugerir que sua base etiológica seja autoimune. (LEWIS, 2007) Considera-se que na ausência de tratamento apenas um terço dos casos evolui sem agravamento. A evolução pode ser contínua ou intermitente-recorrente e, do ponto de vista evolutivo, há formas recorrentes de evolução semelhantes à esclerose múltipla. Ciclofosfamida e ciclosporina podem ser eficazes no tratamento da PIDC. Contudo, as alternativas terapêuticas, cujas eficácias foram comprovadas através de estudos prospectivos, controlados e randomizados, incluem corticosteróides e imunoglobulina humana endovenosa (IgIV) em altas doses e, eventualmente plasmaférese. IgIV mostra-se superior a corticosteróides, mas considerado o alto custo, estes últimos são considerados como primeira escolha. (LEWIS, 2007) Neuropatias inflamatórias são síndromes que acometem os nervos periféricos, elas podem ser adquiridas e, ocasionalmente, estarem associadas ao comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC). Podem ocorrer em qualquer faixa etária. O curso pode ser monofásico, recidivante (intermitente recorrente) ou progressivo. Podendo ocorrer em fase aguda (até quatro semanas) ou crônica (mais de oito semanas). (WHITESELL, 2010) Das principais neuropatias inflamatórias destacam-se; a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) e a Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica (PIDC), esta última também pode ter seu primeiro termo identificado como Polineuropatia, (o termo radiculopatia indica que a neuropatia afeta mais a raiz dos nervos periféricos). A Neuropatia Motora Multifocal (NMM), a Síndrome de Lewis-Summer, a Síndrome de Fisher e a Encefalite de Bickerstaff (as duas primeiras,

crônicas e as duas últimas agudas) são outras polineuropatias periféricas descritas. (WHITESELL, 2010)

1.4. Revisão geral sobre PIDC

1.4.1. Epidemiologia e clínica

Como visto a PIDC tem uma prevalência de cerca de cinco casos por cem mil habitantes (GORSON, 2009) e pode ocorrer em qualquer faixa etária, sendo mais frequente em adultos, sabe-se que em jovens o curso da síndrome é predominantemente do tipo intermitente-recorrente e em idosos progressivo. (LEWIS, 2007; WHITESELL, 2010)

Principais características clínicas e patológicas da PIDC:

- a) Progressão de sintomas por mais de dois meses;
- b) Sintomas predominantemente motores;
- c) Comprometimento simétrico dos membros;
- d) Comprometimento simultâneo dos músculos proximais e distais;
- e) Profunda redução ou ausência de reflexos dos tendões;
- f) Elevação na concentração de proteínas no LCR (LCR) sem leucocitose;
- g) Alterações de condução nervosa compatíveis com neuropatia desmielinizante. (LEWIS, 2007)

A PIDC pode ser distinguida de outras neuropatias periféricas crônicas comprimento-dependente devido à fraqueza global dos músculos das extremidades superiores e inferiores (proximal e distalmente), redução geral ou ausência dos reflexos tendinosos e curso caracterizado como agressivo. Os casos típicos são bem simétricos e o envolvimento motor é

maior do que os sensitivos. Os nervos cranianos e bulbares podem ser comprometidos em até 20% dos casos e a disestesia dolorosa pode ser observada em menor proporção. Há predomínio de comprometimento da sensibilidade vibratória, com preservação da dor e da temperatura, refletindo o maior envolvimento das fibras mielínicas de grande calibre. Retenção urinária e constipação podem ocorrer, mas não são habituais. Dores lombares podem estar presentes. Hipertrofia das raízes nervosas raramente ocorrem, sintomas de estenose do canal vertebral lombar e síndrome da cauda equina podem ocorrer (LEWIS, 2007).

1.4.2. Critérios para diagnóstico

O diagnóstico de PIDC está muito relacionado a achados eletrofisiológicos indicativos de desmielinização. Inúmeros critérios diagnósticos têm sido propostos, com sensibilidade que varia entre 30% e 90% e especificidade entre 90% e 100% (WHITESELL, 2010).

Estudos laboratoriais sobre a elevação da concentração de proteínas no LCR podem ajudar, pois está presente em 80% dos casos dos pacientes com PIDC. Teste laboratorial de para-proteína é importante. Soro e urina para proteína eletroforese com imunofixação podem ser obtidas. Se a proteína monoclonal for identificada contagem de leucócitos, nível de cálcio no soro e função renal é importante. Se a proteína monoclonal estiver em concentração aumentada, imagens e biópsia da medula óssea são recomendadas (WHITESELL, 2010).

1.4.3. Variantes clínicas

A distinção entre SGB e PIDC está associada à fase ou tempo de progressão da síndrome. SGB é uma síndrome aguda com surto-remissão de três a quatro semanas. A PIDC, por sua vez, é uma síndrome que continua a progredir ou tem reincidências por mais de oito semanas. Pacientes que possuem recaídas entre esses os dois períodos de tempo são classificados com quadro compatível ao de polineuropatia desmielinizante inflamatória

subaguda. O início da SGB e os eventos que o antecedem são facilmente identificados (doença infecciosa, vacina, etc.), ao passo que a PIDC não. (LEWIS, 2007) A PIDC pode ser observada em termos de variantes clínicas, sensoriais, imunopatogênicas, eletrofisiológicas e envolvimento do SNC. A Síndrome de Lewis-Summer (SLS) é uma variante clínica da PIDC, distinguida pela sua característica multifocal. Ela é considerada uma mononeuropatia múltipla com sintomas sensoriais ou motores em distribuições nervosas individuais. Normalmente a SLS era uma desordem confundida com a Neuropatia motora multifocal. Entretanto, estudos mostraram diversas diferenças entre ambas, evidenciando que a SLS é uma variante clínica da PIDC, ao passo que a Neuropatia Motora Multifocal (NMM) é uma forma distinta de PIDC. (LEWIS, 2007). A forma sensitiva predominante na PIDC pode apresentar apenas sintomas sensoriais clínicos e sinais relacionados a problemas de equilíbrio, dor, parestesia e disestesia. Quinze por cento dos pacientes com PIDC podem apresentar sintomas sensoriais e ataxia como sintoma predominante ou único. Apesar da ausência de fraqueza, os estudos de condução nervosa demonstram lentificação na velocidade de condução e outras características desmielinizantes. Alguns pacientes podem apresentar sintomas sensoriais, como fraqueza, comportando-se como aqueles que possuem a forma motora. Outros apresentam apenas sintomas sensoriais, apesar das anormalidades na condução motora. Neste contexto, a Polineuropatia Sensitiva Desmielinizante Adquirida (PSDA) pode ou não conter a paraproteína imunoglobulina (Ig) do tipo M. A PSDA com paraproteína Ig-M com sem anticorpos anti-MAG são considerados distintos de PIDC, ao passo que PSDA sem a paraproteína é uma variante da PIDC. (LEWIS, 2007)

1.4.4. Envolvimento imunopatogênico

Embora a causa da PIDC e suas variantes sejam desconhecidas, há fortes evidências que suportam o conceito de que essas desordens são imunologicamente mediadas. (LEWIS, 2007) A característica fisiopatológica principal da PIDC é a desmielinização, que pode ser

determinada por exames eletrofisiológicos (eletroneuromiografia) ou por biópsia de nervo (histologia). Estudos de condução de nervo possuem um componente crítico para a avaliação. Existem mais de 10 critérios publicados, designados a definir os parâmetros das mudanças de condução, que refletem em neuropatia desmielinizante (PIDC, NMM, SGB). Para determinar o quanto o estudo de condução aponta para uma neuropatia desmielinizante, eletroneuromiografistas devem ter certeza de que os achados não são resultados de uma perda axonal, ou compressão ou ainda de questões técnicas. É suspeitável e digno de mais investigações se apenas uma ou duas mudanças segmentais são encontradas nos quatro membros. A biópsia de nervo é um componente importante como critério primário para diagnóstico de PIDC para que outras anormalidades não causem confusão (amiloidose, sarcoidose, vasculite). O processo inflamatório (que não é muito frequente) é multifocal, similar às neuropatias inflamatória agudas, resultando em desmielinização segmentar. Secundariamente, a perda axonal pode ocorrer devido ao processo inflamatório (LEWIS, 2007). Os fatores patológicos incluem desmielinização, remielinização com ocasionais formações em bulbo de cebola e infiltrados inflamatórios no nervo (WHITESELL, 2010). Existem vários graus de edema intersticial e infiltrados de células inflamatórias endoneurais, incluindo linfócitos e macrófagos. Os macrófagos iniciam a desmielinização desenrolando e degradando a mielina. Mas, esta característica não é comumente encontrada na maioria das amostras (LEWIS, 2007). O acometimento do SNC é uma variante que pode acometer os pacientes com PIDC. Estudos de pacientes com esta forma da PIDC têm sido descritos (MENDELL et al., 1987), mas ainda não são claras as definições ou mesmo o reconhecimento desta entidade na literatura.

1.4.5. Envolvimento imunopatológico

Apesar das causas da PIDC e suas variantes serem desconhecidas, existem evidências que sustentam a hipótese de mecanismos imunomediados nestas síndromes. Os componentes

humorais e celulares do sistema imune podem estar envolvidos. A ativação de células T, e a passagem da barreira hematoencefálica pela ativação das células T ao longo das expressões de citosinas que regulam processos inflamatórios, fator de necrose tumoral (FNT), *Interferons* e interleucinas (LEWIS, 2007). Evidências experimentais têm mostrado que o transporte de imunoglobulina humana purificada de um paciente com PIDC causa bloqueio de condução e desmielinização em ratos (YAN; TAYLOR; ANDRIAS-KAUB, et al., 2000; apud WHITESELL, 2010). Estudos mostraram que o aumento da frequência de alterações de células T periféricas circulantes (TAYLOR and HUGHES, 1989), níveis de interleucina-2 (IL-2) e receptores solúveis de IL-2 (HARTUNG, HUGHES and TAYLOR, 1990). As analogias relacionadas ao curso clínico e patogênese têm tradicionalmente relacionado PIDC à EM e da existência de coexistência entre a PIDC e EM. Mesmo assim, não há uma definição se essa relação é incidental ou devido a um mecanismo patogênico compartilhado por ambas as síndromes. (COMI, FLEETWOOD and DIANZANI, 2012) Outros achados sobre a triagem dos antígenos leucocitário humano (ALH) na Polineuropatia Desmielinizante Inflamatória Crônica têm sugerido uma associação entre PIDC e os antígenos ALH tipo DR2 e A3 (MCLEOD, 1986 apud THOMAS et al., 1987), que também estão associados com a esclerose múltipla (MCDONALD, 1984; THOMAS et al., 1987). Nos pacientes de PIDC o ALH típico desses pacientes mostrou um aumento global nas frequências de ALH dos tipos A3, B7 e DR2, bem como, as frequências diminuídas concomitantemente em ALH tipo 44 e DR7. Associações mais significativas foram observadas com o ALH tipo DR2, DR7 e-B44 na PIDC em geral, embora não tenham alcançado significância estatística. (FEENEY et al., 1990) Um estudo sobre as consequências das lesões axonais ou desmielinizante no citoesqueleto axonal através da comparação da densidade das fibras, marcadas por anticorpos antineurofilamentos (NF) e beta tubulina (β TUB). Os pesquisadores consideraram que em lesões desmielinizantes como a PIDC as fibras marcadas por TUB não sofreram alterações, mas na EM foram

significativamente diminuídas. As fibras marcadas com NF foram muito reduzidas na EM (onde a perda de axônio foi proeminente) e nas densidades das fibras na PIDC ($<3900/\text{mm}^2$). Os autores sugeriram que o mecanismo inicial de uma síndrome, seja por degeneração axonal ou desmielinização podem resultar num padrão específico de alterações do citoesqueleto axonal (FRESSINAUD, JEAN and DUBAS, 2005). Pesquisas sobre o genótipo homozigoto GA13-16, promotor do gene SH2D2A (responsável por codificar células T específicas, que por sua vez, adapta a proteína envolvida no controle negativo da ativação de células T), tem sido associado com a susceptibilidade de desenvolver esclerose múltipla. Foram genotipados a região promotora de SH2D2A em pacientes com PIDC e controles saudáveis. Foram identificadas associações significativas entre PIDC e o genótipo homozigoto GA13-16. Os autores supõem que este genótipo está associado com a susceptibilidade para desenvolver PIDC e podem estar implicados na reincidência da síndrome (NOTTURNO, PACE and DE ANGELIS, 2008). Por fim, a revisão sobre PIDC evidenciou que não há estudos publicados que caracterizam o envolvimento subclínico da PIDC com o SNC e para fazê-lo o uso de técnicas quantitativas de imagem por ressonância magnética parece ser bastante apropriado, pelo que isto permite o processamento de neuroimagens com análises estatístico-computacionais.

1.5. Abordagem inicial sobre RM

1.5.1. RM como técnica física

RM é a fenomenologia física responsável pela exequibilidade da técnica homônima de imagens médicas, que em vernáculo, também é identificada pela expressão Imagem por Ressonância Magnética, ou por seu acrônimo IRM, ou ainda por seu correspondente em inglês, MRI - *magnetic resonance image* - todas referindo-se ao fenômeno de ressonância magnética nuclear para átomos de hidrogênio. A seguir, são apresentados alguns tópicos para

o entendimento desta técnica de imagem que posteriormente aparecerá como exame médico exigido de todos os sujeitos de pesquisa sendo brevemente apresentado quanto aos parâmetros ajustados (sequências de pulsos e padrões de aquisição para o processamento do sinal) para obtenção das neuroimagens desejadas no tópico respeitante que trata do protocolo de aquisição para este estudo. Num sistema físico qualquer onde há uma oscilação harmônica, ou onde seus elementos seguem um movimento periódico qualquer, é factível uma interação com sistema estimulador mediante uma transferência de energia. Esta condição ótima de transferência de energia é conhecida como “ressonância”, situação na qual a energia flui entre os dois sistemas físicos com o máximo rendimento sendo, portanto, mister o casamento de impedâncias entre os sistemas. Noutras palavras, casar impedâncias entre sistemas é garantir duas condições elementares para que haja uma ressonância entre eles. A primeira é que a estimulação feita sobre o sistema tenha uma frequência válida {condições onde o sistema oscila com frequência igual [ou múltiplo-harmônica] àquela natural do sistema}. A segunda condição é que haja coerência de fase {acoplamento entre os sistemas oscilantes [principal e estimulador] mediante o sincronismo das fases, impedindo atenuações antiparalelas [mesma direção (sentido oposto)]} entre o sistema estimulador (ou, estimulação) e os elementos excitados no sistema oscilante principal. Deste modo, há uma técnica física para se adquirir imagens por ressonância magnética (IRM). Nesta técnica, um campo $\mathbf{B}_0$ constante [as incógnitas em negrito representam grandezas vetoriais], com alta indução magnética (p.ex. 3T, [T = Wb/m² ou kg/s²A]) é aplicado no eixo azimutal (longitudinal ao túnel horizontalmente disposto no aparelho) e promove o alinhamento dinâmico com precessão, num meio biológico comum, de aproximadamente três ppm (partes por milhão) dos momentos magnéticos intrínsecos nucleares dos átomos de ¹H {principal isótopo do elemento químico hidrogênio (H) conhecido pelo mesmo nome, [ou pelos nomes prótio e monotério (hidrogênio leve)] cujo núcleo é composto por um único próton, portanto, possui massa

atômica igual a 1uma (unidade de massa atômica), diferindo-se assim do isótopo ^2H conhecido como deutério, cujo núcleo possui um próton e um nêutron e do isótopo ^3H conhecido como trítio, cujo núcleo possui um próton e dois nêutrons}, presentes nas moléculas de água e na maioria das biomoléculas que compõem os tecidos biológicos. Porém, a abundância natural deste isótopo (^1H) permite desprezar as suas variantes como o deutério e o trítio e embora 03ppm seja uma pequena fração, o abastamento de ^1H no tecido biológico, justaposto à quantidade macroscópica de tecido, [haja vista a aplicação do número de Avogrado (NA) resultando em $6,022 \cdot 10^{23}$ átomos por mol], são fatores que garantem a utilização deste fenômeno para detectar sinais plausíveis à geração de imagens. Um pulso de campo magnético $\mathbf{B}_1$ oscilando em radiofrequência (RF) é aplicado no plano axial. Este campo tem indução magnética milhares de vezes menor que o campo principal (p.ex. $300\mu\text{T}$) porém por estar em ressonância com a frequência de precessão dos momentos magnéticos intrínsecos dos núcleos de ^1H excitados por $\mathbf{B}_0$ consegue defletir a orientação do vetor magnetização {representante macroscópico do conjunto de momentos magnéticos de ^1H alinhados e em fase} em continuada precessão azimutal para o plano axial. Isto depende da frequência de precessão e do “tempo do pulso” aplicado que pode ser dito em “graus” por alusão ao ângulo de deflexão promovido no vetor magnetização com relação ao alinhamento inicial. Terminada a estimulação do sistema o campo $\mathbf{B}_1$ aplicado no plano axial por RF é retirado e o ruído magnético engendrado no material excitado promove processos de relaxação e é a leitura do sinal desta relaxação, bem como sua identificação no espaço da fonte deste sinal captado, que permite a formação da imagem, pois cada tecido terá uma relaxação diferente e esta diferença no sinal adquirido gera um contraste na imagem que identifica o ponto espacial que gerou cada sinal. Fisicamente estes processos podem ser vistos por duas componentes separadas. Uma componente é a do eixo azimutal que num sistema de coordenadas girantes onde pode ser visto um crescimento, de zero tendendo à magnetização

máxima se um pulso de noventa graus for aplicado. Este processo de relaxação ocorre mais rapidamente nos tecidos, com ruídos magnéticos próximo à frequência de estimulação, no caso da RM, e esta relaxação é regida por uma constante do material, chamada tempo de relaxação T_1 que no caso da ressonância magnética nuclear de ^1H é muito pequeno em macromoléculas como as gorduras, pequeno em líquidos como a água e muito longo em meios sólidos como o osso. A outra componente de relaxação do sistema que retorna para seu estado de menor energia após a aplicação de um pulso de RF é a componente do plano axial que ocorre majoritariamente, mais célere, por causa da perda de coerência de fase que ocorre devido ao ruído magnético. Comparando-se com a frequência do campo de RF usado na estimulação; o ruído magnético das frequências mais altas promove uma perda de coerência de fase menos significativa que a perda de fase na precessão de momentos magnéticos nucleares com frequência de ruído magnético baixa, isto é, menor que a de precessão. Sabendo-se então que a frequência de ruído magnético é menor nos sólidos, intermediário nas macromoléculas e grande nos líquidos; Temos entendido que, este processo de relaxação leva, após a aplicação de um pulso de noventa graus, o vetor magnetização de seu valor máximo para o mínimo, mantendo precessão azimutal. Isto engendra uma função da componente planar axial da magnetização em função do tempo tal qual um oscilador harmônico amortecido, cujo amortecimento é regido pelo tempo de relaxação T_2 , mediante a perda de coerência de fase pelo ruído magnético. Bobinas magnéticas atuam como sensores e capturam o sinal magnético oriundo da emissão estimulada do meio biológico em qualquer eixo ou plano desejado, podendo-se ter uma imagem com contraste ponderado em T_1 ou em T_2 , além da relação intrínseca entre a densidade de prótons (DP) nos tecidos. As ponderações em T_1 ou em T_2 são diferentes e não-complementares, pois envolverem relaxações ligeiramente distintas e em complementaridade atuam melhorando a precisão do diagnóstico por imagem, afinal é possível perceber que sinais ósseos são vistos em ambas as ponderações como pontos

escuras, embora muitos tecidos possam ser vistos mais claros numa ponderação e mais escuros na outra. Num sistema com transferência de energia por ressonância magnética, a velocidade angular ω pode ser obtida, pela equação de Larmor que a relaciona com campo magnético aplicado por uma constante chamada de razão giromagnética γ , pela qual se expressa fisicamente a distribuição espacial de cargas do sistema, sendo, portanto, uma característica do tipo de meio que constitui o sistema.

$$\omega = \gamma B \Rightarrow \begin{cases} U = \vec{\mu} \cdot \vec{B} \Leftrightarrow \Delta E = h\nu = \hbar\omega \\ \vec{\mu} = g \frac{q_e}{2m_p} \hat{J} \therefore \vec{\mu} = \gamma_p \hat{J} \\ \hat{J} = m_j \hbar = \sqrt{j(j+1)} \hbar \therefore \|\hat{J}\| = \hbar \\ U = \hbar\omega = \vec{\mu} \cdot \vec{B} = \gamma \hat{J} \cdot \vec{B} = \gamma B \hbar \\ U = \hbar\omega = \gamma B \hbar \\ \Rightarrow \omega = \gamma B \end{cases}$$

A velocidade angular do sistema pode ser expressa pela equação de Larmor, definida como a multiplicação do módulo do campo magnético, B, com a razão giromagnética γ [no caso da IRM, definida para um próton ou núcleo de ^1H]. A origem da razão giromagnética é o fator giromagnético g – que é uma constante para a partícula de interesse, por exemplo, o núcleo de ^1H , ou de um próton – em produto com a razão entre a carga elétrica [no caso, elétron ou próton, igual em módulo] e a massa da partícula observada [no caso, o próton].

$$\gamma_p = g_p \frac{q_e}{2m_p} = \left\| \frac{\vec{\mu}}{\vec{J}} \right\|$$

Esta equação descreve a razão giromagnética porque é a razão entre o momento magnético μ e o momento angular total J , pela qual se define a frequência de Larmor. Sendo o fator giromagnético de um próton $g = 5,6$ e sabendo-se que a massa do mesmo é $1,67 \cdot 10^{-27} \text{ kg}$ e a carga do elétron é $+1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$; obtemos a constante giromagnética γ do ^1H que é $2,67$

10^8 rad/s/T e que pode ser expresso como 42,6 MHz/T, onde, aplicando a equação de Larmor obtemos qual a frequência de RF devemos usar em $\mathbf{B}_1$ [mT] axial para obter a ressonância com os núcleos de hidrogênio do meio sobre o qual aplicou-se um dado $\mathbf{B}_0$ [T] azimuthal. De mesma sorte, usa-se fazê-lo para outro núcleo qualquer [com *spins* desemparelhados] com o qual queiramos obter a ressonância na transferência de energia, ou mesmo para elétrons ao invés de núcleos atômicos, no caso Ressonância Magnética Eletrônica (RME). As transições de energia podem ser espontâneas ou estimuladas. Quando um sistema adquire energia de atua em transição no nível alfa para o beta de maior energia, dizemos que ele absorveu os *quanta* de energia necessário para esta transição de uma estimulação externa, portanto, este fenômeno é chamado de absorção estimulada e tem probabilidade de ocorrência dada pela densidade de energia de espectro em produto com uma constante de Einstein para absorção estimulada, num dado intervalo de tempo. Para quando a energia final é menor que a inicial, temos um processo de emissão onde o sistema libera energia tornando ao estado de menor energia. Se esta transição ocorrer de forma espontânea dizemos se tratar da emissão espontânea cuja probabilidade de ocorrência é relativamente pequena (menor que a estimulada) e dada pela constante de Einstein para um dado intervalo de tempo sendo independente da energia de espectro. Por último tem-se a “emissão estimulada”, quando um sistema promove uma transição passando de um estado de maior energia para outro de menor energia após ter recebido uma estimulação de mesmo *quanta* de energia, a emissão estimulada ocorre com maior probabilidade que a espontânea, pois num dado intervalo de tempo relaciona o coeficiente de Einstein para emissão estimulada e a densidade da energia de espectro da estimulação feita sobre o sistema. Sistemas não-isolados têm a magnetização $\mathbf{M}$, que assume o papel do momento de dipolo magnético na escala macroscópica dependente da interação entre os inúmeros elementos que a compõe, ou seja, interação entre si, e com a rede toda.

Fisicamente, esta interação atua como um ruído magnético que promove flutuação no campo o que modifica a equação de movimento da magnetização comparada com o caso teórico de um momento de dipolo magnético isolado. Ou seja, quando o campo $\mathbf{B}_1$ é retirado, processos de relaxações são engendrados por este ruído magnético, de modo que a magnetização pode ser vista com sua equação de movimento em duas componentes separadas. A componente azimutal e a componente axial, sem modelagem teórica factível, dado o grande número de interações que necessitam serem descritas como pré-requisito uma equação diferencial para cada componente da magnetização foi elaborada considerando-se as constantes empíricas T_1 e T_2 , para um dado material, uma vez que dependem da frequência do ruído magnético que por sua vez depende da interação entre os elementos do meio que é uma característica física do material. A constante do meio observado na RM, que expressa o tempo necessário para que o vetor magnetização defletido ortogonalmente relaxe e atinja 63% de sua magnetização inicial (total) M_0 no eixo do campo principal azimutal. A relação entre o tempo de relaxação T_1 e a magnetização depende de como o material gera o ruído magnético, comparando a frequência desse ruído com a de estimulação da RF de ressonância, quanto mais próximos forem os valores, maior será a probabilidade de ocorrer emissão espontânea e mais rápida será a relaxação. Por exemplo, após um pulso de noventa graus, M_z sai de zero para tender a máxima magnetiza M_0 , logaritmicamente. No caso da RM de ^1H o ruído promove um T_1 longo para sólidos como osso, e muito curto para macromoléculas como gordura.

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \therefore \text{se} : \begin{cases} t = T_1 \\ M_z(t) = M_0 \left(1 - \frac{1}{e} \right) \Rightarrow M_z(T_1) = 63\% M_0 \end{cases}$$

Para imagens ponderadas em T_1 tem-se que, neste tempo, o valor do sinal é de 63% da magnetização máxima neste tipo de tecido, logo diferentes tecidos, apresentam diferentes

valores, engendrando o contraste. Já o T_2 é a constante que relaciona como o ruído magnético da material, influencia na perda de coerência de fase no movimento de precessão da Magnetização ao voltar para o eixo azimuthal e visto o no plano axial a M_{xy} , para o caso de um pulso de noventa graus, por exemplo, sai do valor máximo M_0 , para tender a zero, um movimento de precessão em torno de z que é reduzido pelo T_2 , ao longo do tempo temos uma magnetização axial variando como um oscilador harmônico amortecido. Logo, extrapolado significado de T_2^* o T_2 deve ser entendido como uma constante do meio observado na RM, que expressa o tempo necessário para que o vetor magnetização defletido ortogonalmente relaxe e atinja 37% de sua magnetização axial (M_{XY}) total.

$$M_{xy}(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}} \therefore se: \begin{cases} t = T_2 \\ M_{xy}(t) = M_0 \left(\frac{1}{e} \right) \end{cases} \Rightarrow M_{xy}(T_2) = 37\% M_0$$

Para imagens ponderadas em T_2 tem-se que, neste tempo, o valor do sinal é de 37% da magnetização máxima no referido tipo de tecido, logo, diferentes tecidos apresentam diferentes valores e engendram os contrastes deste tipo de ponderação.

1.5.2. RM como técnica de imagem

Uma IRM pode ser ponderada em densidade de prótons e tempos de relaxação, T_1 ou T_2 , cada qual com uma sequência adequada de pulsos de RF e leitura do sinal e, outras sequências mais elaboradas permitem alterar o tipo de contraste da imagem e até elaborar mapas quantitativos. Por exemplo, saturação e recuperação (SR), inversão e recuperação (IR) e spin-eco (SE), inversão e recuperação com atenuação de fluidos (FLAIR), transferência de magnetização (TM), relaxometria, imagem por tensor de difusão (ITD) e muitas outras. A sequência de pulsos é escolhida ao se analisar o tipo de exame a ser feito, tal como, quando se deseja saturar uma capa de gordura sobreposta à região de interesse (ROI), ou quando se quer verificar a densidade de uma dada região ou mesmo para identificar se a ROI é constituída de

um dado material cujas características já são conhecidas (densidade ou tempos de relaxação). Já a detecção é feita por bobinas, sempre numa direção incidente ou oblíqua do plano axial, XY (plano de detecção) e o sinal, por exemplo, um espectro de oscilações amortecidas, é digitalizado, e decomposto em frequências por um algoritmo discreto de transformada rápida de Fourier (FFT). As baixas frequências identificam diferentes meios quando ponderados em DP e T_1 ou T_2 e as amplitudes, proporcionais à intensidade do sinal indicam o brilho dos meios provenientes e realçam o contraste na imagem. Já a posição vem das frequências mais altas (próximo às de Larmor) que identificam as colunas, as outras frequências identificam as linhas (e representadas pela decodificação das fases, presente na parte imaginária da transformada de Fourier do sinal capturado) e a imagem corresponde ao tomo selecionado na aplicação do gradiente de seleção de fatia (e cuja espessura é dada em função da inclinação do gradiente de seleção e da largura do pulso de RF) aplicado junto com o pulso de RF. Deste modo, o volume selecionado tem a espessura do voxel {unidade volumétrica [geralmente em forma de paralelepípedo (cúbico)] com resolução espacial ótima para volume real de 1 mm^3 } e planos definidos com o denominado gradiente de seleção de fatia (GSF) podendo ser o GSF aplicado num eixo dado pela combinação das bases XYZ e sendo o plano da imagem ortogonal a este eixo, logo é possível construir uma imagem tomográfica no plano G_z : axial, G_y : coronal, G_x : sagital ou $G_{x,y,z}$: oblíquo. A saber, correntemente, em MRI, usa-se a aquisição de imagens anatômicas em três dimensões (3D), seja qual for o plano de fatiamento do volume de interesse (VOI). Primeiramente, aplica-se o campo B_0z , e por ele alinham-se os momentos magnéticos do tecido engendrando uma magnetização Mz . Em seguida, aplica-se um sinal de RF (ω_0) e um gradiente de seleção de fatia, de modo que apenas a fatia selecionada pelo GSF sofre a transferência de energia pela ressonância do RF e rotaciona seu vetor magnetização conforme o pulso aplicado (por exemplo, um pulso de noventa graus). Em consequente, aplica-se um gradiente de codificação de fase (GC_{fase}), perpendicular ao GSF que

identifica as linhas do tomo ao ser aplicado somente por um tempo determinado, pois muda da frequência angular dos momentos de dipolo magnético enquanto é aplicado e ao ser desligado a frequência retorna à mesma, porém a fase não mais varia e permanece codificada uma defasagem. Por fim, aplica-se um gradiente perpendicular aos outros dois anteriores junto com o a leitura do sinal, este é o gradiente de leitura ou gradiente de codificação de frequência (GCF) que identifica das colunas do plano de imagem. Entretanto o sinal detectado no plano XY é decodificado por uma dupla transformada de Fourier, convertendo o sinal do domínio temporal para o domínio de frequências e em representações matriciais sucessivas que codificam frequências espaciais num domínio chamado de Espaço-K (E-K) [matriz de frequências espaciais (variações de sinais no espaço) obtido normalmente pela Transformada de Fourier Bi-dimensional de um sinal temporal, valendo-se de sua partição real, dos números complexos], no qual se aplicam combinações de domínios complexos {sinais reais e imaginários [advindo de codificações angulares dos sinais obtidos pelos detectores]} e seguidamente faz-se a transformada bidimensional inversa para composição da imagem médica resultante. Vale dizer que o tempo de imagem (anatômica) é relativamente alto por que dos sinais detectados uma aquisição, não se reconhecem fases codificadas pelo GC_{fase} nas linhas do plano de imagem selecionado, logo é preciso transformá-las em frequência, e isto é obtido ao aplicar-se o GC_{fase} várias vezes seguidas de uma leitura, ou seja, é mister uma aquisição por coluna, vezes o número desejado de colunas na imagem; em razão disto há um tempo de exame razoável para aquisição das imagens anatômicas de alta resolução, o suficiente para permitir a ocorrência artefatos pelo movimento do sujeito examinado, neste ponto assiste o interesse investigativo para o melhoramento geral desta excelente técnica de imagem médica.

1.5.3. Técnicas quantitativas de IRM

O sujeito ou objeto a ser escaneado é posto na maca de um tomógrafo e submetido a um campo $\mathbf{B}_0$ de alta indução magnética. Neste campo de forças magnéticas, os momentos de dipolo magnéticos dos prótons - *momentos magnéticos protônicos intrínsecos* - presentes nos núcleos dos átomos de hidrogênio abundantes nos tecidos biológicos (com muita água e biomoléculas com hidrogênio) são induzidos a se alinharem - embora poucos destes dipolos se alinhem, a superabundância deles é suficiente para a mensuração do efeito - formando um vetor magnetização $\mathbf{M}_0$ resultante do somatório destes dipolos. O campo $\mathbf{B}_0$ é projetado para ser o mais homogêneo possível na ROI do tomógrafo, assim a aplicação de um campo magnético gradiente linear longitudinal atua como um pulso em RF e ressoante com a frequência de Larmor – para a razão giromagnética do hidrogênio, no caso – promove uma defasagem desejada (p.ex. 90° , que desloca a magnetização $\mathbf{M}_0$ do eixo azimutal para o plano axial), atuando como um gradiente de pulso seletor de fatia. Assim uma região do plano XY da fatia selecionada tem seus valores de $\mathbf{M}_0$ codificados e decodificados para que ao final do processo se saiba qual intensidade de sinal é proveniente de qual ponto (coordenada XY que forma um pixel, da fatia e um voxel do tomo) do espaço. Se o sinal medido for correspondente à relaxação no eixo azimutal do vetor magnetização $\mathbf{M}_0$, temos uma imagem ponderada em T1, pois T1 corresponde ao tempo necessário para que o sinal $M(z)$ atinja ~63% de seu valor inicial máximo $M_0(z)$, ou seja, em cada tecido esta relaxação é diferente e, portanto, cada tecido tem seu T1 característico. Já se o sinal adquirido for referente à magnetização axial $M(x,y)$, que atenua-se pela perda de coerência de fase entre os dipolos (efeito de rede da nuvem eletrônica adjacente), temos uma imagem ponderada em T2 ou T2*, sendo que T2 corresponde ao tempo necessário para que o $M(x,y)$ seja atenuado a aproximadamente 37% do seu valor inicial $M_0(x,y)$. Além disto, toda imagem é ponderada, ainda que esta participação seja pequena, em densidade de prótons, pelo simples fato de que

um meio com muitos prótons de hidrogênio passíveis de boa magnetização dipolar (como a água) terá um sinal maior do que outro com poucos ou pouquíssimos prótons de hidrogênio (como osso ou ar).

Para a aquisição das imagens aplica-se um protocolo que define o posicionamento correto do sujeito ou objeto no tomógrafo, a instalação da bobina de aquisição adequada e a escolha, conforme as características do aparelho, da sequência de pulsos e gradientes que é feita durante a aquisição. Basicamente sempre há um campo $\mathbf{B}_0$ de alta indução, um gradiente de campo ressonante em RF para seleção da fatia, um gradiente para codificação de fases que determina as linhas espaciais do sinal adquirido e um gradiente de campo junto com o pulso RF de leitura para codificação de fase e determinação das colunas espaciais do sinal adquirido. Como não é possível determinar com uma única aquisição as frequências embutidas no sinal resultante, são feitas inúmeras aquisições (uma para cada coluna, sal se aquisição paralela ou aceleradas) para se determinar a frequência de cada uma mediante a variação das frequências em cada linha. Assim uma transformada rápida de Fourier (FFT) – discreta, computacional e bidimensional – é realizada para se montar um espaço K – de frequências especialmente codificadas em valores temporais – e seus valores imaginários correspondentes, ao fim estes valores são combinados numa transformada inversa – bidimensional, computacional e discreta – formando a imagem de uma fatia. Repetindo-se o procedimento para várias outras fatias compõe-se o volume tomográfico de interesse.

As principais sequências de aquisição são; spin-eco (SE), turbo spin-eco (TSE), imagem eco-planar (EPI), inversão de recuperação (IR), inversão e recuperação com atenuação de fluídos (FLAIR) e como exemplo de neuroimagem funcional em ressonância pode-se destacar a técnica que busca um sinal proporcional com contraste dependente do nível de oxigênio na hemoglobina do sangue (BOLD), nesta última técnica (não usada neste estudo) procura-se identificar a região cerebral mais ativada durante a execução de uma determinada

tarefa, assumindo que pelo acoplamento hemodinâmico a região cerebral mais ativa terá maior perfusão sanguínea e consequentemente maior nível de oxigênio na hemoglobina com maior sinal BOLD, deste modo, se alterarmos ao longo de uma linha do tempo de aquisição das imagens, a execução de uma atividade específica com outra geral e sem significado específico, é possível perceber quais regiões cerebrais são evocadas com um aumento de sinal BOLD temporalmente sincronizado com a execução da tarefa específica proposta.

Além das neuroimagens de RM anatômico-volumétricas ponderadas em T1 úteis para a volumetria, morfometria e inspeção radiológica anatômica e das FLAIR (com pulso de inversão e tempo para recuperação suficiente para atenuação de fluido) ponderada em T2 úteis para evidenciar hipersinal TR longo (gliose/microangiopatias), as técnicas quantitativas de imagem por ressonância magnética são importantes porque podem ser usadas para a realização dos processamentos que possibilitam a caracterização do envolvimento do SNC na PIDC tanto de volumetria intracraniana e morfometria encefálica como de tratometria, difusibilidade e conectividade cerebral, são imagens por tensor de difusão (DTI) - imagens adquiridas em 32 gradientes de difusão direcionados, para avaliar a difusibilidade da água no meio examinado - com estas imagens, processamentos são capazes de gerar mapas quantitativos, como o de anisotropia fracionada (FA), difusibilidade parcial/lateral (L) e média (MD), além da relaxometria T2 de múltiplos ecos capaz de indicar o mapa de tempos T2 e a imagem por transferência e magnetização (MT) com duas aquisições para gerar mapas de taxas de transferência de magnetização (MTR) que quantificam a proporcionalidade da energia transferida dos tecidos com muita água livre para os tecidos com muita água presa ou átomos de hidrogênio em macro-biomoléculas.

A saber, no estudo da difusibilidade anatômica usa-se mapas de coeficientes extraídos de um tipo de imagem ponderada em difusão (DWI), mais especificamente a imagem por tensor de difusão (DTI) com 32 gradientes de difusão em direções de vetores não colineares.

Quando os gradientes são aplicados nos tecidos, eles produzem as diferenças de sinal referentes à mobilidade dos núcleos de hidrogênio da água (livre, mais rápida ou ligada a macromoléculas, menos rápida) e, como a usa-se uma sequência de aquisição muito rápida, a spin-eco sobre imagem eco-planar (SE-EPI) os artefatos de movimento macroscópicos ficam limitados (por serem mais lentos) enquanto os movimentos moleculares foram captados, isto porque ajusta-se o valor do fator b (s/mm) proporcionalmente à ponderação no tensor da difusão. O sinal no tempo de eco $M(TE)$ é uma alteração do sinal no primeiro pulso $M(0)$ dada pelo fator b , pelo tensor de difusão D e pela razão dos tempos de eco e ponderação TE/T_2 , ou seja, $M_t(TE) = M_t(0) \cdot e^{-\frac{TE}{T_2}} \cdot e^{-bD}$ de modo que, se o fator for $b = 0$ s/mm, sem gradiente de difusão a imagem $b=0$ que pode ser dita B_0 , será a ponderada T_2 , posto que se trata de uma SE-EPI- T_2 . Numa avaliação isotrópica, basta um DWI cujo o D da equação fenomenológica é um coeficiente de difusão D . Assim, calculado seu valor pode-se gerar um mapa de coeficientes de difusão aparente (do inglês, ADC), chamado de "aparente" por conter em cada voxel também a valor referente aos capilares. Isto é suficiente para algumas aplicabilidades como o estudo de acidentes vasculares cerebrais (AVC) e avaliações tumorais infecciosas, degenerativas e inflamatórias além da detecção de lesões isquêmicas precoces. Mas quando o valor da difusão não é independente da direção é necessário um tensor de difusão para descrever o movimento, por isto, usamos a DTI, posto que, nas fibras da substância branca as barreiras físicas (bainha de mielina e membranas axonais) proporcionam direções predominantes e paralelas a elas. O tensor de difusão D é um modelo matricial de vetores cujos $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$ são os próprios ADC concernentes aos gradientes de difusão

$$D = \begin{bmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{bmatrix}$$

aplicados. Assim, temos que o tensor é: A diagonal principal (D_{xx}, D_{yy}, D_{zz}) corresponde aos vetores (L_1, L_2, L_3) que definem a direção do elipsóide de cada voxel. E destes elipsóides extraímos os coeficientes $(\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3)$ e usamos para elaborar os

mapas usados no estudo de difusibilidade TBSS/FSL. Como primeiro mapa, usamos os

valores correspondem à anisotropia fracionada; $FA = \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_3 - \lambda_1)^2}{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}$. O

mapa de difusibilidade média $MD = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3) / 3$, pode ser obtido ao se aplicar a função respeitante a ele no ImCalc do SPM, por exemplo. Os outros mapas como o L1, L2 e L3, podem ser separadamente obtidos a partir da conversão de 4D para 3D do mapa L gerado em um estudo de conectividade, além do mapa de B0 (b=0, ou T2), ou seja, de DTI sem gradiente de difusão aplicado que pode ser extraído diretamente da sequência DTI convertida em *analyze*.

Além destes mapas, (FA, MD, L1, L2, L3 e B0) também se usa o mapa de tempos T2 obtido pela relaxometria, p.ex. 5TE20, sendo o T2 de cada voxel calculado pela aplicação da função $M_{xy}(T_2) = M_0 e^{-1}$ do sinal adquirido, por meio de uma estimativa computacional do sinal de múltiplos ecos (neste caso, 5 TE de 20ms), e o mapa de MTR obtido pela aquisição de MT (sequência precedida pelo pulso de transferência de magnetização) quando aplicada a função $MTR = (MT_i - MT_o) / MT_o$ sobre suas duas aquisições.

1.6. Revisão específica do estudo

1.6.1. O envolvimento da PIDC com o SNC

Polineuropatia e a denominação concernente a uma síndrome de múltipla disfunção neurológica pelo acometimento de diversos nervos periféricos, também chamada de polirradiculoneuropatia quando o maior prejuízo se dá nas raízes nervosas. A polineuropatia pode ser inflamatória desmielinizante quando nesta síndrome são observados processos desmielinizantes inflamatórios, podendo ser, em alguns casos, caracterizados pela presença de “bulbos de cebola” permeados por macrófagos, anticorpos e plasmócitos. Estes bulbos são

formados pela lesão da bainha de mielina nestes nervos que têm sua integridade comprometida. Caracteriza-se crônica a neuropatia inflamatória cujo curso clínico sintomatológico com morbidade associada ultrapassa oito semanas. Desta forma, tem-se a entidade nosológica “Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica” (PIDC). Trata-se de uma síndrome considerada rara, com incidência de menos de sete caso por ano a cada cem mil habitantes, tem diagnóstico estabelecido por diversos critérios internacionais. A maioria destes critérios considera; sinais clínicos e eletrofisiológicos (eletroneuromiografia de amplitude e latência de potenciais evocados, velocidade de condução e onda F), podendo também considerar biópsia de nervos e proteína aumentada no LCR. A Síndrome de Guilliam-Barré (GBS) pode estar relacionada com a PIDC por também tratar de “polineuropatia inflamatória desmielinizante”, porém com curso clínico agudo de não mais de dois meses, enquanto a PIDC pode ter curso clínico crônico monofásico, progressivo ou recidivante por mais de oito semanas. A Esclerose Múltipla (EM) pode estar relacionada com a PIDC por apresentar lesões características de desmielinização no Sistema Nervoso Central (SNC), haja vista que na PIDC também foram observados indicativos de desmielinização periventricular em IRM. (ORMEROD et al., 1990); (DALAKAS, 2011). O problema de pesquisa é a caracterização do comprometimento do SNC na PIDC por meio do processamento de IRM e da comparação dos resultados para os grupos caso e controle. Há estudos que relatam evidências do envolvimento do SNC na PIDC, alguns tendo IRM por método. (MENDELL et al., 1987); (FEASBY et al.,; OHTAKE et al., and KOMORI et al., 1990); (RODRIGUEZ-CASERO et al., 2003); (BARISIC et al., 2006) Por exemplo, um estudo descritivo sobre PIDC usando IRM por método de investigação pode indicar evidências de envolvimento do SNC. (ORMEROD et al., 1990) Há também investigações com aplicação de IRM no sistema nervoso periférico (SNP) cuja metodologia pode ser útil para este projeto. (STOLL et al., 2009) Mais especificamente ainda, quanto ao método de IRM usado, há estudos que abordam

a PIDC com imagens por tensor de difusão (ITD). (LERLINI et al., 2008 DTI) Inclusive que compara o valor da anisotropia fracionada (AF) de grupo-controle e grupo-caso com PIDC usando DTI, não obstante, neste caso, somente para um nervo periférico, a saber, o tibial. (KAKUDA et al., 2011) A finalidade desta pesquisa é avaliar a necessidade de se estabelecer uma nova linha de tratamento para a PIDC (em complementaridade à administração de ciclofosfamida e ciclosporina ou corticosteróides e imunoglobulina humana intravenosa Ig GIV em altas doses e, eventualmente, plasmaférese) considerando nesta nova abordagem um envolvimento assintomático ou subclínico do SNC no quadro com indicativos de lesões mielínicas periventriculares possivelmente semelhante à EM. (RODRIGUEZ-CASERO et al., 2003); (DALAKAS, 2011)

1.6.2. Relato de casos sobre PIDC & SNC

Considerando a prevalência de casos diagnosticados com Esclerose Múltipla (EM) entre um e trezentos para cada 100.000 habitantes e com PIDC entre dois e sete para cada 100.000 habitantes em todo o mundo, os relatos de pacientes que são acometidos pela desmielinização do SNC e Sistema Nervoso Periférico (SNP) são escassos (KAMM; ZETTL, 2011). Acreditava-se que a PIDC provocava exclusivamente a disfunção SNP sem a ocorrência de lesões no SNC. (MCCOMBE et al., 1987), não obstante, estudos seguintes identificaram a coexistência de lesões tanto no SNP como no SNC em pacientes com PIDC. E, a ocorrência de desmielinização do SNC e SNP sinaliza que pode haver mecanismos subjacentes entre doenças desmielinizantes centrais e periféricas. (THOMAS et al., 1987)

Numa série de seis pacientes com PIDC, todos apresentaram evidências inequívocas de lesões multifocal do SNC. Os achados incluíram: neurite óptica, comprometimentos do tronco encefálico, tais como a oftalmoplegia internuclear e sinais piramidais e cerebelares. Atrofia cerebral foi encontrada em três pacientes e atrofia cerebelar em um paciente. (THOMAS et al., 1987) A investigação da relação entre a desmielinização central e periférica

em dezesseis pacientes com PIDC identificou lesões na substância branca periventricular, subcortical ou do tronco encefálico em seis pacientes, dos quais três tiveram anormalidades clínicas ou laboratoriais consideradas indicativas de EM. (MENDEL et al., 1987) Poderia haver alguma associação entre doenças desmielinizantes com PIDC e EM? Sabe-se que em imagens de ressonância magnética (IRM), um pacientes com PIDC, dentre dezenove outros, apresentou sinais sugestivos de envolvimento do SNC. Sete outros dos dezenove examinados tinham duas ou mais lesões encefálicas, mas as lesões não eram típicas de EM. Os autores afirmam que de acordo com estudos revisados existem evidências clínicas de associação entre EM e PIDC e sugerem que há grande chance de ocorrência destas duas condições simultâneas, contudo, grande parte dos pacientes com PIDC não apresentam evidências de EM e as ocorrências desta síndrome é incomum na PIDC. (FEASBY et al., 1990) A avaliação de uma série consecutiva de 30 pacientes com PIDC evidenciou achados clínicos menores de comprometimento do SNC. Uma IRM foi realizada em 28 desses pacientes. Foram encontradas alterações compatíveis com desmielinização em nove dos que tinham idade inferior a 50 anos e anormalidades em cinco daqueles com mais 50 anos. Os autores concluíram que as evidências subclínicas de comprometimento do SNC são comuns em pacientes com PIDC, mas que alterações neurológicas clinicamente evidentes secundárias ao comprometimento do SNC são raras. (OMEROD et al., 1990) O envolvimento do SNC na PIDC foi também avaliado através de Potenciais Evocados Visuais (PEV) e Resposta Auditiva Evocada do Tronco Cerebral (RAETC) associada a exames de RM. Os PEVs estavam alterados em seis e os RAETCs em dois dos oito casos estudados. A RM apontou alterações sugestivas de desmielinização em dois casos. Os autores propõem que haja uma síndrome desmielinizante periférica e central combinada, enfatizando a possibilidade de uma patogenia comum para ambas. Sugerem ainda que, além da existência de quadro clínico semelhante ao da EM, em pacientes com PIDC e vice-versa, há também comprometimento

subclínico do SNC, documentados via PEVs e IRM, nos pacientes com o quadro, em princípio “exclusivo” de PIDC. (UNCINI; GALLUCCI; LUGARESI et al., 1991) A ocorrência de desmielinização simultânea do SNC e SNP foi estudada em um grupo de 17 sujeitos com PIDC. Anormalidades foram encontradas no PEV, na RM, além de terem sido detectados anticorpos contra glicolípídeos. Tal estudo, confirmou a elevada frequência de PEVs alterados em pacientes com PIDC, mas mostrou fraca correlação entre as lesões desmielinizantes no SNC e os anticorpos contra glicolípídeos. Nesse estudo, o curso clínico foi predominantemente o progressivo (58%) se comparado ao recidivante (42%). (STOJKOVIC et al., 2000) De acordo com vários achados é possível entender que manifestações sintomáticas relativas às alterações do SNC possam provocar uma evolução mais grave do curso da PIDC. (BOUCHARD et al., 1999) O PEV frequentemente detectou o envolvimento subclínico do SNC nos pacientes com PIDC, mas não demonstrou alterações significativas no seguimento dos pacientes após o tratamento. Considera-se que o PEV é uma técnica diagnóstica, mas não contribui para o monitoramento dos pacientes. (STOJKOVIC T et al., 2000)

Outro trabalho (ZÉPHIR H; STOJKOVIC T; LATOUR P, 2008), considerando que achados clínicos e eletroneuromiográficos da PIDC são ocasionalmente observados em pacientes com EM, tiveram como objetivo, definir uma síndrome inflamatória desmielinizante nova ou diferente da PIDC ou da EM. Os pesquisadores estudaram cinco pacientes com uma síndrome desmielinizante que afeta o Sistema Nervoso Central (SNC) e o Sistema Nervoso Periférico (SNP). Cada caso apresenta um curso remitente-recorrente em que o envolvimento do SNC é precedido pelo envolvimento do SNP. Os autores concluíram que a desmielinização do SNC, SNP e a ausência de bandas oligoclonais e desmielinização periférica sem bloqueio de condução indicam mecanismos patogênicos diferentes da EM e da PIDC. A cronologia dos acontecimentos sugere uma entidade diferente daquela envolvida na encefalomielite aguda

desmielinizante. (ZÉPHIR H; STOJKOVIC T; LATOUR, 2008) Vale notificar que a PIDC com lesões desmielinizantes no SNC tem sido utilizada recentemente para simular a EM. (KOMORI T, OHTAKE T, MIYAZAKI Y, 2010) Os autores examinaram uma série de pacientes com PIDC buscando possível acometimento do SNC. Os pacientes com PIDC e lesões do sistema nervoso foram então comparados aos pacientes com esclerose múltipla com envolvimento do sistema nervoso periférico (SNP), buscando as semelhanças. A porcentagem de pacientes com PIDC, com envolvimento do SNC (41,2%) foi bem maior do que o de EM com lesões SNP (3,4%). Os sinais e sintomas do SNC dos pacientes com PIDC não eram tão constantes como os sintomas do SNP; além disso, esses sinais e sintomas são todos bem conhecidos, na EM. As latências prolongadas no potencial evocado e elevado sinal de lesões da substância branca nas IRM ponderadas em T2, indicando lesões desmielinizantes do SNC também foram semelhantes aos encontrados na EM. O envolvimento do SNC em pacientes com PIDC foi, portanto, de natureza semelhante àquelas encontradas na EM, mas foi muito menos grave do que a constatação do SNP. (KOMORI T, OHTAKE T, MIYAZAKI Y, 2010) Estudos de IRM, apontaram para evidências de lesões no SNC relacionados a lesões periventriculares, subcorticais da substância branca, também no lobo occipital, temporal, parietal, ponte e tronco encefálico, semelhantes aos com EM. Também se identificou neurite óptica, paraparesia, ataxia, hiperreflexia. Alterações não específicas no eletroencefalograma (EEG) também foram substancialmente mencionadas. As latências prolongadas sobre os potenciais evocados foram associadas a lesões ao longo das vias visuais, indicando desmielinização central de tronco, como evidenciado nos estudos de IRM. Contudo, relata-se nos estudos que o envolvimento do SNC em pacientes com PIDC foi semelhante aos encontrados na EM. Embora existam semelhanças clínicas e patológicas entre a EM e a PIDC, é possível que raramente os pacientes apresentem a associação com quadro neurológico típico de ambas. (THOMAS et al., 1987) Não obstante, a evidência clínica de lesões

desmielinizantes no SNC é considerada uma forma atípica de PIDC, enquanto que a proporção de envolvimento subclínico pode estar presente em uma considerável proporção de pacientes. (KAMM; ZETT, 2011; BOUCHARD; LACROIX; PLANTE et al., 1999; FEASBY et al., 1990) O envolvimento do SNC na PIDC tem sido relatado de 5% a 50% dos casos por exames de RM. (MENDELL et al., 1987; FEASBY et al., 1990; HAWKE et al., 1990; ORMEROD et al., 1990; UNCINI et al., 1991) Na revisão feita sobre o envolvimento do SNC na PIDC não foi identificado nenhum estudo que tenha feito uma caracterização deste envolvimento por meio de análises das técnicas quantitativas de imagens por ressonância magnética. Deste modo, no presente estudo busca-se neuroimagens de RM em protocolo específicos para, não somente, avaliações qualitativas de avaliação médica mediante inspeção visual radiológica especializada, mas também para processamentos computacionais científicos que engendrem resultados quantitativos que possam fornecer parâmetros para a comparação entre grupos de controles normais e pacientes com PIDC, tratados e sem clínica positiva para alterações neurológicas centrais evidentes, numa avaliação da volumetria intracraniana fracionada, da morfometria encefálica segmentada, da tratometria e coeficientes de difusibilidade e da conectividade cerebral estrutural.

1.6.3. Trabalhos recentes de PIDC & SNC

Encerrando a revisão sobre PIDC & SNC com trabalhos de pós-2008, podemos destacar apenas um estudo que defendeu a plasmaférese regular de longo prazo como tratamento de manutenção indicado para a PIDC. (ISOSE et al , 2010) Um outro estudo clínico documentado com IRM que apontou o envolvimento da medula na PIDC (IOANNIDIS et al, 2014). Outro sobre a genética da Síndrome de Guillain-Barré (SGB) e a PIDC, apresentando o conhecimento atual e as direções futuras desta linha de investigação. (Blum and McCombe, 2014) E, há também a recente publicação da segunda parte de um

trabalho de revisão sobre a fisiopatologia das neuropatias desmielinizante imuno-mediadas.
(Franssen and Straver, 2014)

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Identificar e caracterizar o envolvimento do SNC na PIDC mediante aplicação de técnicas quantitativas de IRM, indicando por análise de grupo do tipo caso-controle as diferenças com significância científica encontradas para a volumetria fracionada do parênquima intracraniano, morfometria baseada em voxel sobre segmentações das substâncias encefálicas, tratometria e coeficientes de difusibilidade por estatística espacial baseada em tratos além dos índices de conectividade anatômico-cerebral.

2.2. Objetivos específicos

1. Verificar se há algum achado recorrente nos laudos radiológicos dos exames de RM dos pacientes que possa identificar alguma alteração de neuroimagens encefálica característica do grupo-caso composto por pacientes com PIDC tratados no HC-FMRP e sem sinais clínicos de envolvimento do SNC.
2. Comparar todos os dados da volumetria geral e fracionada do parênquima intracraniano entre os sujeitos do grupo caso e do grupo controle. Caso alguma diferença com significância estatística ocorra, verificar se os resultados não são referentes a um grupo-controle viciado comparando-os com um outro grupo "teste" de controles normais não pareados. Se as diferenças volumétricas absolutas se confirmarem, normalizar os resultados pela máscara encefálica de cada sujeito (tamanho da cabeça) para evitar o falso positivo de termos um grupo-caso não representativo (p.ex. com tamanho de cabeça menor que a média da população de "pacientes com PIDC" no mundo).

3. Elaborar uma análise de grupo com a ferramenta computacional de mapeamento estatístico paramétrico (SPM) para apresentar os resultados da morfometria baseada em voxel (VBM) tanto para a segmentação da substância branca quanto da cinzenta em comparações estatísticas *t* monocaudais de duas amostras pareadas com covariáveis e correção para múltiplas comparações concomitantes.
4. Avaliar os coeficientes anatômicos de conectividade cerebral pertinentes aos pacientes com PIDC, obtidos pelos mapas das imagens por tensor de difusão processadas nas ferramentas MATLAB® R2008b [plataforma de linguagem de alto-nível para computação técnica da MathWorks™], comparando-os com as matrizes de conectividade cerebral dos controles normais, quanto à intensidade, densidade, probabilidade e comprimento.
5. Avaliar a tractometria dos pacientes com PIDC mensurando o comprimento dos tratos e as demais características morfométricas deles e comparando os resultados com os valores dos controles normais.
6. Valendo-se dos mapas de anisotropia fracionada (FA), difusibilidade média (MD), difusibilidade paralela (L3) e perpendiculares à FA (L1 e L2), além da transferência de magnetização (MTR) e da relaxometria T2 (RLX-5-TE20) aplicados à análise de grupo pela estatística espacial baseada nos tratos (TBSS) da ferramenta FMRIB Software Library (FSL) objetiva-se apresentar a localização das possíveis diferenças encontradas num atlas de estruturas encefálicas corticais e subcorticais da Oxford-Harvard.

3. Sujeitos e métodos

3.1. Procedimentos gerais

- I. Proceder com a coleta dos dados. Localizar, selecionar, adquirir a aprovar ou refutar as sequências anatômico-volumétricas de alta resolução (1mm^3) e alto campo 3T (3DT1) e de tensor por difusão (DTI) do banco de imagens do CCIFM do HCFMRP. Aplicar o exame de RM segundo o protocolo de aquisição específico "PIDC" criado para o estudo. 1) Imagens ponderadas em T1 de cobertura anatômico-volumétrica 3D com alta resolução espacial (1mm^3) e em alto campo (3T) para volumetria, morfometria e corregristos da conectividade. 2) Imagens ponderadas em T2 usando inversão e recuperação com atenuação de fluidos (FLAIR) para melhor contraste e visualização de sinais altos em regiões subcorticais periventriculares. 3) Imagens por Tensor de Difusão (IDT, do inglês DTI) para avaliações de conectividade cerebral, e geração dos mapas de anisotropia fracionada (FA) e difusibilidades (MD, L1, L2 e L3). 4) Imagens de transferência de magnetização (MTR) e 5) Relaxometria com 5 tempos de eco sequentes de 20ms para gerar os mapas de T2. além das exibições axiais e coronais transformadas para melhor inspeção visual técnico-radiológica.
- II. Proceder com a análise dos dados. 1) Realizar o processamento das imagens com as ferramentas computacionais específicas até obter os resultados. 2) Proceder com as análises estatísticas intrínsecas dos mapas de probabilidades resultantes dos processamentos, quando não aplicar testes paramétricos monocaudais de duas amostras pareadas e exibir representações gráficas dos parâmetros de tendência central e dispersão para as variáveis cujas diferenças

intergrupos tiverem significância científica (significância estatística modificada por correções para evitar um falso positivo por múltiplas comparações simultâneas).

3.1.2. Delineamento

Desenho de estudo transversal exploratório descritivo; nesta etapa o objetivo é atingido com a apresentação dos parâmetros representativos da distribuição das variáveis coletadas para o grupo de pacientes com PIDC, tais como medidas de tendência central (média ou mediana) associadas às medidas de dispersão correspondentes (desvio, erro padrão ou quartil), gráficos de dispersão e histogramas de frequências de distribuição ou outros poderão ser apresentados para quando forem mais adequados à descrição estatística de alguma variável. Seguidamente tem-se um desenho de estudo analítico observacional comparativo: nesta etapa o objetivo é atingido com a realização de testes de hipóteses para a comparação do grupo-caso com o grupo-controle em relação às variáveis dependentes escolhidas ao que se refere à análise dos resultados respeitantes de cada processamento feito com as neuroimagens. Vale-se neste estudo de um conjunto de dados (neuroimagens já adquiridas no mesmo aparelho, local e com protocolo de mesmas sequências) referente aos controles-normais disponíveis no banco de imagens do CCIFM do HC-FMRP da USP.

3.1.4. Riscos e benefícios

Não há qualquer evidência científica que um exame de RM anatômica realizado sem a administração de substâncias ampliadoras de contraste e cujo protocolo de aquisição seja inferior a trinta minutos possa causar algum malefício ao examinado. Este exame não faz uso de radiação ionizante, não requer a administração de fármacos e tampouco radiofármacos. Não há quaisquer evidências que possam indicar um entendimento científico que o campo magnético de 3T seja persistente em tecido biológico ou que ele possa causar algum

malefício. No entanto, todos os exames de RM são relativamente ruidosos e podem causar algum aquecimento na bobina de sinal, dependendo do tempo de exame. Também é possível que o examinado sinta-se desconfortável por ter de manter-se imóvel na maca do aparelho ou tenha alguma reação claustrofóbica no túnel. Este risco é baixo e controlado, pois o exame é monitorado do tempo todo pelo examinador e pode ser interrompido a qualquer tempo. Nenhum incidente foi registrado durante o estudo. Foi feita também uma elegibilidade de examinados à RM e não foram examinados os sujeitos com registro de cirurgias de implantes ou próteses de materiais incompatíveis com o campo da RM (tais como materiais elétricos, componentes eletrônicos, metais não-diamagnéticos entre outros). Houve inclusive uma pós-exclusão, um paciente sem qualquer contraindicação foi excluído pelo protocolo de segurança ao se executar a imagem anatômica de alinhamento inicial e perceber artefatos que sugerem a presença de estilhaços metálicos, embora oriundo de algum evento ignorado pelo próprio examinado. Nenhuma vantagem financeira foi oferecida aos participantes, contudo, respeitado o princípio da beneficência, esta pesquisa pode contribuir para o melhor entendimento da síndrome pesquisada e resultar num melhor tratamento para o futuro destes pacientes que de imediato valem-se do benefício de um exame de neuroimagem gratuito provido de um laudo radiológico especializado automaticamente disponibilizado no ATHOS do HC-FMRP onde médico responsável pelo tratamento poderá apreciá-lo e, e decidir pelo tratamento mais adequado, caso alguma alteração específica seja encontrada, justificando uma imediata mudança ou adequação terapêutica. Quanto ao anonimato dos participantes, está posto que todos os dados originais deste trabalho foram mantidos em sigilo, na posse exclusiva do autor do trabalho, tendo o cuidado e ocultar a identificação dos sujeitos de pesquisa e demais envolvidos no trabalho, tanto na apresentação desta tese como no consequente manuscrito base para futuras publicações.

3.1.4. Sujeitos e casuística

Nota inicial: Todos os sujeitos de pesquisa examinados foram previamente informados em minudências sobre os procedimentos a que seriam submetidos e só participaram do estudo mediante seu consentimento expresso por escrito, para tanto está apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) específico para esta pesquisa (APÊNDICE). Este estudo teve seu Projeto de Pesquisa cadastrado na Plataforma Brasil e foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HC-FMRP com o parecer 375.410/2013, e está registrado no CAAE pelo número 09472513.3.0000.5440. Como visto antes na epidemiologia, a PIDC tem baixa prevalência (de dois a sete casos por cem mil habitantes) e, portanto, é esperado um baixo número de pacientes (N) para formar o grupo-caso do estudo. Por isto, o cálculo do tamanho da amostra para o estudo de volumetria do parênquima intracraniano foi adotado como referência base para a definição do número mínimo de pacientes a compor o grupo-caso deste estudo, afim de possibilitar, mediante teste de normalidade, a aplicação de comparações paramétricas do tipo T monocaudais para duas amostras pareadas. O resultado do cálculo do tamanho da amostra foi de $N = 11$ (onze) pacientes e, este valor foi conseguido depois de algumas etapas (Figura 01) de faltas, pós-exclusões, desistências e remarcações de exames, sendo que os controles normais eleitos para o grupo-controle e depois para o grupo-teste do estudo foram todos obtidos por meio do banco de neuroimages do CCIFM, através de um enquadramento característico inicial e de uma seleção de pareamento aos pacientes examinados. Vale lembrar que outras ferramentas estatísticas intrínsecas às técnicas de processamento de neuroimagens usadas, tais como o mapeamento estatístico paramétrico (SPM) da morfometria baseada em voxel (VBM), ou a estatística espacial baseada em tratos (TBSS) sobre os mapas de coeficientes de difusibilidade anatômica requerem N menor.

Sujeitos de Pesquisa

Figura 01: Fases de seleção e inclusão dos sujeitos de pesquisa e formação dos grupos

Dos 165 controles normais avaliados com neuroimagens disponíveis no banco de imagens do servidor Atlas do CCIFM, somente 36 exames de RM estavam com protocolo adequado ao tipo de estudo, destes apenas 22 tiveram idades semelhantes para formarmos 11 "controles" pareados por gênero e faixa etária, e outros 11 "testes" para futuras comparações não-pareadas com o grupo-controle afim de se evitar que o grupo-caso tenha características antropométricas "viciadas", de amostra não representativa da população. Assim, subdividindo os grupos por gênero temos cada par comparado com o mesmo gênero a mesma faixa etária (Figura 02). Cada subgrupo tem a mesma média de idade, e valores muito semelhantes de mediana, variância e intervalo de confiança de 95%.

Figura 02: Subgrupos de gênero dos pares comparados dos sujeitos de pesquisa

Em linhas gerais, os sujeitos de pesquisa deste estudo compreendem a um grupo de onze pacientes com PIDC sem confirmação clínica de alterações neurológicas centrais e tratados no HC-FMPR, sendo cinco deles do gênero femininos e seis masculinos, todos com idade entre 19 e 69 anos e seus pares controles normais com mesmo gênero e faixa etária.

3.1.5. Pacientes

Os pacientes possuem um diagnóstico positivo do HC-FMRP para a PIDC, todos se encaixam nos critérios de inclusão e não se enquadram em nenhum dos critérios de exclusão. Todos os pacientes, na data do exame em 2013, estavam em pleno tratamento no Hospital das Clínicas (HC) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP). O grupo de pacientes com PIDC escolhido apresentou uma boa condição geral de saúde (na data do exame) e não apresentou nenhum sinal clínico de envolvimento do SNC até esta data.

3.1.6. Critérios de inclusão

Ter diagnóstico clínico positivo para Polineuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica no HC-FMRP da USP; Ter idade entre 19 e 69 anos; E não se enquadrar em nenhum dos critérios de exclusão.

3.1.7. Critérios de exclusão

Doenças vasculares; Doenças infecciosas; Doenças do Sistema Nervoso Central; Recusa na obtenção do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE); Transtornos comportamentais; Uso de medicações psiquiátricas; Doenças psiquiátricas; Abuso de substâncias; E anormalidades anatômicas da caixa craniana ou quaisquer contraindicações para a realização do exame de RM (implantes, próteses ou estilhaços de quaisquer materiais não-biológicos e incompatíveis com o campo magnético da RM).

Casuística (atualização de cerca de um ano após os exames de RM para o estudo)

Paciente	Pulsa corticóide?	Pulsa IgIV?	Comorbidades?
01	N (já antes)	S	Epilepsia Benigna da Infância, fez uso de Ácido Valpróico e Fenobabital
02	N	S	Diabetes tipo 1 desde os 11 anos de idade, nefropatia diabética, retinopatia diabética,

			descolamento de retina, Polineuropatia diabética associada
03	S (interrompido para plasmaférese)	N	Hipotireoidismo, HAS, síndrome túnel carpo E operado em 2012, Eletroforese de proteína com pico monoclonal de gamaglobulinas, porém biópsia de medula e mielograma sem neoplasia, com Imunofenotipagem com padrão policlonal.
04	S (suspensão) iniciou seguimento no ANGE com DNA para CMT 1 A positivo. Durante a evolução aventada a hipótese de PIDC sobreposto. Realizou pulsoterapia com corticóide de novembro de 2012 a junho de 2013, sem melhora e com ENMG mantida. Suspensão pulso desde então.	N	Tabagista, DPOC em uso BIPAP, Diabetes tipo II. História familiar semelhante com duas irmãs acometidas
05	S	N	Nenhuma
06	N	S	Ex TBG, Histerectomia prévia, HAS, Glaucoma. Fez uso de Decadron EV e VO (dose ignorada) em 2000 sem alteração do quadro
07	S	N	HAS/ ETL/ Insuficiência cardíaca / TBG / Reposição vitamina B12 prévia
08	N	S	Hipotireoidismo, Dislipidemia, DM tipo II. Screening CMT - Normal

			Ressonância da coluna lombossacra – imagem sugestiva de processo expansivo com disseminação liquórica, porém biópsia da raiz nervosa com infiltrado inflamatório leve e focal.
09	N (já antes)	S	Ex TBG/ ETL social / Gamopatia monoclonal de significado indeterminado
10	N (já antes)	S	Tabagismo / Pico monoclonal de IgM, com biópsia de medula óssea e mielograma negativos para neoplasia
11	N	S	DM insulín dependente, Síndrome Parkinsoniana (sem confirmação para Parkinson), retinopatia diabética

3.1.8. Controles

O grupo controle consistirá de voluntários saudáveis, sem qualquer tipo de síndrome, patologia sistêmica, alteração fisiológica ou morfológica que não se enquadre em nenhum dos critérios de exclusão já definidos para os pacientes. Esses voluntários serão pareados aos pacientes com PIDC seguindo a mesma faixa etária e o mesmo gênero, além de graus semelhantes de escolaridade. Vale completar que todos os sujeitos de pesquisa examinados são oriundos da mesma região étnico-geográfica, ou seja, são brasileiros caucasianos da região sudeste do país.

3.2. Protocolo de aquisição das neuroimagens

A aquisição das imagens de RM do presente estudo foram executadas em equipamento supercondutor, de alto campo (3T), bem instalado, em regular atividade e munido de manutenção periódica especializada. Denomina-se aqui “protocolo de aquisição” o conjunto de atividades que devem ser reproduzidas, pelos técnicos examinadores do Serviço de Ressonância Magnética do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto *campus* USP, para a aquisição da neuroimagens atinentes a este trabalho. Na prática dos exames de RM, existem parâmetros decorrentes da interação aparelho-paciente que dificultam a definição das múltiplas variáveis fisiológicas envolvidas nestas neuroimagens. Este protocolo de aquisição foi elaborado para o presente estudo com aparelho *Achieva* de 3T da *Philips*, tendo por base o protocolo para os controles normais, neste aparelho, do HC-FMRP da USP. Cinco tipos de sequências foram definidos, denominados 3DT1, FLAIR-VISTA, DTI, MTR e *RELAX-5TE20*, o protocolo abrange modalidades de neuroimagens com potencial para, num tempo viável, atender a estudos de diferentes de interesses morfológicos e fisiológicos da esfera celular-molecular ao anatômico-estrutural.

3.2.1. Sequência T1 volumétrica

Denomina-se 3DT1, para este estudo, a neuroimagem anatômica tridimensional ponderada no tempo de relaxação azimutal do vetor magnetização defletido na ressonância (T1). Para estudos de segmentação, volumetria e morfometria este tipo de neuroimagem foi escolhido. Trata-se de uma sequência tridimensional (3D) com ativação do gradiente de eco e uma inversão prévia. Para o ajuste no aparelho a sequência é denominada *Magnetization Prepared Rapid Acquisition Gradient Echo* (MPRAGE). Esta sequência é ponderada em T1, tendo um tempo de repetição de (TR) = 7,0ms e um tempo de eco de (TE) = 3,2ms, além de uma sequência pulsada de gradiente-eco, *turbo field echo* (TFE) com intervalo de tiro de *shot interval* (SI) = 2000ms, e ângulo de giro de 8° além do pulso de inversão com atraso de *inversion delay* (ID) = 900ms. Para otimizar a matriz de aquisição escolhe-se uma orientação sagital e um campo de visão, *field of view* (FOV) de 240x240x180mm suficiente para cobrir totalmente a cabeça. Deste modo, define-se a dimensão da matriz em 240x240x180 para se assegurar uma resolução isotrópica de 1mm³, gerando-se 180 imagens de “fatias” sagitais. Para se garantir que num único módulo de excitações seja adquirido um perfil completo, ajusta-se um alto fator *Turbo Field Echo* (TFE) = 240ms. Adiciona-se somente um pulso binomial (ProSet) de saturação de gordura para otimizar o contraste visual e, dada a boa relação sinal-ruído nas imagens, faz-se uma única aquisição. Neste protocolo o tempo total da sequência está definido neste aparelho em 06 (seis) minutos de 13 (treze) segundos, para este tempo da aquisição usa-se um fator SENSE igual a 02 (dois) [SENSE, percepção: trata-se de um parâmetro de processamento, intrínseco ao aparelho, usado para acelerar as medições dos fluxos em detrimento da precisão nas medidas processadas]. Como resultado, nesta sequência 3DT1 é possível obter várias neuroimagens de excelente qualidade anatômica, é possível, inclusive, se obter processamentos volumétricos e morfométricos bastante relevantes por meio delas. Para exemplificar, usando ferramentas MINC [*softwares* de processamento de imagens

médicas cujos dados de entrada podem ser arquivos do protocolo *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM), mas cuja saída são arquivos no protocolo *Medical Image NetCDF {Network Common Data Form}* (MINC), ou seja, arquivos com extensão (mnc)], máscaras de substância branca e cinzenta (Figura 03) podem ser geradas.

Figura 03: Exemplo de neuroimagem e segmentações de substâncias, de um sujeito controle masculino de 19 anos. a) Imagem adquirida na orientação sagital, b) Segmentação da substância cinzenta, c) Segmentação da substância branca.

3.2.2. Sequência T2 FLAIR

A sequência FLAIR-Vista corresponde à modalidade de contraste que usa um pulso de inversão sobre a magnetização inicial e capta a recuperação do sinal na relaxação do sistema combinando uma aquisição que é feita no tempo adequado para que exista a atenuação dos sinais oriundos das regiões com fluidos. Esta modalidade, FLAIR ponderada em T2, foi adicionada ao protocolo de aquisição do estudo por ser capaz de aumentar o contraste entre as regiões periventriculares com fortuitas lesões de hiperssinal em TR longo e as regiões dos ventrículos que assumem o hipossinal do LCR, tal como pode ser observado (Figura 04). Assim, esta sequência foi ajustada para ter um tempo de repetição longo, TR igual a 5000,00ms e um tempo de eco adequado TE igual a 338,7ms; a aquisição se deu no plano sagital com 180 fatias com 1mm de espessura, durante os estimados 4 minutos e 8 segundos.

Projeções tridimensionais também foram processadas gerando 120 fatias coronais e 100 fatias axiais todas com 1,5mm de espessura.

Figura 04: Exemplos de neuroimagens FLAIR evidenciando pontos de hipersinal em regiões periventriculares, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos: a) Aquisição FLAIR-VISTA ponderada em T2 na fatia axial 62 de 100, b) Aquisição FLAIR-VISTA ponderada em T2 na fatia axial 64 de 100.

3.2.3. Sequência de Relaxometria

Acrescenta-se neste protocolo de aquisição um segundo tipo de sequência, denominado RELAX-5TE20. Trata-se de uma modalidade de aquisição para a quantificação do tempo de relaxação transversal (T2). No aparelho esta sequência é chamada *Gradient Spin-Echo (GraSE)* no modo multi-cortes resultado da combinação de uma sequência *Turbo Spin-Eco* (TSE, fator = 5) com uma sequência *Echo Planar Imaging* (EPI, fator=5). Nesta sequência, ajustam-se 05 (cinco) valores de tempo de eco, são eles; 20, 40, 60, 80 e 100ms. Todos otimizados para se assegurar uma boa reprodução do decaimento exponencial de T2 na faixa de 40ms a 100ms, onde estão contidos os valores esperados para a substância branca e cinzenta. O tempo de repetição necessário é de 3.000ms, para se cobrir todo o encéfalo, ajustas-se um FOV de 240x180x144 com 48 (quarenta e oito) cortes axiais de 3mm de

espessura cada e sem separação entre eles. Visando uma maior precisão espacial na quantificação mantém-se a resolução espacial no plano em 1mm. A fim de se evitar quaisquer manipulações que comprometessem o valor da quantificação exata do T2 não se utiliza o recurso SENSE. Deste modo, o tempo de aquisição total nestes termos foi determinado em 03 (três) minutos e 54 (cinquenta e quatro) segundos. Por esta aquisição é possível se obter um mapa de T2 (Figura 05), usando uma função implementada com ferramentas MINC.

Figura 05: Exemplos de neuroimagens em T2, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos; Aquisições em diferentes tempos ao eco pela técnica de relaxometria transversal e o mapa resultante: a) TE = 20ms, b) TE = 80ms, c) Mapa de T2.

3.2.4. Sequência de Transferência de Magnetização

A sequência MT cuja sigla é o acrônimo da expressão inglesa para "transferência de magnetização" foi definida com um tempo de repetição TR igual a 7,3ms e um tempo de eco TE igual a 3,5ms. A cobertura completa tem 96 aquisições axiais, sendo 2 aquisições por fatia, cada fatia possui uma resolução espacial de 1mm² de área e 3mm de espessura. A sequência usa cerca de 2 minutos e 50 segundos para a primeira cobertura e mais 2 minutos e 50 segundos para a última cobertura, já com o sinal da magnetização transferida. Esta técnica requer, tal como a imagem para relaxometria e a imagem por tensor de difusão, um pós-processamento, neste caso sobre as aquisições de mesma fatia (Figura 06) captadas pela

transferência de magnetização (MT), para gerar o mapa com os valores das taxas de transferências, usa-se $MTR = (M_0 - M_t) / M_0$.

A aquisição da neuroimagem MT tem por diferencial apenas a inserção de um pulso de transferência de magnetização e duas leituras, uma leitura inicial do sinal M_0 sem o pulso de transferência de magnetização e outra leitura M_t do sinal com o pulso de transferência de magnetização e, deste modo, conforme acima pode-se gerar um mapa do sinal da taxa MTR. A MT refere-se à transferência de magnetização longitudinal a partir dos núcleos de hidrogénio das moléculas de água com movimentos restringidos para os demais prótons que se movem com muitos graus de liberdade, na água livre. No tecido biológico, a água com movimento restrito é geralmente concebida como sendo ligada a hidratação de macromoléculas, tais como proteínas e lípidos, já a água livre é a água bruta do citosol. Como o defasamento da magnetização inicial é muito mais rápido nos prótons (núcleos de hidrogênio) das moléculas de água ligada à hidratação macromolecular, somente um pulso de excitação fora de ressonância para saturar "prótons restringidos" pode produzir um efeito detectável no sinal da RM a partir dos "prótons livres". A magnetização transversal criada é rapidamente desfasada e a magnetização longitudinal requer algum tempo (cerca de 5 vezes T_1) para voltar ao equilíbrio. Uma vez que a "água ligada" pode trocar de magnetização com a "água livre", a perda de magnetização longitudinal irá também ser introduzida na água livre. Isto provoca um aumento no T_1 da água livre e mais lenta redução do sinal na água livre dos tecidos onde este mecanismo de transferência de magnetização é mais prevalente, já que o grau de degradação do sinal depende da taxa de permuta entre a água livre e a água ligada. Assim, a MT pode ser utilizada como um método alternativo de contraste em MRI (além do T_1 , T_2 e DP) e um possível indicador inespecífico da integridade estrutural do tecido, assim a MTR pode ser utilizada na avaliação neurorradilógica para destacar algumas anormalidades na estrutura histológica cerebral.

(a)

(b)

Figura 06: Exemplos de neuroimagens MT, de um paciente PIDC, masculino de 57 anos: a) Aquisição MT inicial, b) Aquisição MT final, para a mesma fatia feita dois minutos e quarenta e quatro segundos depois da inicial.

3.2.5. Sequência de Tensores de Difusão

A sequência do tipo *Diffusion Tensor Imaging (DTI)* foi usada para a quantificação do tensor de difusão necessário para os mapas de difusibilidades ponderados em coeficientes como a anisotropia fracionada e a difusibilidade média, esta sequência é fundamental para a análise da conectividade cerebral por índices anatômicos e da difusibilidade anatômica comparada em análise de grupos pela estatística espacial baseada nos tratamentos. Trata-se de uma sequência *echo planar image (EPI)* ajustada para o fator 67 (sessenta e sete) e com gradientes de difusão durante a etapa de codificação cuja intensidade deve ser ajustada com $b = 1000 \text{ s/mm}^2$. Os dados são obtidos em 32 (trinta e duas) direções diferentes de gradiente para aumentar a precisão na estimativa das direções dos auto-vetores em cada *pixel*. Sobre o tamanho do voxel, temos um cubo de 2mm de aresta, haja vista que a aquisição é de 72 (setenta e dois) cortes axiais de 2mm de espessura cada com um FOV de 256x256mm em cada fatia numa matriz de 128x128 *pixels*, ou seja, temos um voxel isotrópico de 8 mm^3 . Valor do TR / TE foi ajustado para respectivamente 9300ms / 54ms, o tempo total da aquisição está

determinado em 06 (seis) minutos e 15 (quinze) segundos, neste aparelho. Por fim, é possível se obter, pelo próprio *software* inerente ao aparelho tomógrafo, mapas (Figura 07) da difusibilidade média e anisotropia fracionada além desenho dos tratos, e mediante o uso de uma função elaborada especialmente para este fim é possível também determinar os valores de difusão paralela e perpendicular à fibra, de modo que a difusão anisotrópica paralela às fibras dos axônios é determinante para indicar a integridade das mesmas, haja vista que uma permeabilidade inadequada ou rupturas ao longo das fibras podem ser observadas pela difusão ocorrente nas direções perpendiculares ao sentido delas, num controle normal a difusibilidade média deve ser semelhante ao mapa de difusão paralela, ao menos quanto à imagem visualizada, não obstante seus valores são distintos bem como seus significados científicos.

Figura 07: Exemplos de neuroimagens DTI, de um controle saudável, feminino de 32 anos: a) Difusibilidade média, b) Anisotropia colorida, c) Difusão paralela (há similaridade com a difusibilidade média, porém os valores são diferentes).

Ao final, o protocolo de aquisição completo, para este estudo, usando imagens por ressonância magnética ficou definido conforme descrito abaixo, onde, considerando dois minutos e trinta segundos para ajustes iniciais o exame tem, com todos as sequências programadas um tempo total inferior a 29 minutos:

Cronograma da Aquisição

Evento (descrição)	Duração (tempo total)	Escopo (finalidade)
Posicionamento	01' e 00''	Reprodutibilidade
Localização	01' e 00''	Localização do Encéfalo
Referencia SENSE	00' e 30''	Correções: <i>clear</i> e <i>sense</i>
3DT1	06' e 13''	Imagens ponderadas em T1
FLAIR-VISTA	04' e 08''	Imagens ponderadas em T2
DTI	06' e 15''	Mapas de difusão, etc.
MTR	05' e 40''	Transferência de magnetização
RELAX-5TE20	03' e 54''	Imagens e Mapas de T2
<i>Total</i>	28' e 40''	

Deste modo, cada sujeito de pesquisa foi submetido a um exame de Ressonância Magnética com um examinador técnico habilitado pelo Serviço de Ressonância Magnética do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, *campus* USP, seguindo exatamente este mesmo Protocolo de Aquisição num total previsto de aproximadamente 29 (vinte e nove) minutos. O exame foi feito mediante a estrita aplicação deste "protocolo de pesquisa PIDC" especificamente criado para este estudo, não importando ao examinador se o examinado é um sujeito-controle (voluntário saudável) ou um sujeito-caso (paciente de PIDC). Quanto ao local onde de realização dos exames (Figura 08) assegura-se que se trata de um ambiente adequado onde está instalado de maneira permanente o aparelho de ressonância magnética.

Figura 08: Sala de aquisição: máquina 3T; maca, magneto e bobina de cabeça.

Para realizar a aquisição correta do sinal proveniente do encéfalo usa-se uma bobina adequada para IRM de encéfalos, trata-se de uma bobina especial com armação do tipo gaiola. Após o ajuste do paciente na maca do tomógrafo o técnico examinador deixa o sujeito examinado sozinho no ambiente do exame (sala de aquisição) e acompanha todo o exame monitorando-o por um ambiente adjacente através de um vidro transparente e das imagens adquiridas, geradas e exibidas em tempo real no monitor. Por fim, o resultado das aquisições é armazenado em arquivos de protocolo DICOM no Servidor (Atlas) do Serviço de RM do HC-FMRP por meio de diretórios latentes que identificam o sujeito examinado e a data em que ele fora realizado. Estes exames podem ser localizados por um Gerenciador de Recuperação de Imagens (Conquest, K-Pacs ou Efilm) e disponibilizados para processamentos no Centro de Ciência das Imagens e Física Médica (CCIFM) ou no Laboratório de Neuroimagem

“*INBRAIN*” do Departamento de Física (DF) da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP), locais onde foi possível realizar a localização, recuperação (*retrieve*) e transformações de pré-processamento das neuroimagens usadas nas análises volumétricas, morfométricas e de difusibilidade e conectividade cerebral neste estudo.

3.3. Pré-processamento

Inicialmente as imagens são inspecionadas visual e qualitativamente. São observados se os arquivos originais estão todos no mesmo protocolo DICOM com o diretório seguindo o mesmo padrão de nomeação, com o mesmo número de imagens (fatias), tendo cada fatia (arquivo de imagem) igual número de pixels (linhas e colunas), e cada valor de pixel podendo assumir uma intensidade de sinal com o mesmo espectro de variação (p.ex. 32bits). Também são observados os parâmetros de enquadramento do encéfalo na imagem. Observa-se se não há artefatos ou ruídos significativos nas imagens, havendo algum, a imagem em questão é submetida a aplicações de filtros que visam eliminar estes ruídos e artefatos de aquisição, persistindo estes defeitos a imagem é pós-excluída. Transladações, rotações e inversões axiais são algumas das opções de pré-tratamento para as imagens além da aplicação de filtros, para deixá-las prontas para o pré-processamento. O pré-processamento consiste numa série de transformações e operações aplicadas sobre as imagens pré-tratadas a fim de se produzir para cada sujeito de pesquisa um mapa resultante que possa ser utilizado como arquivo de entrada do processamento morfométrico ou um conjunto matricial de dados que possa ser submetido ao teste volumétrico.

3.3.1. Pré-processamento volumétrico

Para a análise volumétrica, não há pré-processamento necessário, a própria imagem 3DT1 no espaço nativo, pré-tratada quando necessário, é suficiente para se obter a matriz de

resultados para o teste de comparação volumétrica. Somente que a determinação do volume de interesse (VOI) se dá por meio de integração das regiões de interesse (ROI) em diferentes fatias, selecionadas de modo manual ou (semi-automático) por meio de segmentações automáticas. Deste modo, apenas captamos a sequência 3DT1 separadamente, convertemos os arquivos DICOM do diretório num arquivo único de imagem NIfTI (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*) com todas as fatias do volume (arquivo NII) e depois tratamos de identificar cada sujeito de pesquisa com um arquivo único das imagens da sequência 3DT1 já convertido em MINC (*Medical Image NetCDF {Network Common Data Form}*) por `<nii2mnc -1 *.nii *.mnc>` e compactado por `<gzip *.mnc>` no formato *.MNC.GZ. (cumpre lembrar que este passo de conversões é opcional e foi praticado para favorecer a organização e compactação dos arquivos de entrada do processamento, não obstante, mesmo o formato original DICOM também pode ser importado) Usamos um software de volumetria automática baseado em superfícies livres segmentadas em grandes arranjos de voxels da neuroimagem T1, chamado *FreeSurfer Software Suite* e desenvolvido no MGH (*Massachusetts General Hospital*) da *Harvard University*. O pré-processamento é intrínseco ao comando geral de processamento que individualmente faz uma série de segmentações e delimita regiões de diferentes estruturas cerebrais transportando o volume avaliado a um modelo de atlas cerebral. O pré-processamento latente também determina os vértices da superfície cortical o que possibilita inflar esta superfície e calcular pela medida da espessura cortical o volume das segmentações e as frações pertencentes a cada estrutura cerebral delimitada pelas coordenadas do atlas transportado ao cérebro do indivíduo avaliado da vez. Ademais, se segue com o processamento volumétrico propriamente dito que resulta no diretório de saída, entre outras, a subpasta com a estatística descritivo-volumétrica do sujeito processado a "*stats*" com os arquivos das segmentações gerais (*aseg.stats*), das segmentações parceladas pelas estruturas do atlas cerebral no hemisfério direito e esquerdo (*lh.aparc.stats* e

rh.aparc.stats), das curvaturas e espessuras corticais por vértices de cada hemisfério (lh.curv.stats e rh.curv.stats), e por fim da substância branca parcela pelas coordenadas do atlas cerebral (wmparc.stats).

3.3.2. Pré-processamento morfométrico

Já a análise morfométrica exige um pré-processamento inicial, especialmente no caso deste estudo, onde foi utilizado o método de Morfometria Baseada em Voxel (VBM) por meio da técnica de Mapeamento Estatístico Paramétrico (SPM) através do programa computacional SPM-8. Primeiramente transformamos cada diretório do sujeito com os arquivos sequenciais 3DT1/DICOM em um único arquivo *.nii (NIfTI-1) ou em uma dupla de arquivos *analyze* (um cuja extensão é HDR e refere-se aos dados codificadores das imagens e outro cuja extensão é IMG e refere-se à própria imagem) ambos possuem o mesmo nome, (p.ex. “NOME_COMPLETO_SUJEITO_20121221_SENSE_3DT1_256_256_180_000000”), que identifica o sujeito de pesquisa, a data e o tipo do exame, além do tipo da imagem. Este procedimento pode ser feito pelo *DICOM Import* do próprio SPM-8 do MATLAB®, ou por outro *software* tal como o MRICro™. Já com esta imagem IMG gerada, seguimos com o pré-processamento no SPM-8, onde criamos um projeto (*batch*) para a que as imagens dos sujeitos de pesquisa sejam normalizadas, moduladas, segmentadas e suavizadas. Ao final deste procedimento um arquivo sufixado “*_seg#.MAT” é salvo no diretório do sujeito como base do projeto para o procedimento de segmentação e suavização; onde * é o nome do arquivo original, _seg é o sufixo para a segmentação e # refere-se ao número (em mm) da largura máxima à meia altura (FWHM), do filtro gaussiano escolhido. O pré-processamento pelo SPM-8, inicialmente vale-se de uma transformação linear rígida (de seis parâmetros) que leva a imagem do espaço nativo para um espaço intermediário padrão comum ao grupo de todos os sujeitos de pesquisa, compondo assim uma primeira normalização. Seguidamente, o SPM-8 pratica uma transformação linear não-rígida (com doze parâmetros) para levar o

conjunto normalizado a um espaço padrão (mundo) corrigindo as deformações anatômicas de cada sujeito neste espaço. Na sequência, é feita a classificação dos tecidos por meio de uma segmentação automática (onde c1 é a substância cinzenta, c2 é a substância branca e c3 refere-se ao licor). Depois da segmentação os arquivos são levados de volta para o espaço nativo de cada imagem. Neste momento, como foi escolhido criar-se um modelo anatômico (*template*) próprio para este estudo, o SPM8 realiza uma transformação não-linear usando uma matriz com os campos de deformação (arquivo prefixado (u_rc)) e com 7 iterações (de zero a 6) produz um modelo anatômico personalizado (*template*) para o estudo. Estes arquivos (*template*) são salvos no diretório do primeiro sujeito de pesquisa. Por fim o pré-processamento é concluído gerando-se um arquivo (NII) onde o valor de cada voxel preenchido em consonância a uma imagem, normalizada para o espaço do Instituto de Neurologia de Montreal (MNI), modulada para correção de diferenças de forma entre os sujeitos do mesmo grupo, segmentada para classificação de um único tecido de interesse e suavizada por um filtro gaussiano a fim que se minimizar dos efeitos ruidosos do pré-processamento. De fato a sequência de arquivos salvos pelo SPM-8 no diretório do sujeito é instigante, o curto intervalo de tempo entre a criação dos arquivos sugere que estes arquivos são salvos numa ordem cronológica, mas já estavam anteriormente gerados em diretórios temporários numa outra ordem cronológica. Importa dizer que a segmentação não é feita diretamente no espaço nativo de cada imagem por causa das não-uniformidades inerentes ao processo de aquisição das imagens digitais de ressonância magnética. Ou seja, um mesmo tecido pode assumir um sinal mais intenso em determinadas regiões da imagem, e de imagem para imagem ou de sujeito para sujeito, bem como de exame para exame, há diferenças na intensidade do sinal de um dado voxel de uma mesma região, ainda que em todas as imagens neste voxel determinado (espacialmente definido no mapa) tenha a mesma substância.

Esquemáticamente esta sequência de eventos para o processamento morfométrico pode ser representada pelo diagrama de blocos (Figura 09) abaixo.

Figura 09: Diagrama de blocos para o processamento do estudo morfométrico.

Por isso, entende-se que a imagem original no espaço nativo (*.IMG e HDR, onde * refere-se ao nome do arquivo) é segmentada automaticamente depois de transformada para um espaço padrão intermediário comum a todas estas imagens (arquivo prefixado wc#*.nii, onde # refere-se ao número que identifica o tecido segmentado). Somente depois se aplica uma modulação para corrigir os efeitos deformadores da transformação linear não-rígida (arquivo prefixado mwc#*.nii) e assim pode-se voltar co-registrando todas as imagens do grupo no espaço intermediário padrão (arquivo prefixado rc#*.nii) e com estes arquivos se retorna os valores resultantes da segmentação para o espaço nativo (arquivos prefixados c*#.nii), também é a partir dos arquivos (rc#*.nii) que se pode aplicar um pré-processamento adicional do SPM-8, chamado algoritmo DARTEL (registro do difeomorfismo anatômico através da álgebra de Lie exponencial), por ele cria-se um modelo anatômico personalizado e normalizado no espaço MNI (arquivos nomeados template_# de 0 a 6 e salvos no diretório do

primeiro sujeito de pesquisa do estudo) e um mapa de campos de deformação para cada sujeito (arquivos prefixados (u_rc1*.nii). Por fim, o pré-processamento do SPM-8 concatena as informações do mapa segmentado no espaço intermediário padrão (rc#*.nii) com os resultados do DARTEL (u_rc1*.nii e template_6) para obter com uma suavização final (FWHM de 4 a 12 mm nos três eixos) o arquivo resultante de cada diretório-sujeito que será usado no processamento seguinte (arquivos prefixados smwc#*.nii). Assim tem-se um arquivo resultante volumétrico suavizado, modulado, normalizado e segmentado referente à imagem MRI-3DT1 encefálica de cada sujeito de pesquisa a ser avaliado na morfometria. E, tem-se os arquivos com segmentação automática das classes de tecidos encefálicas de interesse para o estudo da volumetria.

3.3.3. Pré-processamento de morfometria e conectividade

Para o pré-processamento do estudo de conectividade cerebral usamos captar separadamente em diretórios cada sujeito de pesquisa, identificando-os quanto ao grupo que pertencem (pacientes ou controles) no estudo e individualizando-os (com o nome e sobrenome prefixado com a identificação do gênero (M ou F) e da idade na data do exame). De todas as sequências captadas dos sujeitos de pesquisa examinados, usamos duas no pré-processamento da conectividade cerebral; a volumétrica 3DT1 e a de tensor de difusão reg-DTI-HIGH-ISO. Inicialmente usamos alguma ferramenta computacional para observar as imagens das sequências DICOM selecionadas, o "RadiAnt DICOM Viewer 1.8.6 (64-bit)" mostrou-se bastante satisfatório afim de uma inspeção visual qualitativa que aprove ou pós-exclua cada sujeito de pesquisa examinado (seja por artefatos ou quaisquer outros defeitos nas imagens que inviabilize o processamento). Feito isto, converte-se os arquivos DICOM das imagens num formato adequado para as ferramentas computacionais do estudo de conectividade, neste caso a compatibilidade ideal foi com a "Analyze" (HDR e IMG). Para a sequência anatômica 3DT1 basta a conversão (usando, por exemplo a opção de importação

DICOM do software MRICro) em *analyze* seguida de um realinhamento manual usando o software SPM no MATLAB® reorientando a imagem nos planos sagital, coronal e axial com a origem definida na comissura anterior e rotação zerada na comissura posterior. Por fim, faz-se um corregristo da imagem 3DT1 com a imagem DTI sem gradiente, a B0, do mesmo sujeito, numa opção automatizada do SPM. Contudo, para isto, a imagem DTI deve estar "pronta", ou seja, além da conversão em *analyze* ela deve transformada de 4D para 3D e ter suas 2448 imagens separadas em 72 blocos de fatias com 34 aquisições cada (sendo o gradiente de ajuste, o B0 e os outros 32 gradientes direcionais) e depois reorganizada em 34 volumes de 72 fatias cada um. Pode-se entender que a partir deste ponto começa o processamento propriamente dito do estudo de conectividade cerebral usando as ferramentas MATLAB® (SPM5, IbaSPM, DTItool e MabC) para realizar as segmentações, a criação das máscaras, a normalização, as definições dos atlas, a geração dos mapas com os coeficientes de difusibilidade a escolha das estruturas cerebrais e a composição dos caminhos possíveis para conexões entre as zonas.

3.3.4. Pré-processamento de difusibilidade

Para o pré-processamento da difusibilidade usamos parte do processamento feito para o estudo de conectividade cerebral, pois são necessário, a priori, os mapas de coeficientes de difusibilidade anatômica (tais como a anisotropia fracionada FA, a difusibilidade média MD e as difusibilidades parciais L1, L2 e L3, podendo também ser usada a imagem de T2/difusão B0, sem gradiente de difusão direcionado) e todos estes mapas são obtidos a partir da sequência de tensor de difusão (DTI) processada pelas ferramentas computacionais do estudo de conectividade cerebral. Contudo, no estudo de conectividade cerebral estes mapas são gerados nas ferramentas MATLAB® com o formato denominado "*Analyze*" (isto é, NIfTI de dois arquivos; *.IMG, matriz-imagem e *.HDR, dados e parâmetros de conversão) e no pré-processamento da difusibilidade eles são convertidos para o formato NIfTI único (nii) e

compactados (*.nii.gz), importando que inclusive cada arquivo final (*.nii.gz) esteja num diretório que identifique o tipo de mapa e numa ordem que classifique todos os controles e depois todos os pacientes, e que todos tenham os mesmos nomes dos seus arquivos pares geradores os arquivos de FA copiados para uma pasta "origdata" durante a primeira etapa do processamento de difusibilidade usando o *Tract-based Spatial Statistic* (TBSS) do FMRIB Software Library (FSL) desenvolvido no *Analysis Group* da *University of Oxford*. Como parte do pré-processamento da difusibilidade, os mapas da relaxometria T2 e da taxa de transferência de magnetização (MTR) também são engendrados, ou seja, usando as sequências MT e Relaxo5TE20 aplica-se (com script MATLAB[®], ImCalc/SPM, ou outro) a adequada função conversora de valores em cada voxel resultante, produzindo os mapas de T2 e MTR no formato MINC, que posteriormente foram convertidos para o formato NIfTI único (nii) e compactado (*.gz) a fim de estarem prontos para o diretório de entrada do processamento "não-FA" do TBSS no FSL.

3.3.5. Pré-processamento geral

Para o estudo da volumetria usamos de uma segmentação e reconstrução cerebral por meio da análise baseada em superfícies corticais. (DALE et al., 1999) Valemo-nos do dimensionamento dos valores médios obtidos na análise entre neuroimagens de alta resolução de diferentes sujeitos que engendrou um sistema de coordenadas para as superfícies corticais. (FISCHL et al., 1999) E de uma metodologia adjacente a esta técnica de volumetria para a medida da espessura do córtex cerebral humano usando as mesmas neuroimagens de RM. (FISCHL et al., 2000) A ferramenta computacional usada executou uma segmentação automática de todo o cérebro e aplicou uma rotulagem automatizada para identificar as estruturas neuroanatômicas do cérebro humano processado (FISCHL et al., 2002). E entre os resultados estatísticos do processamento estava o parcelamento automático do córtex cerebral humano para suas medidas de vértices, área, espessura e volume. (FISCHL et al., 2004) O

FreeSurfer (FS) foi a ferramenta computacional que usamos para obter todos estes resultados volumétricos individualizados (FISCHL, 2012) e posteriormente agrupamos e comparamos estatisticamente os valores obtidos realizando uma análise de grupos.

Para o estudo da morfometria usamos o processamento computacional de mapeamento estatístico paramétrico que identificou as diferenças anatômicas globais (ASHBURNER et al., 1998) normalizando-as por meio de funções não-lineares de transformações espaciais (ASHBURNER and FRISTON, 1999) de modo que foram estritamente avaliadas as diferenças na densidade de substâncias cerebrais entre grupos. O SPM8 foi a ferramenta computacional utilizada para se obter o mapeamento estatístico paramétrico resultante e a morfometria baseada em voxel (VBM) foi o método analítico aplicado aos grupos do estudo. (ASHBURNER and FRISTON, 2001)

Para o estudo de difusibilidade usamos o processamento computacional da estatística espacial baseada nos tratos (TBSS) implementada pelo *FMRIB Software Library* (FSL) que realizou inicialmente corregristos automáticos por meio de transformações não-rígidas com variabilidade para formas livres, (RUECKERT et al., 1999) com uma extração automatizada, rápida e robusta da máscara de processamento cerebral (SMITH et al., 2002) e normalizou as deformidades entre os sujeitos com funções otimizadas para um último corregristo não-linear rígido. (ANDERSSON, JENKINSON and SMITH, 2007), (ANDERSSON et al., 2007) O FSL foi uma ferramenta computacional que promoveu avanços na análise das imagens de RM estruturais e funcionais (SMITH et al., 2004) e a partir dela foi desenvolvida a ferramenta TBSS (de estatística espacial baseada nos tratos) que usamos no nosso estudo de difusibilidade anatômica como uma ferramenta de análise inteligente (adaptativa) de voxel entre grupos de vários sujeitos, a partir de dados de mapas de difusão. (SMITH et al., 2006) Por meio da opção de processamento “não-FA” do TBSS/FSL (que substitui o mapa de anisotropia fracionada da análise de grupo) usamos além dos mapas de difusibilidade (média e

parciais – paralela e transversas) os mapas de taxa de transferência de magnetização (MTR) e o mapa de T2 (da relaxometria de cinco ecos por 20ms ajustada pela curva bi-exponencial).

Para o estudo de conectividade cerebral e tractometria usamos um pacote de ferramentas computacionais da plataforma MATLAB[®] baseados na caracterização da conectividade anatômica usando a teoria dos grafos [originada pela solução negativa de Leonhard Euler para o problema matemático das sete pontes de *Königsberg* sobre o rio Prególia - atual Caliningrado - em 1736] aplicada em neuroimagens de DTI para construção de uma rede de conexões neurais entre as estruturas. (ITURRIA-MEDINA et al., 2007, 2008) (ITURRIA-MEDINA, 2013) Dentre as ferramentas computacionais usadas neste processamento (IbaSPM, DTItool e MabC) destacamos o IbaSPM por ser a ferramenta de parcelamento automático das estruturas cerebrais que foram usadas na rede das conexões que geraram as matrizes dos índices de conectividade anatômica; ACP para probabilidade, ACS para intensidade e ACD para densidade. (ALEMÁN-GÓMEZ, MELIE-GARCÍA and VALDÉS-HERNANDEZ, 2006)

3.4. Volumetria baseada em superfícies livres

3.4.1. FreeSurfer: os conceitos gerais

Para a análise volumétrica deste estudo utilizamos as neuroimagens 3DT1, imagens por ressonância magnética em sequência volumétrica ponderada em T1, conforme o protocolo de aquisição informado em antanho, a escolha deste tipo de imagem pauta-se na sua excelente qualidade anatômica, alta resolução espacial e contraste otimizado para os tecidos de maior interesse, a substância branca e a cinzenta. O *software* (aplicativo computacional) escolhido para processar estas neuroimagens e fornecer os resultados necessários para a efetiva análise volumétrica foi o FreeSurfer v5.1.0 (FS), disponível num sítio da Harvard

<<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>> [acessado em 06-06-2012] para Sistemas Operacionais (SO) compatíveis com Linux ou Macintosh, ou ainda, outros SO baseados na imagem de disco virtual, *virtual disk image* (VDI) [*freesurfer-Virtualbox-linux-x86-stable-pub-v5.1.0-full.vdi*, 10,312GB] instalada sobre uma Máquina Virtual Binária com Acesso Direto (AD) ao *hardware* (dispositivos físicos do computador), p.ex. a *Oracle VM Virtual Box™*. Os algoritmos computacionais do FS foram desenvolvidos no *Martinos Center for Biomedical Imaging*, da *Harvard University - Massachusetts*. O FS destina-se ao estudo *in vivo* da anatomia cortical e sub-cortical encefálica processada individualmente. (Figura 10) A maioria de suas ferramentas (*pipelines* – condutos tubulares) de segmentação é automatizada, o que o torna ideal para o uso em grandes conjuntos de dados.

Figura 10: Tela de interface do FreeSurfer - FS v5.1.0.

O FS é um conjunto de ferramentas computacionais de processamento de imagens que não tem uma interface gráfica de usuário. Pelo terminal de comandos acessa-se o diretório de bibliotecas que habilita suas funções, geralmente disponível através da seguinte linha de

comando inicial `<cd /usr/lib; ln -s libtiff.so.4 libtiff.so.3>`. As imagens de entrada necessárias para o estudo (de reconstrução cortical, segmentação de estruturas corticais e sub-corticais e análise volumétrica) no FS são as neuroimagens 3DT1 (MPRAGE, SPGR) com resolução espacial de 1mm³. Para a execução correta do processamento com o FS é necessário ter os arquivos corretos, com uma das extensões possíveis no diretório de entrada `<$SUBJECTS_DIR/nome_sujeito/>`, seguidamente executar a `<#função#>` desejada pelo Terminal indicando o diretório de entrada os arquivos a serem processados dentro dela e o diretório adequado para os arquivos de saída.

A saber, os formatos dos arquivos concernentes às imagens de entrada são: DICOM, Siemens IMA, AFNI, NIfTI (NII), Analyze (IMG, HDR), MINC (MNC) ou Mgz (arquivo mgh comprimido em gz), e os de saída são NIfTI (nii), Analyze (img, hdr) MINC (mnc) ou Mgz (mgh comprimido), tão somente. As possibilidades do FS são; Reconstrução de superfícies corticais e cálculo da espessura cortical; Segmentação das estruturas corticais e sub-corticais; Análise volumétrica; Análises para a tratografia e; E análises para ressonância funcional (fMRI). Sobre as inspeções iniciais, os dados de entrada necessitam de alguns cuidados quanto à qualidade da imagem (contraste, sinal ruído e resolução do voxel), artefatos (susceptibilidade e distorções geométricas) e variações entre populações com relação a parâmetros de tecidos em diferentes regiões encefálicas. (HAN AND FISCHL, 2007). Como dados de saída; os resultados do processamento no FS podem ser exibidos através de imagens ou planilhas numéricas, referentes a volumes (sólidos), superfícies (áreas e espessuras) com ou sem sobreposições (corregistros) e resumos estatísticos da ROI, os denominados *stats*. Uma característica especial do FS é a utilização de formatos próprios para registrar e apresentar os resultados em *Superfícies* [lh.white, lh.pial, lh.orig (branca, invólucro pia-máter, origem)]; *Curvas* [lh.curv, lh.sulc, lh.thickness (curva, sulcos, espessura)]; *Anotações* [lh.aparc.annot (notas explicativas)] e *Rótulos* [lh.pericalcarine.label (etiqueta da fissura

calcarina)]. O FS também apresenta resumos estatísticos sobre a ROI denominados *stats*. Sobre estes resumos pode-se descrever o *aseg.stats* que trata das informações sobre os volumes das estruturas sub-corticais em mm³, e o *aparc.stats* que trata das informações sobre a espessura das estruturas corticais parceladas, em mm, do volume total de substância branca, em mm³, do número de vértices no córtex e da área superficial do córtex em mm².

A ROI das superfícies pode ser manualmente definida ou pode-se usar a função `<#mris_anatomical_stats#>` para obter os resultados delas. Como variável de ambiente, antes de se processar imagens no FS, deve-se definir o diretório de instalação `<$freesurfer_home>` e o diretório com os arquivos das imagens dos sujeitos de pesquisa `<$subjects_dir>`. A estrutura dos diretórios é a seguinte; Cada sujeito de pesquisa tem seu diretório no `<$subjects_dir>` como um paciente número tal (#). As subpastas de cada diretório deste são as seguintes: [bem, stats, src, mri, script, surf, tmp, label, trash]. Em `<stats>` há os seguintes locais: [aseg, lh.parc, rh.parc e wmparc (todas com o sufixo “.stats”)]. Já na sub-pasta `<mri>` há os seguintes subdiretórios [orig, T1, brainmask, wm, aseg, aparc+aseg e wmparc]. Na subpasta `<scripts>` há os seguintes subdiretórios [recon-all e recon-all-status (todas com o sufixo “.log”)]. Na subpasta `<surf>` há os seguintes subdiretórios [lh.white, lh.curv, lh.thickness e lh.pial]. Por fim, na subpasta `<label>` os subdiretórios são os seguintes [lh.parc.annot e rh.parc.annot]. Os dados de saída da reconstrução cortical baseiam-se numa malha (Figura 17) de finitos elementos triangulares (com cerca de 150 mil triângulos/faces) com vértices (pontos de intersecção entre seis triângulos) formando um aspecto de superfícies contínuas e sem intersecção em dois modelos o *wm surface* de substância branca e o *pial surface*, uma superfície que representa o limite entre massa cinzenta e fluido cerebrospinal e corresponde aproximadamente à posição da pia-máter. Através destes resultados pode-se estudar a área, distância, curvatura e espessura na anatomia cerebral. Em resumo, a operação prática do FS se

dá mediante as “linhas de comandos” com “sintaxe” adequada no próprio “terminal”. Para o processamento básico, duas possibilidades podem ser experimentadas.

1) Para quando o diretório do sujeito não existe, usa-se a seguinte linha de comando `<# recon-all -subjid subjid [directive] #>`. Por meio dela um diretório de análises `< $SUBJECTS_DIR/subjectname >`, converte todos os arquivos de entrada do `< subjectname/mri/orig >` em volumes no formato `[*.mgz]` e realiza todas as etapas do processamento. Neste caso, se já existir volumes no `<.../subjectname>` uma mensagem de erro é retornada quando o comando “-i” é usado, mas isto pode ser resolvido usando o comando “-force” que apaga os volumes pré-existent no diretório.

2) Nesta opção se faz uma conversão manual para o formato `[*.mgz]`. Inicialmente cria-se o diretório do sujeito com o seguinte comando `<# mkdir -p $SUBJECTS_DIR /subjectname/mri/orig #>`. Depois, usa-se uma nova linha de comando para se converter o arquivo de entrada para o formato `[*.mgz]`, o comando é `<# mri_convert invol1 $SUBJECTS_DIR/subjectname/mri/orig/001.mgz \ #>` seguido pelo comando `<# mri_convert invol2 $SUBJECTS_DIR/subjectname/mri/orig/002.mgz #>`. Lembrando que, se nenhum volume de entrada for dado, o FS assume que o diretório do sujeito já foi devidamente criado e que os dados brutos já estão no formato MGZ em `< subjid/mri/orig >` com o nome `*.mgz`, onde o (*) é um número de três dígitos iniciado por zero.

Os resultados deste processamento são individuais, ou seja, cada sujeito de pesquisa processado tem seu próprio diretório de saída com arquivos que quantificam seus volumes cerebrais fracionados por estrutura e segmentações automáticas. Deste modo, usamos planilhas eletrônicas para reunir os resultados dos sujeitos de cada grupo em banco de dados agrupados e numa análise de grupo final aplicamos os testes estatísticos para comparações entre eles. Portanto, a metodologia usada no processamento volumétrico foi precedida de um cálculo para o tamanho da amostra, um N mínimo suficiente para a realização de comparações

mediante a aplicação de testes estatísticos paramétricos, especificamente monocaudais entre dois grupos pareados.

3.4.2. Cálculo do tamanho da amostra

Consideramos que, a calota craniana rígida contém o tecido cerebral (~1400g), sangue (~75ml) e líquido encéfalo-raquidiano (~75ml), e a pressão intracraniana (PIC) oscila normalmente entre 10 e 20mmHg. (Smeltzer and Bare, 2006) Já o parênquima cerebral contribui com 85% do volume intracraniano (entre 1000 e 1250ml), sendo constituído por substância branca, onde há predomínio de axônios, células gliais e mielina, e por substância cinzenta, onde há predomínio de corpos celulares, a parte sólida representa ~25% do parênquima e os ~75% restantes são constituídos por água, distribuída nos espaços extracelulares e intracelulares. (Mazzola and Adelson, 2002) Deste modo, tem-se uma média de $1.125 \pm 125\text{ml (cm}^3\text{)}$ de parênquima cerebral e, um volume intracraniano total de; $\text{VIC} = 1.125 / 0,85 = 1.323 \pm 147\text{ml}$. Com um desvio padrão de 147ml, uma medida de relevância científica para a diferença volumétrica de 200ml, usando um poder de discriminação do teste em 90%, o tipo do teste sendo paramétrico, o modelo *t-Student* de duas amostras pareadas, para a hipótese alternativa bi-caudal ou mono-caudal tem-se por resultado; [**Sample Size. 2-Sample t Test. Testing mean 1 = mean 2 (versus >). Calculating power for mean 1 = mean 2 + difference. Alpha = 0,05. Assumed standard deviation = 147. Difference 200 Size = 11 Power = 0,90 Actual Power = 0,924381. The sample size is for each group.**] o tamanho mínimo da amostra para o teste estatístico t paramétrico monocaudal para duas amostra pareadas é de 11 sujeitos para cada um dos grupos.

3.4.3. Teste de normalidade e de hipóteses

Verificado que o número de sujeitos de pesquisa com dados volumétricos encefálicos disponíveis para a análise é igual ou maior que o número mínimo calculado pelo tamanho da

amostra para se aplicar um teste estatístico paramétrico para se verificar as diferenças entre os pares dos grupos, segue-se com a verificação da normalidade. Neste caso, só é adequado e válido aplicar-se testes paramétricos se respeitadas às condições de normalidade (seguir semelhantemente uma distribuição normal-padrão) de ambas as amostras com homoscedasticidade de variâncias e uniformidade de resíduos. Assim, (usado o software Minitab® para estes testes) aplicamos o teste Shapiro-Wilk para assegurar que ambas as amostras, bem como sua combinação interdependente seguiam uma distribuição normal padrão gaussiana. Deste modo o parâmetro de tendência central (média) e o parâmetro de dispersão (variância, ou desvio padrão) podem ser usados como parâmetros das distribuições das amostras para serem comparados entre si num teste paramétrico *t-Student* vinculado (com amostras emparelhadas).

Uma vez que todas as condições necessárias para validade de um teste estatístico de comparações paramétricas foram asseguradas, tem de se escolher qual o tipo de teste estatístico paramétrico é o mais adequado. Dos paramétricos disponíveis, parte-se do princípio de que não se fará comparações múltiplas ou simultâneas com mais de duas amostras e declina-se do uso de uma Análise de Variância (ANOVA) com amostras intradependentes ou interdependentes. Outrossim, não se usa um teste de Normal Padrão (Z) de única amostra comparada com um parâmetro populacional, com a média por medida de tendência central e a variância por medida de dispersão, haja vista que o objetivo é comprar duas amostras entre si. Neste caso, temos o teste *Student* de duas amostras (T) como o teste ideal. Mas ainda há algumas opções a serem definidas. A primeira é que o teste será feito entre amostras interdependentes, e emparelhadas, deste modo, usa-se o teste t Pareado (vinculado). A segunda é que o teste de hipóteses pode ser mono-caudal, ou seja, ao invés de rejeitar-se a hipótese nula h_0 de que as duas amostras são iguais assegurando-se, com um erro do tipo um – alfa menor ou igual a 5% num bicaudal – que as amostra são diferentes entre si; pode-se

estabelecer como hipótese a ser confirmada, que o grupo 01 (caso) é menor que o grupo 02 (controle) num mono-caudal com o mesmo valor de alfa (ou seja, h1 confirma-se com probabilidade mínima de 95% dada pelo valor do erro tipo dois, beta). Deste modo tem-se que a metodologia da avaliação volumétrica corresponde a um processo de segmentação dos tecidos encefálicos de interesse, do cálculo referente ao volume de cada uma destas segmentações nas imagens de cada sujeito, da organização destes valores em grupos com pares vinculados, da verificação necessária para se assegurar a aplicabilidade válida de testes estatísticos paramétricos, a escolha do teste estatístico paramétrico mais adequado, a escolha das opções mais pertinentes para o teste estatístico e de hipóteses, e as variantes analíticas interessantes ao estudo. Estas variantes analíticas são; além da análise volumétrica do volume intracraniano total, a análise volumétrica do parênquima cerebral, da substância cinzenta, da substância branca e do LCR, separadamente.

3.5. Morfometria baseada em voxel

A morfometria é ciência da quantificação dos parâmetros que caracterizam uma forma geométrica qualquer, diferencia-se do conceito da morfologia que está associado ao estudo qualitativo e descritivo da forma das estruturas. Morfologicamente podemos qualificar uma estrutura qualquer por descritores subjetivos e naturalmente linguísticos. Por exemplo, num plano axial, sagital e/ou coronal uma estrutura pode assumir a forma poligonal plana, e aproximar-se da forma de uma das figuras geométricas planas (círculo, elipse, triângulo [equilátero, isósceles ou escaleno, {retângulo ou não}], quadrilátero [quadrado, losango, retângulo ou trapézio], pentágono, hexágono, heptágono, octógono, eneágono, decágono, etc.), já quanto à sua posição comparativa a outras estruturas ela pode estar proximal ou distal, rostral ou caudal, anterior ou posterior, medial ou lateral. (Ipsilateral ou contralateral), além disto volumetricamente uma estrutura pode aproximar-se da forma de um sólido

tridimensional da geometria espacial, tal como um cubo, paralelepípedo, esfera, elipsóide, pirâmide (tetraedro, etc.), prisma (poligonal reto ou não), cone, cilindro, tronco (de pirâmide ou cone) ou ainda setor ou arco (esfera). Deste modo a morfologia faz classificações nominativas e descrições qualitativas sobre as formas. Por exemplo, diz-se que algo é fusiforme, piramidal, cilíndrico, esférico, granular, delgado, grosso, deltóide, trapézio, etc. Já a morfometria quantifica parâmetros que servem para qualificar numericamente a forma das estruturas. Por exemplo, numa representação bidimensional (planar) uma estrutura representa um polígono cuja medida que alguns parâmetros podem bem qualificar esta forma. A saber, o perímetro, a maior e menor distância entre dois pontos do contorno que intercepta do centro geométrico da figura e razão entre o comprimento e sua diagonal média (razão g) são algumas medidas quantitativas que qualificam numericamente uma figura plana. Se razão g for aproximadamente π , a maior e a menor distância entre dois pontos do contorno que passa pelo centro geométrico da figura forem praticamente do mesmo valor, temos uma evidência quantitativa que se trata de uma figura circular e, por serem números, estes parâmetros podem ser diretamente comparados entre duas ou mais figuras.

3.5.1. VBM/SPM: os conceitos gerais

Usando a técnica de morfometria baseada em voxel (VBM) processamos no SPM8 as neuroimagens (3DT1) de RM ponderadas em T1, anatômico-volumétricas tridimensionais de alta resolução (voxel = 1mm³) adquiridas em equipamento de alto campo (B0 = 3t) depois de serem convertidas da sequência DICOM para arquivos NIfTI (*.nii) únicos, que bem identifique pelo nome, o gênero, a idade na data do exame, o registro e o grupo do sujeito de pesquisa examinado. Com os arquivos NIfTI de todos os sujeitos de pesquisa incluídos num diretório de entrada iniciamos o processamento do mapeamento estatístico paramétrico (SPM) com a inspeção visual das imagens e o realinhamento manual (Figura 11) pela sequência de planos coronal, sagital e axial e centralização na comissura anterior.

Figura 11: Controle masculino de 49 anos; alinhamento manual prvio para morfometria

Com o alinhamento manual e aprovao da inspeo visual seguimos para o pr-processamento morfomtrico que prepara os dados de entrada (Figura 12) com uma primeira segmentao para a substncia cinzenta que gera uma imagem prefixada c1*.nii, uma segunda segmentao para a substncia branca que gera uma imagem prefixada c2*.nii, uma terceira segmentao para o LCR que gera uma imagem prefixada c3*.nii, um corregristo das segmentao - neste caso feito tanto para as segmentaes de substncia cinzenta como branca, gerando os arquivos prefixados rc1*.nii e rc2*.nii alm do arquivo de matriz de transformao no-linear e linear no-rgida sufixado *_seg8.mat indicando que a transformao do espao nativo para o espao padro da morfometria usar uma suavizao gaussiana com largura de meia-altura (FHM) igual a 8mm.

Figura 12: Segmentações prévias, exemplo, controle feminino de 32 anos; (a) Original 3DT1; (b) Substância cinzenta; (c) Substância branca e; (d) Fluido encéfalo-raquidiano

As imagens segmentadas conservam o espaço nativo com voxel de 1mm^3 em 180 fatias com campo de visão real de 240 por 240mm, porém o SPM8 corrige as segmentações de substância branca e cinzenta com voxels cuja a aresta tem 1,5mm em cada direção e a cobertura é de 145 fatias com 121×121 voxels, para corresponder ao modelo (template_#.nii) elaborado em seis iterações baseadas no DARTEL usando os próprios sujeitos do estudo com campos de deformações aplicados sobre o atlas de referência MNI152 (obtido pela aquisição de 152 controles normais pelo Instituto de Neurologia de Montreal). Assim, o processamento gera imagens (Figura 13) corrigidas das segmentações (rc#*.nii) além dos *templates* até a iteração seis (template_#.nii) e dos mapas com os campos de deformações de cada sujeito (u_rc1*_Template.nii) para o modelo de correção final.

Figura 13: Segmentação corrigida, templates da primeira iteração DARTEL e campo de deformações aplicado a cada sujeito para se obter o template final, controle feminino de 32

anos; (a) Corregristo da segmentação de substância cinzenta; (b) substância branca; (c) Template_0 do sujeito corregristado; (d) campo de deformação para o template final e; (e) template final DARTEL com seis iterações

Depois desta etapa o pré-processamento VBM do SPM8 gera a imagem final de cada sujeito de pesquisa que será usada na análise SPM para a produção dos resultados em mapas de probabilidades seguindo o desenho de um teste paramétrico selecionado, neste caso, um teste t de duas amostras pareadas por gênero e tendo o vetor das idades na data do exame como covariável para a análise de grupos. Conforme os parâmetros selecionados para este processamento obtemos dois arquivos para cada sujeito de pesquisa (Figura 14). Um que é prefixado swc1*.nii correspondendo à segmentação cinzenta (c1 = *class 1*) corregristada (r = *register*) e já transformada do espaço nativo para o espaço do mundo real (w = *world*) e suavizada (s = *smoothed*) pela aplicação de filtro gaussiano com largura à meia-altura definida em 8mm; e outro arquivo prefixado swc2*.nii correspondendo ao mesmo processamento só que aplicado na segmentação feita para a substância branca (c2 = *class 2*), haja vista que este estudo de morfometria tem não só a substância cinzenta por alvo mas também a substância branca possivelmente alterada na PIDC.

Figura 14: Exemplo de arquivos gerados para o processamento SPM com cada sujeito de pesquisa; (a) Segmentação de substância cinzenta suavizada e; (b) Substância branca suavizada.

3.5.2. Processamento Morfométrico Geral

Usando-se o software SPM-8, na biblioteca de funções da plataforma MATLAB®, em linhas gerais o processamento morfométrico se dá pela aplicação metodológica do

Mapeamento Estatístico Paramétrico (SPM) numa modelagem analítica de Morfometria baseada em voxel (VBM). Tendo, pois, sido feito o pré-processamento morfométrico necessário no SPM-8, obtêm-se as matrizes volumétricas resultantes (série de matrizes bi-dimensionais, uma por fatia axial do volume escaneado) em arquivos NIfTI (*Neuroimaging Informatics Technology Initiative*) prefixados com smwcl (referente ao pré-processamento aplicado). O arquivo smwcl*.nii (onde o “*” identifica do sujeito e o tipo de exame, data e imagem padronizados) está presente no diretório do sujeito de pesquisa e deve estar incluso no diretório do grupo a que pertence (caso ou controle). A opção inicial são os modelos básicos disponíveis no botão “*basic models*” no qual se edita um projeto (*batch*) caracterizando os atributos do desenho do estudo. Defini-se um diretório de saída aonde serão salvos os arquivos resultantes deste processamento. Define-se o tipo de teste estatístico paramétrico será praticado, no caso o teste T pareado (as opções possíveis são: teste Z (T de uma amostra [para quando se deseja comparar uma variável dependente de uma única amostra com média populacional de sua variância, ambas seguindo uma distribuição normal padrão gaussiana]), teste T (duas amostras independentes [para quando se deseja comparar dois grupos totalmente independentes]), T pareado (duas amostras interdependentes [para quando se deseja compara dois grupos com algum pareamento de sujeitos]), F (Análise de Variância para mais de duas amostras independentes [para quando se deseja compara simultaneamente mais de dois grupos totalmente independentes]), F (ANOVA para mais de duas amostras interdependentes), Regressão Múltipla [para quando se deseja obter os coeficientes regressores – em regressões lineares multivariadas – que correlacionam variáveis diferentes num grupo ou conjuntos diferentes de uma mesma variável], Análise Fatorial Completa e Análise Fatorial Flexível [para quando se deseja reagrupar num número menor de fatores – que o número inicial de variáveis – os valores com maior correlação interdependente e assim definir o tipo de correlação – forte ou fraca, e direta ou inversa – entre os fatores gerados].

Definem-se as covariáveis a serem consideradas por meio de vetores (matrizes-linha) com o valor desta variável-controle para cada sujeito de pesquisa, tanto do grupo caso como do grupo controle, formando seus respectivos pares comparativos.

No caso deste estudo, os pares formados possuem exatamente o mesmo gênero e todas as covariáveis consideradas (antropométricas, psicométricas e sócio-ambientais) valores muito semelhantes. Deste modo, a única covariável a ser inserida no desenho do estudo é a idade, uma variável-controle inserida por meio de um vetor com as idades de cada sujeito na exata data em que o exame de ressonância magnética foi feito, resultando a imagem utilizada. Cada mapa de entrada do processamento VBM (arquivos prefixados *smwcl*.nii* no diretório de cada sujeito de pesquisa em seu respectivo diretório de grupo [caso ou controle]) é definido em pares ordenados (caso-controle) onde os sujeitos do grupo 01 correspondem ao grupo-caso e do grupo 02 ao grupo-controle. Isto é definido tão logo o desenho do estudo escolhido seja concernente ao teste T pareado de duas amostras interdependentes. Ao final da qualificação do modelo básico no projeto analítico (*basic models* do *batch*), o arquivo SPM.mat personalizado para o estudo é gerado no diretório definido como diretório de saída ao se executar este processamento. Há uma opção de processamento tardio, feita após o salvamento do projeto (*batch*) gerando o SPM.mat na opção denominada estimativa (*estimate*).

Como resultado deste processamento, há, também, uma matriz com o desenho do estudo que pode ser confirmado antes de ser prosseguir com a obtenção dos resultados pela aplicação do teste estatístico propriamente dito. Estando o desenho do estudo confirmado a opção seguinte é a de resultados (*results*) que se dá por meio da escolha do arquivo SPM.mat especialmente salvo no diretório de saída de um estudo cujo desenho já foi aprovado numa matriz de verificação. Ao se aplicar a opção *results* do processamento exige-se que alguns parâmetros sejam definidos para o tipo de teste comparativo. Primeiramente é o contraste, no caso usa-se o contraste T para comparações monocaudais (“-1” indica que o grupo 01 é menor

que o grupo 02 e “1” indica que o grupo 01 é maior que o grupo 02) e o contraste F para comparações bicaudais (onde tanto “1” como “-1” indica que o grupo 01 é diferente do grupo 02 e “0” indica que os grupos são iguais, e os valores omitidos são assumidos como zero). Depois são os valores para o erro do tipo um (valor de p para alfa) e o valor da aplicação da correção familiar FWE (*family wise error*) e FDR (*false discovery rate*) para falso-positivos, além do tamanho de voxels agrupados nos clusters a serem analisados. Enfim, no caso deste estudo, temos um p definido para menos de 0,05 como valor de alfa em um contraste do tipo T com aplicação de FWE e FDR para todo o encéfalo sem agrupamento específico de voxels em clusters.

3.5.3. O diretório de saída

Os arquivos gerados no diretório de saída definido para este processamento VBM por meio do SPM-8 são de significativa importância para se entender o que efetivamente é feito por meio deste processamento. Laconicamente, adquire-se os arquivos *smwcl*.nii* e os transforma num arquivo resultante *spmX_000#* que representa uma mapa de valores de um teste estatístico de uma análise de grupos entre dois conjuntos de imagens.

O primeiro arquivo gerado no diretório de saída é o *SPM.mat*, no instante em que o projeto (*batch*) é executado, seja imediatamente ou por ocasião da estimação (opção *estimate*), este arquivo é personalizado ao desenho do estudo, vincula-se a um demonstrativo deste desenho e é solicitado para a opção seguinte de obtenção dos resultados (*results*). Este arquivo é atualizado ao final do processamento da opção (*results*). A partir da opção “resultados” vários arquivos *IMG* e *HDR* de mesmos nomes são gerados no diretório de saída, alguns permanecem e outros são temporários e apagam-se após a criação de outros. Pela sequência de geração destes arquivos, o primeiro nome (destes arquivos com extensões *HDR* e *IMG* gerados no diretório de saída do processamento) é o *beta_000#*, onde o #

equivale a um número de ordem crescente, começando por 1. No caso de um teste Z, ou T com uma única amostra, e sem covariáveis (variáveis de controle inexistentes) engendra-se um único arquivo *beta_0001*, no caso deste mesmo teste possuir uma covariável, gera-se dois betas, no caso de se escolher um teste T de duas amostras independentes sem covariáveis, resulta-se na geração de dois betas, acrescentando-se uma covariável neste mesmo teste tem-se por resultado a criação de três betas, ou seja, o número de arquivos betas gerados é igual ao número de colunas da matriz do desenho do estudo apresentado na geração do *SPM.mat*. Confirmando isto, para o caso deste estudo, tem-se o número de arquivos betas gerados no diretório de saída igual ao número de pares criados, mais o número de covariáveis acrescentadas além do número de condições possíveis para a variável dependente (principal, a ser comparada). Ou seja, inicialmente, o arquivo prefixado com *smwc* é a matriz de entrada para a análise estatística do SPM-8. O valor do *smwc1* representa a probabilidade de naquele voxel ter a substância cinzenta (segmentada no caso *c1*). Há um arquivo deste tipo para cada sujeito dos grupos, no diretório do sujeito. (s=suavizada, m=modulada, w=deformação normalizada, c=classificada 1= s. cinzenta).

Na opção *basic models* do SPM-8 gera-se os arquivos: *beta*, (*ResI000#*, que são temporários), *ResMS* e *RPV*, estes arquivos destinam-se à análise estatística paramétrica do SPM-8. E somente durante a opção *results* do SMP-8 são gerados os arquivos *com_0001* e *spmT_0001*. (além de atualizar o *SPM.mat*). O arquivo *com_0001* refere-se ao tipo do contraste escolhido (t comparação mono-caudal; 1 para grupo 1 >grupo2 ou -1, para, grupo 1 < grupo 2, ou ainda F, para comparações bicaudais; grupo1 diferente do grupo 2) para o teste. No caso de comparações com uma amostra, o grupo 2 será o modelo padrão (*template*) do SPM-8. Já o arquivo *spmT_0001* apresenta o mapa estatístico paramétrico com os resultados finais, ou seja, em cada voxel de localização (x,y,z) no modelo padrão (*template*) normalizado, onde haja uma diferença estatisticamente significativa, há uma intensidade de

difeomorfismo. O valor do *beta* representa (um arquivo para cada coluna da matriz do desenho) o valor médio do coeficiente de regressão do GLM para todos os sujeitos do grupo Y comparado com o *template* padrão do SPM8, o X. Por ser um valor médio ele não necessita ser acrescido de um resíduo *ResI* (para cada sujeito) pois o valor médio deste erro aproxima-se de zero, inclusive, por isto, os arquivos *ResI* são substituídos por um *ReMS* que os reúne numa média quadrática, e não numa média simples, para uma futura correção.

No teste estatístico o valor de *beta* deve ser comparado com zero; Se *beta* for diferente de zero, temos uma relação linear bem estabelecida pelo GLM, mas; Se *beta* for próximo ou igual a zero, e o valor do voxel para a média do grupo escolhido não for muito próximo de zero, então, este valor é tão diferente do valor que este mesmo voxel assume no modelo padrão (*template*) que o GLM, neste voxel, tem o *resíduo* como seu principal componente. O valor final de p para os voxel do mapa *spmT* corresponde à probabilidade de naquele voxel (especialmente determinado: x,y,z) haver alguma diferença (estatisticamente significativa com erro alfa menor ou igual a 5%, conforme definido nas opções de contraste do *results*) na comparação entre a média dos sujeitos de um grupo e o *template*. Enfim, o arquivo *beta* é um mapa dos coeficientes regressores do GLM que relaciona cada sujeito (imagem 3D) do grupo com o *template* (modelo padrão) do SPM8. O número de arquivos *beta* gerados é igual ao número de colunas da matriz de desenho do estudo, ou seja, valores possíveis da variável principal (*mean*, ou *groups*, ou *conditions* mais os *subjects*) mais o número de covariáveis (acrescentadas em vetores). Já os arquivos *ResI_000#* contêm os resíduos do GLM. O número de arquivos é igual ao número de sujeitos do desenho. Destes arquivos gera-se o *ResMS* e seguidamente são apagados. O *ResMS* é único e refere-se à média quadrática dos resíduos do GLM aplicado para cada sujeito comparado com o modelo padrão (*template*) do SPM8. Usa-se a média quadrática porque a média dos resíduos, em geral, é aproximadamente igual a zero.

Nesta análise estatística, as covariáveis são usadas no lugar da variável principal nas aplicações GLM até produzirem como resultados arquivos betas. Uma combinação entre estes betas é feita, geralmente uma média ponderada considerando os betas principais (com peso maior) e os betas das variáveis de controle (com pesos menores). Para o teste t de uma amostra e sem covariáveis; os contrastes -1 e 1 foram testados com sucesso. Realmente o sinal negativo nos valores do arquivo com_0001 são decorrentes desta escolha (-1) que significa um teste mono-caudal em que o grupo comparado é menor que o modelo (template) padrão populacional. Tanto os arquivos temporários ResI, como os demais salvos no diretório de saída (para a versão de contraste 1 e -1) e em análise observacional pôde-se concluir que os valores dos arquivos prefixados com ResI não são interdependentes e traduzem somente as parcelas dos erros de cada sujeito (imagem) no GML e para cada *voxel*.

Há também o arquivo *RPV*, acrônimo da expressão *Resels Per Voxel*. RESEL é um neologismo relacionado à resolução elementar num espaço isotrópico proposto como ajuste de tamanhos para *clusters* de acordo com a rugosidade local nas imagens. (WORSLEY et al., 1999) Esta rugosidade local está prevista no SPM através do *Resel Per Voxel* (RPV) da imagem e é usada para deformar ou achatar a imagem em um espaço isotrópico de dados. O tamanho de cada agrupamento é corrigido de acordo com os valores da suavidade local, usando a imagem RPV e os tamanhos corrigidos são indicados na tabela de resultados. Um *resel* corresponde a uma unidade de resolução elementar de uma imagem usada no processamento digital para a análise que descreve a resolução espacial da imagem real num *resel* em duas ou três dimensões. O termo RESEL foi usado pela primeira vez em 1985. (TOBLER and KENNEDY, 1985) A resolução espacial é comumente usada como uma contagem de *pixeis* na imagem digital, embora este valor seja referente ao número máximo de pontos distinguíveis numa imagem digital. O número de *resels* na imagem é menor ou igual ao número máximo de elementos distinguíveis, *pixeis* ou *voxeis*, de uma imagem. Como os

resels podem variar em toda a imagem, a resolução local pode ser expressa em *resels* por pixel ou por voxel, RPV é a sigla correspondente a *resels por voxel*. Enfim o *resel* pode ser entendido como uma inferência não-estacionária de tamanho do *cluster* ou agrupamento de voxels que definirá o tamanho do real elemento de resolução espacial local na imagem. (SILVER et al., 2011) Nos testes de tamanho do cluster, clusters significativos são formados a partir *voxels* contíguos, cujos *t* ou *F-estatístico* exceder um limite de *cluster* de formação fixa, u_c (ou equivalentemente, um nível de significância α não corrigida c que determina univocamente u_c). Resumidamente, corrige-se a imagem não-estacionária medindo a suavidade em cada voxel, uma quantidade que está relacionada com a variância das derivadas espaciais parciais dos erros do modelo. O teste de tamanho do *cluster* foi descrito em detalhes (HAYASAKA et al., 2004) porém aqui só o vemos para facilitar a discussão posterior. A partir desta medida de suavidade de imagem, obtém-se o FWHM. O FWHM refere-se à “largura total à meia-altura” de uma gaussiana necessária para suavizar um ruído branco aleatório na imagem, note que isotropia não é assumida, e FWHM é completamente especificado por $[FWHM_x FWHM_y FWHM_z]$, onde a quantidade relacionada a cada *resel* é um *voxel* “virtual” de tamanho $FWHM_x \times FWHM_y \times FWHM_z$. A contagem de *resels* expressa o N_{res} , ou seja, o número de *resels* que se encaixam no volume de pesquisa, $N_{res} = V / [FWHM_x \times FWHM_y \times FWHM_z]$. Onde o V representa o número de *voxels* na imagem.

Sob a não-estacionaridade, a FWHM é estimada em cada voxel v , dando uma medida para o *resel*. O tamanho desta *resel* local, $1 / [FWHM_x(v) \times FWHM_y(v) \times FWHM_z(v)]$, é denotado na RPV (v) com *resels per voxel* em cada local v . Deste modo, o volume efetivo de um *voxel*, em relação à lisura da imagem, é obtido. O próximo passo consiste em calcular a suavidade ajustado tamanho do conjunto, S' somando-se os volumes eficazes dos *voxels* ao longo de um *cluster*: $S' = \Sigma[RPV(v)]$. Este procedimento é equivalente à medição do tamanho do *cluster* numa imagem distorcida, onde o espaço tem sido deformado, de tal maneira que se

tem assegurada a estacionaridade. (WORSLEY et al., 1999) Finalmente, a probabilidade de se obter aglomerados de um dado tamanho S' sob a hipótese nula é calculada e corrigida para comparações múltiplas. Esta probabilidade é derivada da Característica Euler da imagem, $\rho(u_c)$, uma propriedade topológica que se aproxima o número esperado de *clusters* numa imagem limiarizada de suavidade conhecida. Contudo, no caso estacionário, o tamanho do *cluster* esperado pode ser obtido pela seguinte equação; $E(S) = E(N_v) / E(C) \rightarrow (3)$. Onde $E(N_v)$ em (3) é o número esperado de *voxels* supra-liminares Va_c , enquanto o $E(C)$ é o número esperado de aglomerados $Vp(\alpha_c)$. Esta expressão também é válida para S' , mas *voxels* supra-liminares devem ser medidos em *resels*, ou seja, $E(N_v) = N_{res} \alpha_c$. O tamanho esperado aglomerado é então utilizado para estimar a distribuição nula de S (ou S') e obter valores não-corrigidos de P , que posteriormente são corrigidos pelo FWE e/ou pelo FDR a fim de se considerar somente os *clusters* significativos para a análise estatístico-científica cerebral. (CHUMBLEY AND FRISTON, 2009)

3.5.4. Arquivos gerados por resultados

Os arquivos de extensão HDR e IMG nomeados com prefixo “beta” (beta_0001.img, p.ex.) salvos no diretório de saída da análise estatística do SPM-8 contêm matrizes de valores dos coeficientes regressores (β) resultantes da aplicação estatística do Modelo Linear Geral (GLM) de transformações probabilísticas. Seguindo a equação $Y = \beta X + ResI$, tem-se que X é a matriz de valores esperados adquiridos na base de dados do SPM-8 em seu modelo padrão (*template*), Y são os valores encontrados para o grupo experimental formado pela média dos valores de cada *voxel* para os arquivos de entrada da análise (arquivos dos diretórios dos sujeitos, prefixados com smwc1*.nii). Assim quão próximo de 01 (um) for o valor do coeficiente β , quão semelhante será o valor do grupo $Y(\beta)$ comparado ao valor de referência $X(v)$. Deste modo, o teste estatístico para uma comparação normal (Z), ou seja, T de uma

única amostra comparada ao modelo geral (*template*) e sem covariáveis gera um único arquivo *beta_0001* cujos valores em cada voxel de posição (*v*) são os regressores do GLM aplicado sobre o $Y(\beta)$. Sabe-se que quanto mais os valores de *beta* aproximar-se de zero, mais o GLM aplicado mostra-se inadequado tendo o resíduo a maior participação na transformação no valor encontrado $Y(v)$ para o grupo. De mesma sorte, quanto mais próximo de 01 (um) for um valor de *beta*, mais próximo de $X(v)$ é o valor de $Y(v)$. No entanto, não são os valores de *beta* que são comparados diretamente com constantes iguais a zero ou um. A saber, para o teste estatístico, os valores do *beta* são multiplicados pelos valores do modelo padrão (personalizados pela ponderação no *template_6.nii*, p.ex.) e acrescidos dos valores presentes no arquivo com 20% (fator 0,2) da média quadrática dos resíduos (*ResMS.img*) do grupo experimental. Seguidamente, os valores resultantes são comparados com a média do grupo experimental $Y(v)$ mediante as opções de contraste (salvas em *con_0001*) do teste estatístico escolhido. No caso de se escolher um contraste do tipo T (mono-caudal) tem-se a opção por -1 para quando o grupo experimental terá um valor $Y(v)$ menor que o valor correspondente no modelo geral (*template*) $X(v)$ e a opção +1, para quando o valor $Y(v)$ for menor no modelo geral esperado $X(v)$. Já no caso de se comparar a igualdade dos grupos (numa modalidade bi-caudal) tem-se um contraste do tipo F, onde se compara, tão somente, se os valores esperados $X(v)$ são iguais aos encontrados no grupo experimental $Y(v)$. Nesta última situação, rejeita-se a hipótese nula de igualdade entre os valores encontrados para cada *voxel* no grupo experimental e seus valores esperados respeitantes ao modelo geral (*template*) quando a probabilidade for inferior a cinco por cento ($p < 0,05$). e com estes resultados compõem os voxels do arquivo derradeiro, o *spmT_0001* (hdr e img). Enfim, tem-se um mapa com fundo branco (unitário) e valores negativos (para o caso de um contraste T igual a -1) para os *voxels* onde há diferenças morfométricas estatisticamente significativas, ou um mapa de fundo preto (zero) e valores positivos (para o caso de um contraste T igual a 1) nos *voxels* onde as

diferenças foram identificadas. Para todos os demais tipos de comparações haverá mais de um arquivo beta sendo gerado no diretório de saída e o teste estatístico para as hipóteses de igualdade entre os grupos dependerá de uma combinação dos *betas*. De fato, o número de arquivos prefixados *beta* gerados no diretório de saída do SPM-8 é igual ao número de colunas da matriz que representa do desenho do estudo (gerada no executar da opção *basic models*). Para quando há alguma covariável, haverá um arquivo *beta* para a variável principal e mais um arquivo para cada covariável inserida no desenho. Cada *beta* obtido fará uma combinação, isto é, uma média ponderada, com pesos menores para os *betas* das covariáveis e um peso maior para os *betas* da variável principal, que resultará um novo valor de beta para cada *voxel* e assim o processo estatístico se dá pela comparação já apresentada, seguindo o mesmo método ($\beta * X + \text{ResMS} = Y$) comparativo entre o valor encontrado Y e o valor esperado X numa localização v, e o processo estatístico se dá pelo mesmo método comparativo já apresentado em antanho. No caso de um teste T de duas amostras compara-se a primeiro o resultado de cada uma das amostras (média dos *voxels* dos arquivos prefixados smwc de cada grupo) com o modelo geral padrão (*template*). Assim gera-se um arquivo de *betas* para cada um dos dois grupos. Depois, se houver alguma covariável gera-se também um arquivo *beta* para cada covariável inserida como vetor (matriz coluna) que inclui todos os sujeitos de pesquisa, ou seja, imagens de ambos os grupos. Nesta situação a combinação dos *betas* é uma média ponderada entre os *betas* das covariáveis (com um peso menor) e o beta (com peso maior) do grupo 01 e do grupo 02, separadamente. Como resultado tem-se duas combinações de *betas* que são multiplicados pela média dos valores encontrados nos arquivos prefixados smwc de cada grupo e acrescido de 20% dos resíduos quadráticos médios e comparados com o modelo geral padrão (*template*, que pode inclusive ter sido ponderado pela personalização do grupo num *template_6.nii*). Ao final o teste estatístico é feito comparando-se os grupos das diferenças do grupo-caso com o grupo das diferenças do grupo-controle, já

consideradas as covariáveis inseridas antes de se obter as primeiras diferenças. No tocante ao desenho do presente trabalho tem-se um teste T de duas amostras pareadas sem covariáveis. Há então uma coluna para a primeira situação da variável principal, uma coluna para a segunda situação da variável principal, e uma coluna para a situação de cada par formado pelos sujeitos de pesquisa, um do grupo-caso e seu equivalente no grupo-controle.

3.6. Tratometria & Conectividade Cerebral

O processamento para conectividade cerebral e tratometria se dá pelo uso de ferramentas computacionais de processamento de imagens médicas específicas para a investigação de parâmetros relacionados à difusibilidade anatômica e a Conectividade Cerebral pelas fibras que interligam as regiões encefálicas. Como pré-requisito deste processo, devemos ter a sequência DICOM anatômica do tipo 3DT1 com cerca de 180 Imagens cujo voxel tenha 1mm^3 e a sequência DICOM de difusão com 2448 imagens de 72 fatias em 34 gradientes. Para a realização do processamento que estuda as fibras e a conectividade cerebral são necessários os seguintes aplicativos computacionais em suas versões atuais e compatíveis entre si e com o sistema operacional: <MRIcro>; <MATLAB®> com <Convert_bySlices_byGradient.m>; <MATLAB®> com <IBASPM>; <SPM>; <MABC> e <DTItool>. Outros requisitos importantes são os arquivos de orientações específicas, ou seja; o arquivo <DTI_high.txt> com as 34 direções de gradientes de difusão da *workstation*, e o arquivo <atlas116.cod> com a lista das 116 estruturas cerebrais usadas no mapa básico para o estudo da conectividade cerebral. O processamento para avaliação da conectividade cerebral e tratometria é feito a partir de um conjunto de ferramentas MATLAB® aplicadas sobre as neuroimagens T1 e DTI convertidas em *analyze* HDR/IMG 3D através de um sequência (Figura 15) com pré-processamento, processamento inicial, intermediário e principal.

Figura 15: Diagrama de blocos do processamento para o estudo de conectividade cerebral

3.6.1. Pré-processamento

Usando o Terminal; Separa-se os sujeitos de pesquisa em dois grupos e, em cada grupo, separa-se o gênero e a faixa etária dos sujeitos. Usando o MRICro, converte-se a sequência 3DT1 em arquivos *analyze* (HDR & IMG). Depois, converte-se a sequência DTI de 2448 imagens, só que na quarta dimensão, posto que cada fatia possui aquisições com diferentes gradientes. Não obstante, as imagens *analyze* 4D são depois convertidas em um conjunto de 72 imagens 3D, cada qual, uma fatia com as 34 direções de gradiente, num total de 34 gradientes x 72 fatias = 2448 DICOM. Usando o MATLAB[®] com o <convert_bySlices_byGradient> converte-se as 72 <slice0#.*> numa sequência de 34 imagens, cada qual 3D com 72 fatias num dos 34 gradientes.

3.6.2. Processamento Inicial

O diretório de saída é para esta etapa do processamento é <by_gradient>. Com o pacote <SPM> instalado na biblioteca do <MATLAB®> define-se a primeira DTI (sem gradiente) como <reference image>, escolhe-se a sequência 3DT1 toda como <source image>, para o corregristo da sequencia DTI com a 3DT1. Depois, usa-se esta imagem corregristada para normalização, segmentação e vinculação a um atlas de estruturas cerebrais, isto é feito com o pacote de ferramentas <IbaSPM> instalado, nele, confirma-se <116 Brain Structures> como Atlas de referência e, por modalidade seleciona-se o <T1 Template>, por fim usa-se aplicar um modelo de campo <Hidden Markov Random Field Model> com peso médio de <HMRF 0.3> Observa-se que, no diretório de saída escolhido, este processo gera automaticamente sub-pastas <Segmented>, <Normalized> e <Atlased>. Com o pacote de ferramentas <MabC>; na seção <preprocessing> escolhe-se a opção <make masks> e criar máscara para substância cinzenta, branca e LCR. Use-se a segmentação 1 para a substancia cinzenta, a 2 para a substância branca e a 3 para o CSF; por definição, conserva-se o Alfa igual a 1 para a opção <Gray/White matter Tuning Parameter> e o diretório de saída <Masks>. Pode ser feita uma máscara (com as segmentações 1, 2 e 3) para vários sujeitos ou uma para cada sujeito. Foram feitas uma para cada um, pois cada máscara serve-nos a definir onde aplicar o processamento em cada imagem, por exemplo, a <Mask_contrast> que retira o efeito anisotrópico do SCF e evita processamentos inúteis noutras regiões além da ROI (WM e GM).

3.6.3. Processamento Intermediário

Com o pacote de ferramentas <DITtool> instalado, na seção <DTI Estimations> completa-se os dados de entrada selecionando-se as imagens da pasta <by_gradient> as imagens das máscaras <mask_contrast> e o arquivo dos gradientes <DTI_high.txt> e estima-

se o cálculo dos coeficientes <CI, D, E, FA, L e TR>. Observa-se como valores de entrada: <dti estimations>; <i01-i33.img, by_gradient>; <mask_contrast> e <DTI_high.txt>. Não seleciona-se a opção <regularize> nem a opção <anisotropy ratio> para evitar demasiada lentidão no processamento intermediário. Os coeficientes estimados são; D = tensores; E = autovetores; FA = anisotropia fracionada; L = autovalores; TR = trato; CI = coerência intervoxel. Para inspecionar o resultado estimado usa-se a opção <Plots> do <DTItool> e seleciona-se as imagens <D*.img FA*.img e E*.img>.

Usando a seção <create zones> do MAbC preenche-se a parcela de dados de entrada tendo a imagem prefixada com <r>, isto é, <rIM00001.hdr> do diretório <Atlased> como Imagem de Atlas, e o Atlas <116 brain structures> definido por Atlas de referência. Na segunda parte, entra-se com as imagens de máscaras específicas para a imagem <rIM00001.hdr>. E na terceira parte, define-se o diretório de saída <Zones> dentro do diretório <Atlased>; este processo gera um arquivo <Zones.mat> que contém as informações de posição de cada uma das estruturas. Na opção <Fiber Tracking> seleciona-se <Streamline Methods> e em seu quando de parâmetros ajusta-se <Probabilist tensor propagation with the neighbors influence (PTPn)> como método consolidado e em <To compute fiber paths> seleciona-se <Between pairs of segmented Zones> tendo o <zones.mat> por <Zones files> e em <Zones of interst> enumera-se as zonas eleitas, depois de feito <1:116> e verificado quais zonas têm maior conectividade, assim em <To initialize fibers paths from> seleciona-se <Surface of the regions of interest (Zones) or from all ROIs seed points> e ao avançar mantêm-se os parâmetros padronizados para a elaboração dos tratos com 0,5mm de tamanho do passo, 400mm de comprimento máximo, 200 repetições possíveis, ângulo agudo de no mínimo 60 graus e no máximo 80 vetores diferentes compondo o mesmo trato.

3.6.4. Processamento Principal

Ainda usando a ferramenta MabC, na caixa <Connectivity> seleciona-se a opção <ACS, ACD & ACP>. Na janela seguinte <connectivity_options> seleciona-se <Streamline Methods> em <Used fiber tracking> já em "folders with saved paths or max. prb. maps" seleciona-se a pasta <fiber paths>. Tendo a opção "between pairs of segmented Zones" selecionada, identificamos o arquivo <zones.mat> e enumerando as zonas de interesse em <Zones of interest>. O resultado é um conjunto de quatro matrizes de conectividade entre as zonas selecionadas para cada sujeito de pesquisa submetido a todas as etapas do processamento de conectividade cerebral; a matriz com a intensidade de conectividade anatômica (matrix_ACS.mat), a matriz com a densidade de conectividade anatômica (matrix_ACD.mat), a matriz com a probabilidade de conectividade anatômica (matrix_ACP.mat) e a matriz com o comprimento dos tratos (matrix_LONG.mat). Este é o resultado suficiente para se proceder com a análise de grupo sobre as diferenças com significância científica para os coeficientes anatômicos da conectividade cerebral entre os pacientes com PIDC e seus pares que são controles normais no mesmo gênero e com idade, escolaridade e origem regional semelhante. Este resultado também é suficiente para apresentar uma tratometria estatístico-descritiva e comparada.

3.6.5. IbaSPM/MabC/DTItool: os conceitos gerais

As ferramentas computacionais necessárias têm de serem compatíveis entre si, além do K-pacs, RadiAnt e MRIcro usamos no MATLAB® o "Convert_bySlices_byGradient.m" o SPM5, IbaSPM, MabC e DTItool. Também foi necessário compor um arquivo de dados com as coordenadas da orientação dos gradientes aplicados na sequência DTI pela máquina de ressonância (*Workstation*) o "Grad_DTI_HIGH_ISO.dat" elaborado pelo gerador de coordenada do sítio <<http://godzilla.kennedykrieger.org/~jfarrell/OTHERphilips/GUI.html>>

para Workstation Philips 3T, tendo a opção "no" para o parâmetro "overplus" selecionada, o que define os gradientes com direções fixadas pela referência da máquina e não da imagem. Por fim, um arquivo "atlas_116.cod" disponível na biblioteca do MabC também foi usado para identificar o nome de cada estrutura cerebral enumerada neste atlas neuroanatômico. Organizados os dados de entrada nas sequências DTI e 3DT1 em grupos, por meio do MRicro, (Figura 16) os arquivos foram convertidos para o formato *Analyze*.

Figura 16: Conversão DCM/Analyze no MRicro para tratometria e conectividade cerebral

Para a sequência DTI é necessário uma conversão de 4D para 3D, usando <slice> como prefixo para o nome de 72 imagens 3D, com a opção <Segment Padded [File001,

File002]>, gera-se uma sequência de arquivos em ordem alfanumérica que possibilita a seleção direta de uma etapa seguinte de conversão por ordem de gradiente com o <Convert_BySlices_byGradient> no MATLAB®. Seguidamente (Figura 17), após a conversão DTI de *analyze* 4D numa sequência de 72 conjuntos 3D, o resultado; 72 imagens, cada uma, com uma fatia em 34 gradientes, deve ser reorientado (*reslice*) em 34 volumes de 72 fatias, cada volume num gradiente diferente. Usando a função <Convert_BySlices_byGradient> reorientamos as 72 <slice0#.*> em uma sequência de 34 imagens, cada volume 3D com 72 fatias em um dos 34 gradientes, tudo no diretório de saída <by_gradient>, pois, feito isto, as imagens estão na sequência do <shift+end>.

Figura 17: Reorientação DTI por gradientes para tratometria e conectividade cerebral

Depois é feita uma inspeção visual nas *analyze* 3DT1 e DTI geradas para cada sujeito de pesquisa e é feito um realinhamento manual das imagens 3DT1 através do SPM, centralizando a imagem pela comissura anterior e ajustando a angulação pela comissura posterior tocando a linha horizontal média da imagem sagital e alinhando a inclinação com a linha vertical média das imagens coronais e axiais. Na interface gráfica do exibidor de imagens do SPM8 (Figura 18) primeiro verificamos se a ordem é a mesma para todas as imagens obedecendo os planos [coronal = superior esquerda; sagital = superior direita e; axial = inferior esquerda]

Figura 18: Realinhamento manual 3DT1 no SPM para tratometria e conectividade cerebral; (1) ordem dos planos coronal, sagital e axial; (2) reorientação por deslocamentos e rotações; (3) salvar nova reorientação na imagem e; (4) ajusta para o centro da imagem.

Em seguida, (Figura 19), usamos SPM5 para corrigir a sequência 3DT1 na DTI.

Figura 19: Correção de 3DT1 em DTI por SPM5 para IbaSPM.

Usamos o SPM compatível (no caso o SPM5 e não SPM8) com o IbaSPM. Definimos a primeira imagem DTI (B0, sem gradiente) como imagem de referência e escolhemos a 3DT1 do mesmo sujeito como a imagem de origem a ser corrigida. Para cada sujeito de pesquisa, o arquivo resultante aparece depois de aproximadamente três minutos de processamento com o mesmo nome, porém prefixado com um <I> e no mesmo diretório da

imagem fonte, *analyze* 3DT1. O processamento da quinta etapa (Figura 20) gera atlas e faz normalizações e segmentações para cada sujeito usando a ferramenta IbaSPM.

Figura 20: Gerando atlas, segmentações e normalizações com o IbaSPM.

Para o processamento de conectividade e tratometria no IbaSPM seleciona-se a opção <Atlasing...> e no quadro seguinte de interface gráfica assume-se como imagem de entrada a imagem resultante da etapa anterior, cujo nome está prefixado com <r> por ser o corregristo 3DT1 para a DTI do mesmo sujeito. Já o diretório de saída por padrão assume-se o nome <atlased>, o Atlas de referência é o mais completo disponível na biblioteca do IbaSPM, o de 116 estruturas cerebrais enumeradas. Como modalidade da imagem de entrada selecionamos

que se trata de um modelo (*template*) de imagem RM ponderada em T1 e para encerrar usamos um nível médio (peso = 0,3) para a aplicação do modelo *Hidden Markov Random Field* (HMRF). Já na sexta etapa (Figura 21) usamos o MabC para criar as máscaras de substância cinzenta, substância branca e LCR.

Figura 21: Criação das máscara no MabC para o DTItool.

Para isto, foram usadas as segmentações geradas pelo IbaSPM na etapa anterior, sendo (1 = cinzenta, 2 = branca e 3 = LCR, o que pode ser verificado pela inspeção visual das imagens no MRIcro). O diretório de saída, por padrão, é denominado <mask> e uma máscara denominada <mask_contrast> é criada como resultado da soma das segmentações de substância branca e cinzenta. Isto evita processamentos inúteis em regiões fora da ROI <mask_contrast>. Na sétima etapa (Figura 22) são calculados os coeficientes [CI = coerência intervoxel; D = tensores de difusão; FA = anisotropia fracionada; L = autovalores; E =

autovetores e; TR = traço]. No tempo estimado de três minutos por sujeito de pesquisa o processamento requer o uso da ferramenta DTItool na opção <DTI estimations> tendo por dados de entrada as imagens DTI *analyze* até a 33 da subpasta <by_gradient> como imagens de difusão, a opção resultante da última etapa <mask_contrast> definida como imagem de máscara e, o arquivo de dados <Gradient_DTI_HIGH_ISO.dat> com 33 direções de gradientes correspondentes aos 33 arquivos DTI inseridos na ordem correta.

Figura 22: Interface geral do DTItool (esquerda); Opção para estimar, e exibir mapas (direita); Resultados sobrepostos (centro), controles (acima) e pacientes (abaixo)

Usando o MRICro conferimos [entre as fatias axiais 45 e 55] a região do corpo caloso, e no "Plot" do "DTItool" com a fatia adequada apareceu o característico "X de traços vermelhos", o que nos serviu de referência na inspeção visual qualitativa desta etapa. Vale

lembrar que estes resultados do diretório "tensores" são mapas de coeficientes de difusibilidade anatômica baseada nas imagens de DTI com as 3DT1 do mesmo sujeito corregistradas e com máscaras, normalizações e segmentações próprias. Destes resultados, o mapa de FA foi convertido em *.nii.gz e usado no estudo de difusibilidade por TBSS, juntamente como mapa de B0, MD, L1, L2 e L3 que foram obtidos pelo desmembramento do mapa triplo de autovalores L, gerado nesta etapa. Na oitava etapa (Figura 23) deste processamento usamos o MabC novamente, desta vez para criar as "zonas" de conexões e os mapas de conectividade anatômica resultante das conexões calculadas entre as zonas.

Figura 23: Criação das zonas de conectividade no MabC.

Tendo selecionado por imagem de Atlas aquela prefixada com <r> na pasta <atlased>, por Atlas de referência o de 116 estruturas cerebrais, por máscaras a <mask_contrast> e a <mask_wm> e assim foi gerado o "zones.mat" de cada sujeito processado. Este último arquivo é uma matriz com a posição de cada uma das estruturas do Atlas de referência sobreposto na imagem corregistrada e normalizada <r_atlased> do sujeito ora processado. Após o cálculo das zonas, passamos para a criação dos caminhos das fibras <fiber tracking> usando o método simplificado (Figura 24) selecionamos o método recomendado pelo

desenvolvedor da ferramenta, o *probabilistic tensor propagation with the neighbors influence* (PTPn). Em <to compute fiber paths> selecionamos a opção <between pairs of segmented zones> e para <zones files> usamos o arquivo <zones.mat> gerado anteriormente. Por fim, em <zones of interest> selecionamos os números correspondentes às zonas de interesse para o estudo de tratometria e conectividade cerebral. Neste caso fizemos 1:116 para um sujeito controle e um paciente, processamos até o fim e com as matrizes finais dos coeficientes, descartamos as zonas com intensidade de conectividade anatômica (ACS) muito baixa (40 zonas com valor de ACS inferior a 1000 para ambos processados) ou indiferente para o estudo (as zonas do cerebelo, a partir da 90ª zona); resultando em 50 zonas eleitas para o estudo de conectividade das 116 do Atlas de referência.

Figura 24: Criação dos caminhos das fibras no MabC.

Cada caminho está definido a partir das imagens de entrada dos autovetores (E), dos tensores de difusão (D), da máscara de tatos e da imagem individual registrada com o atlas. Pelos parâmetros que usamos, conforme recomendado, os caminhos criados para as conexões não podem ter comprimento maior que 400mm, mais de 200 repetições seguidas, ângulo agudo inferior a 60°, mais de 80 vetores com orientações diferentes ou 1000 elementos por

arquivo. O processamento de cada sujeito durou em média 30 horas para concluir as 50 zonas de interesse que definimos. Já na última etapa do processamento de conectividade cerebral e tratometria necessário para a geração das matrizes de conectividade entre as zonas de interesse de cada sujeito processado (Figura 25), usamos a opção <ACS, ACD & ACP> na seção <connectivity> do MabC, tendo selecionado o número de cada zona de interesse (ZI).

Figura 25: Criação das matrizes de conectividade por sujeito processado.

O derradeiro evento durou em média 12 horas de processamento e como resultado principal, quatro matrizes de conectividade foram gerada no diretório <fiberpaths> do sujeito processado. Os arquivos respeitantes a estas matrizes são denominados ACS, ACD, ACP e LONG (*_matrix.mat) e referem-se respectivamente ao coeficiente de intensidade, densidade e probabilidade de conectividade anatômica além do comprimento geral dos tratos de cada conexão. Importa entender que estas matrizes de conectividade são matrizes 50 por 50 elementos cada qual representando um coeficiente para a conexão calculada entre duas destas cinquenta zonas de interesse definidas. Deste modo, cada número de linha ou coluna

representa uma região selecionada, sendo ordenada de forma crescente e redefinida pela posição atual de um a cinquenta. Por isso, na análise dos resultados feita no tópico a seguir, antes de identificarmos o nome de uma estrutura enumerada pela matriz 50 x 50 transportamos cada número para o número original na matriz 90 x 90 originalmente processada e depois correlacionamos este número convertido no tabela enumerada do Atlas de 116 estruturas tomado por referência.

3.7. Difusibilidade por estatística espacial baseada nos tratos

Para o processamento da difusibilidade anatômica usa-se uma análise de grupos estruturada na estatística espacial baseada nos tratos cuja ferramenta computacional cabível é exatamente o *Tract based spatial statistic* (TBSS) do *FMRIB Software Library* (FSL). O processamento TBSS se faz no FSL por meio de uma série de comandos no terminal, do tipo <tbss_#_*> aplicados um diretório de trabalho <my_tbss> com subpastas contendo os mapas dos coeficientes de difusibilidade FA, "não-FA" e outros mapas. Portanto, é necessário um primeiro passo para a geração adequada dos mapas, um segundo passo de processamento com as funções FA aplicadas sobre os sujeito de pesquisa e um último passo onde se pode completar os processamentos do tipo "não-FA".

3.7.1. Primeira Etapa: gerar os mapas

O primeiro mapa a ser inserido no processamento TBSS é o de FA (*fractional anisotropy*), onde os valores correspondem ao conceito de anisotropia fracionada no espaço 3D, dada pela seguinte função aplicada sobre os autovalores da imagem de tensor de difusão;

$$FA = \sqrt{\frac{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_3 - \lambda_1)^2}{2(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)}}.$$

A difusibilidade também pode ser expressa por mapas de outros coeficientes baseados nestes autovalores do tensor de difusão; a difusibilidade média ou MD (*mean diffusivity*) que pode ser obtida pela função $MD = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3) / 3$; a difusibilidade paralela $L_{||} = \lambda(\text{maior})$; e a difusibilidade transversa ou perpendicular $L_{\perp} = (\lambda_1 + \lambda_2) / 2$, ou simplesmente mapas de L1, L2 e L3, separadamente, além do mapa de DTI sem gradiente, aqui denominado, B0. Outras opções de mapas "não-FA" oriundos de aquisições diferentes da DTI para o processamento TBSS são;

1) O mapa de MRT correspondente à taxa de transferência de magnetização calculada sobre a aquisição da sequência MT por meio da seguinte função; $MTR = (MT_i - MT_o) / MT_o$.

2) E o mapa de T2 obtido sobre a aquisição da sequência de relaxometria com cinco tempos de ecos de 20ms, a "Relaxo5TE20", tendo por base a equação de relaxação T2;

Os mapas de FA, MD, L1, L2 e L3 e B0 foram obtidos a partir do pré-processamento feito para o estudo de conectividade cerebral com as ferramentas MATLAB[®], assim já valem-se das correções feitas neste estudo. Não obstante, foi necessário a conversão do formato Analyze para o NIfTI único compactado (*.nii.gz), sendo os Lx obtidos pela conversão de 4D para 3D do mapa de autovalores L e dos Lx foi feito o MD usando o ImCalc do SPM8.

Já os mapas da relaxometria T2 e da taxa de transferência de magnetização MTR foram obtidos inicialmente em formato MINC e posteriormente também foram convertidos em NIfTI único compactado (*.nii.gz) para serem inseridos no processamento TBSS do FSL.

3.7.2. Segunda Etapa: processamento FA

No processamento TBSS do FSL uma série de funções são aplicadas somente ao mapa de FA dos sujeitos de pesquisa separados em dois grupos. Somente depois todos os outros mapas podem ser incluídos no processamento através de uma função denominada "não-FA". O primeiro passo consiste em assegurar que num diretório de trabalho "my_tbss" um conjunto

de arquivos únicos compactados (*.nii.gz) correspondem aos mapas de FA que alfanumericamente ordenam-se primeiro os controles e depois os pacientes. Certificado de que os nomes dos arquivos bem identificam o sujeito de pesquisa e o grupo a que pertence e não excessivamente longo, pode-se executar o primeiro comando <tbss_1_preproc *.nii.gz>. Esta etapa prepara os dados para o processamento seguinte copiando as imagens originais numa pasta "origdata" e apresentando numa pasta "slicedir" um arquivo do tipo índice de exibição HTML (*HyperText Markup Language*) para uma visualização rápida de todas as imagens e identificação de problemas óbvios. O segundo passo, é o de maior processamento intrínseco, usando a função <tbss_2_reg -opção de corregristo> no diretório de trabalho <my_tbss> e tendo a subpasta <FA> já pré-processada pelo passo anterior, esta etapa, dura em média cinco minutos para cada elemento de processamento de uma matriz de $n \times n$ elementos, sendo n o número de sujeitos de pesquisa identificados com arquivos de mapas na subpasta FA. Dentre a opções de corregristo neste passo, sugere-se a escolha do sujeito mais "típico" do estudo, o FMRIB58_FA, como sendo a referência para o modelo (template) a que os mapas são transformados. O terceiro passo, definido pela função <tebss_3_postreg -opção>, aplica as transformações não-lineares encontradas no passo anterior para todos os sujeitos do estudo serem transportados para o espaço padrão, dentre as opções disponíveis neste passo recomenda-se usar a <-S> que deriva o mapa de FA médio e a "esqueletonização", usando os parâmetros de um modelo (template) oriundo do próprio grupo de sujeitos de pesquisa. este passo já permite a exibição da linha de esqueletonização do FA médio sobreposto ao mapa geral "all_FA" com todos os sujeitos de pesquisa. O quarto passo é o procedimento final necessário para a análise estatística espacial baseada em tratos propriamente dita, nele usa-se a função <tbss_4_prestats #> com a definição do limiar que sobre o FA médio gera a máscara binária resultante que define o conjunto de voxels utilizados em todo o processamento posterior. Em seguida um "mapa de distâncias" é criado a partir da

máscara do esqueleto. E finalmente, a imagem 4D all_FA contendo o FA alinhado de todos os sujeitos de pesquisa tem seus dados projetados sobre o FA eskeletonizado. Feito isto, o processamento FA se dá sobre projeção 4D "all_FA_skeletonised" do diretório "stats", antes faz-se necessário definir o desenho do estudo <design.mat>, identificando a amostra dos sujeitos caso e dos controles para o teste estatístico t e o contraste monocaudal <design.con> para sua realização, terminando com um mapa probabilístico de valores 1-p para as diferenças entre os grupos caso e controle segundo cada contraste e corrigidos pelo algoritmo para múltiplas comparações cruzadas *Threshold Free Cluster Enhancement* (TFCE), com opção para a *False Discovery Rate* (FDR) e para *Family Wise Error* (FWE), e permutações randômicas.

3.7.3. Terceira Etapa: processamento não-FA

Para realizar o processamento com os demais mapas não-FA, primeiro foi necessário concluir um processamento TBSS de FA no FSL, depois fez-se o uso da função apropriada <tbss_non_FA diretório alvo> tendo antes sido gerado um diretório bem identificado para cada um dos mapas estudados - L1, L2, L3, MD, B0, MTR e RLX, a saber - e dispostos ao lado do diretório FA. Importa também que os arquivos estejam todos no formato adequado (*.nii.gz) e tenham exatamente os mesmos nomes de seu pares FA da subpasta <origdata>. Como este processamento gerou um mapa de probabilidades com pontos cujas diferenças foram estatisticamente significativas, além das correções intrínsecas ao método TBSS do FSL provido de TFCE com FWE e FDR, também foi criado um grupo de controles randomizados identificados como grupo teste, e com ele foi feita uma outra análise de grupos do TBSS comparando-o com o grupo controle original para certificar que o método não produziu falsos positivos com os parâmetros usados na comparação entre o grupo de pacientes e o grupo de controles.

3.7.4. TBSS/FSL: os conceitos gerais

Para o estudo da difusibilidade usamos o método da estatística espacial baseada nos tratamentos, em inglês, (TBSS) do *Functional Magnetic Resonance Imaging {MRI} of the Brain [FMRIB] Software Library* (FSL) desenvolvido na *University of Oxford*. Para tanto, usa-se um sistema operacional (SO) UNIX/Linux ou uma máquina virtual (MV) compatível com a virtualização do CentOS/FSL. No terminal de comandos local, o tráfego de dados com um servidor remoto pôde ser realizado com o comando [`$ scp -r < login @ ip_server : // Users / domain / data / ... / PASTA / . > <~/LOCAL/.>; pswd; $`] para "baixar resultados no *host* local" e com o comando [`$ scp -r <~/LOCAL/.> login @ ip_server : // Users / domain / data / ... / PASTA / . >; pswd; $`], para "subir dados ao servidor remoto". Usamos [`$ ssh - Y login @ ip_server ; pswd; $`] para acessar um terminal remoto no servidor ou nuvem, com [`$ screen - ls; $`] listamos os possíveis processos virtuais destacados e, havendo algum, usamos [`$ screen -dR <#> $`] para entrar nele, porém não havendo nenhum, usamos [`$ screen<;><;> $`] para criar um terminal remoto virtual e, nele, carregamos as variáveis da Shell com [`$ source ~/.bash_profile <;> $`]. Depois, criamos um diretório de trabalho no servidor remoto e atribuímos a ele permissões completas [`$ cd data/.; mkdir <PASTA> <;> chmod -777 <PASTA> <;> $`]. Feito isto, o processamento TBSS/FSL foi realizado no seu diretório de trabalho com comandos inerentes a ele, sendo que, ao final da edição de cada comando de processamento longo, pudemos destacar o terminal virtual no *host* local do servidor remoto, usando [`$ Ctrl+A e D; exit <;> screen ls <;> exit <;> $`]. E estando um processo virtual concluído, usamos [`$ screen dR <#> $`] para entrar nele e [`$ screen dT <#> $`] para encerrá-lo.

Quanto ao processamento TBSS/FSL propriamente dito, inicialmente realizamos o processamento FA. No diretório de trabalho copiamos os arquivos com os mapas de FA de todos os sujeitos de pesquisa, prefixando-os com *c*.nii*, se controles e *p*.nii*, se pacientes. O primeiro comando usado foi o [`$ tbss_1_preproc *.nii.gz $`] que preparou os dados

normalizando e alinhando os mapas no espaço nativo, além de copiar os mapas originais para o diretório <origdata>, nesta etapa foi usado somente o mapa de FA e, a análise de grupos com os outros mapas só pode ser feita no TBSS/FSL no "processamento não-FA" que exige antes a execução do "processamento FA". A segunda etapa se deu pelo corregristo não-linear de todos o mapas de FA num espaço padrão do MNI152 e, seguindo a recomendação dos desenvolvedores do TBSS/FSL usamos o comando `[§ tbss_2_reg -T §]` que usou como referência anatômica o "sujeito controle FMRI58" para a normalização das variantes morfológicas anatômicas entre todos os sujeitos de pesquisa processados. Esta foi a etapa mais longa do processamento, conforme os desenvolvedores o tempo médio é de 5 minutos por elemento de processo, sendo que o número de elementos é o quadrado do número total de sujeitos de pesquisa incluídos no processamento de ambos os grupos. Na terceira etapa do processamento TBSS/FSL, por recomendação, usamos a função `[§ tbss_3_postreg -S §]` para criarmos os mapas de FA médio e o esqueleto dos tratos com este FA médio. Nesta etapa foi possível visualizar (Figura 31) a esqueletonização média sobre todos os mapas de FA processados, usando a função `[§ cd stats <;> fslview all_FA -b 0,0.8 mean_FA_skeleton -b 0.2,0.8 -l Green §]` pelo terminal, no diretório de trabalho do TBSS. A quarta etapa foi feita mediante a execução da função `[§ tbss_4_prestats 0.2 §]` que por recomendação, usou o limiar de 0,2 [valor entre 0 e 1 usado para definir que somente nos locais com valores maiores que ele para o FA médio esqueletonizado o processamento estatístico será feito]. Concluída a quarta etapa os dados do "processamento FA" estão prontos para a análise estatística espacial baseada nos tratos (TBSS) propriamente dita. A análise começou com a reestruturação das imagens resultantes na pasta FA `[§ cd FA <;> imglob *_FA.* §]`. depois o desenho da análise de grupos foi definido para aplicação de teste paramétrico monocaudal de duas amostras independentes `[§ cd ../stats <;> design_ttest2 design <#controles> <#pacientes> §]` cujos números de sujeitos foram 11 (onze) para cada amostra. Para concluir a análise estatística do

TBSS usamos uma permutação randômica entre os sujeitos dos grupos para corrigir o valor de p obtido pelo teste t de cada uma das duas linhas da matriz de contraste entre os grupos "design.con [1-1;-1 1]", para isto usamos [`$ randomise -i all_FA_skeletonised -o tbss -m mean_FA_skeleton_mask -d design.mat -t design.con -n 5000 --T2 -V $`] onde a entrada foi o FA eskeletonizado de todos os sujeitos, a saída foi a máscara do FA médio eskeletonizado o desenho foi dado pela matriz "design.mat", o contraste das comparações foi dado pela matriz "design.con", o número de permutações randômicas foi de 5000, por padrão, e o teste usado foi um paramétrico t de duas amostras independentes.

Para visualizar os resultados (Figura 26) usamos [`$ fslview $FSLDIR/ data/ standard/ MNI152_T1_1mm mean_FA_skeleton -l Green -b 0.2,0.8 tbss_tstat1 -l Red-Yellow -b 3,6 tbss_tstat2 -l Blue-Lightblue -b 3,6 $`] e então exibimos sobre o modelo anatômico MNI152 ponderado em T1 com voxel de 1mm³, uma linha verde do FA médio eskeletonizado com valores entre 0,2 e 0,8 e o resultado estatístico de t em amarelo e contorno vermelho para o contraste de primeira linha (1 -1) e em azul-claro com contorno azul para o contraste de segunda linha (-1 1). Para exibir os resultados (Figura 32) com p significativos já corrigidos por Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) e permutações randômicas, usamos [`$ fslview $FSLDIR/data/standard/MNI152_T1_1mm mean_FA_ skeleton -l Green -b 0.2,0.7 tbss_tfce_corr_tstat1 -l Red-Yellow -b 0.95,1 $`] posto que os resultados estão exibidos num mapas com valores de "1-p". No TBSS/FSL a visualização dos resultados, exemplificada abaixo refere-se à; (a) Linha de eskeletonização do FA médio do grupo de 0,2 à 0,8, em verde, sobre a imagem de todos os mapas de FA corregistrados; (b) Linha de eskeletonização do FA médio sobre o mapa de FA médio e marcado em amarelo com contorno vermelho os pontos onde o resultado (1-p) foi superior a 0,95 na comparação t de contraste (1-1) e; (c) Linha de eskeletonização do FA em verde sobre o modelo obtido do MNI152 ponderado em

T1 e em vermelho os pontos onde o resultado (1-p) foi maior que 0,95 no teste t com contraste (1 -1)

Figura 26: Exemplo de resultados TBSS/FSL: (a) Esqueletonização sobre FA médio; (b) Resultados (1-p) > 0,95; (c) Esqueletonização sobre MN152 e resultados (1-p) > 0,95.

Adaptado de: URL < <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/flswiki/TBSS/UserGuide> > em 16-07-2013.

E para realizar o "processamento não-FA" no TBSS/FSL, depois de concluído o "processamento FA", usamos o comando [`tbss_non_FA <diretório escolhido>`]. Antes, copiamos os mapas não-FA selecionados (MD, L1, L2, L3, B0, MTR e RLX) organizando-os cada tipo em um diretório próprio que bem o identifica e tendo os arquivos já no formato adequado (*.nii.gz) exatamente com os mesmos nomes dos arquivos FA processados, em <origdata>. Os resultados são os mesmos do processamento FA, também gerados no diretório "stats", porém acrescidos da identificação do diretório não-FA, para não sobrescrever os FA.

5. Resultados

5.1. Características básicas dos resultados

Os resultados deste estudo, descritos no tópico seguinte, consistem em identificar, localizar e quantificar as diferenças volumétrica, morfométrica, tratométrica ou de coeficientes de difusibilidade anatômica e conectividade cerebral possivelmente presentes nos sujeitos de pesquisa do grupo-caso, composto por pacientes com PIDC, quando devidamente comparados com um grupo-controle de sujeitos normais. Para tanto, pratica-se um teste bioestatístico de comparação entre duas amostras com hipótese nula h_0 sendo a condição de igualdade ou equivalência entre os grupos caso e controle. Igualmente, está antevisto um Poder de Teste (*Power*) de 90% de distinção para variável principal, logo, calcula-se o tamanho da amostra mínima para se garantir que os grupos resultarão num achado cientificamente plausível somente se a diferença estatisticamente significativa entre eles apresentar um erro tipo um (I), ou alfa (α), cuja probabilidade (p) de ocorrência se mostrar igual ou inferior a 5% ($p < 0,05$) de ocorrência. Neste caso, considerado o teste de normalidade para cada um dos grupos, com homoscedasticidade de variância e análise de resíduos, o teste de tamanho de amostra determinou que um N mínimo de 11 (onze) pacientes com pares controlados é suficiente para assegurar a adequada aplicação de um teste t paramétrico monocaudal de duas amostras pareadas. Estes testes (do tipo t paramétrico monocaudal de duas amostras pareadas) foram utilizados para se obter os resultados das comparações entre os grupos no estudo volumétrico (volumes intracranianos somados e fracionados, superfícies e espessuras corticais) e no estudo de conectividade cerebral (coeficientes de conectividade anatômica, números de tratos e intensidade de conexões). Já no estudo dos coeficientes de difusibilidade anatômica foi usada a estatística espacial baseada nos trados (TBSS) do FSL para obter-se os mapas de probabilidade (1-p) com identificação das regiões nos atlas de

estruturas corticais e subcorticais Harvard-Oxford. E no estudo de morfometria baseada em voxel (VBM) foi usado o mapeamento estatístico paramétrico (SPM) do SPM8 com uma exibição de mapa probabilístico de teste T com correção de taxa de falsos positivos (FDR) e de erro por arranjos familiares (FWE) e identificação de coordenadas anatômicas sobre um atlas MNI152.

5.1.1. Resultados da radiologia

Uma inspeção radiológica visual qualitativa altamente especializada sobre todas as modalidades de imagens das sequências realizadas no protocolo PIDC do exame de RM feito em cada paciente do estudo foi tomada por base para a elaboração e revisão de laudos radiológicos descritivos - que podem ser apreciados, na íntegra, nos Apêndices deste volume - sendo um para cada paciente com PIDC examinado durante a realização do estudo - *não obstante, até esta data, 23-05-2014, três pacientes do estudo não possuem laudo radiológico disponível no Sistema e Atenção Hospitalar (ATHOS) do HC-FMRP da USP, razão pela qual estão excepcionalmente pós-excluídos dos resultados quantitativos deste tópico.*

5.1.2. Resultados da volumetria

No FreeSurfer (FS) foi feito um processamento individualizado para cada sujeito de pesquisa, realizando-se uma volumetria computadorizada automatizada baseada <recon -all *> em funções para cálculo das superfícies livres em largos arranjos de voxels após os processos de segmentação automática de substâncias, máscara e ROI de processamentos, identificação e contagem de vértices, transformações não lineares e rígidas do espaço nativo para o padrão e para o espaço do atlas MNI152 com fracionamento da volumetria por regiões corticais, estruturas subcorticais, substância branca profunda e LCR coregistrados com o atlas MNI152 e transformados para o espaço mundo (real) com valores em milímetros cúbicos estimados pelo tamanho do voxel. Temos por arquivos de entrada somente a neuroimagem

anatômica de alta resolução ponderada em T1 (3DT1) convertida da série DICOM para NIfTI único e depois para MINC comprimido (*.mnc.gz). O primeiro resultado (Figura 38) se dá pela volumetria absoluta (mm³) da máscara encefálica, da segmentação sem e com os ventrículos, do volume intracraniano total e do volume total de substância branca. Nesta condição, os valores originais, obtidos pelo processamento FS no diretório "stats" para cada sujeito de pesquisa foram organizados de modo a se poder comparar os pacientes com os seus pares controles de mesmo gênero e faixa etária num teste paramétrico t monocaudal de duas amostras.

5.1.3. Resultados da morfometria

As imagens de entrada são alinhadas e preparadas pelas segmentações para a substância cinzenta (c1) e branca (c2) e aplicadas ao processamento SPM. Para a realização da análise de grupos, o desenho do estudo (Figura 27) foi definido para uma comparação paramétrica de duas amostras pareadas, cujo contraste spmT1 considera regiões nos mapas probabilísticos onde a "densidade de substância" é maior nos controles e spmT2 o inverso.

Figura 27: Desenho do estudo para a comparação estatística spmT; condição 1 = grupo controle, condição 2 = grupo caso, pares de mesmo gênero e faixa etária, vetor de idade na data do exame = covariável; podendo ser aplicado o contraste (1, -1) quando o valor de T for controles > pacientes e o contraste inverso (-1, 1) quando for pacientes < controles.

O processamento SPM gera de todas as imagens swc1*.nii de entrada um conjunto de outras imagens (Figura 28), sendo uma máscara de aplicação, seguida de um mapa de coeficientes beta (com quatorze iterações), segue gerando um mapa de resoluções elementares por voxel (RPV) e outro dos somatórios médio dos resíduos (ResMS), para finalmente gerar um mapa dos valores de T (spmT_0001) aplicando-se o mapa de contraste desejado. (no caso, para controles > pacientes usa-se; con_0001)

(a) (b) (c) (d) (e) (f) (g)

Figura 28: Imagens do SPM; (a) mapa de coeficientes beta de primeira iteração; (b) máscara do processamento SPM; (c) mapa de coeficientes beta da última iteração sobre a máscara; (d) mapa de RPV (e) mapa de ResMS (f) mapa de contraste 1 e; (g) mapa dos valores T.

Os resultados do processamento morfométrico deste estudo está dividido em quatro análises diferentes, uma que indica as regiões de maior densidade de substância cinzenta nos controles, outra nos pacientes, outra com maior densidade de substância branca nos pacientes e outra nos controles.

5.1.4. Resultados da tratometria e conectividade cerebral

O processamento realizado para o estudo de tratometria e conectividade cerebral resultou numa série de matrizes cujos elementos são determinados por coeficientes de conectividade anatômica entre os pares das zonas de interesse selecionadas para cada sujeito. A conexão entre dois pontos pertencentes a duas zonas diferentes selecionadas na mesma imagem cerebral de um sujeito é anatomicamente estabelecida pela presença de, pelo menos, um caminho válido, criado nos parâmetros determinados no processamento que gerou todos os caminhos para as fibras entre as regiões do indivíduo que foram corrigidas ao atlas anatômico de referência, com 116 estruturas, das quais 50 foram eleitas. Matematicamente, os mapas de coeficientes de difusibilidade anatômica [tais como FA, CI, E, D e L] calculados a partir da sequência DTI foram usados para estimar a probabilidade de um voxel entre duas regiões eleitas se ligar a outros formando um caminho que liga as duas áreas num conexão. Quanto mais caminhos paralelos ou independentes ligarem as mesmas duas regiões maior será a intensidade desta conexão. Estas regiões, por sua vez, também podem ser amplas e terem muitos elementos para estabelecer a conexão entre elas, pois, basta um elemento em cada região para haver alguma probabilidade de conexão entre elas, mas esta probabilidade aumenta se o número de elementos disponíveis for maior. Por fim a densidade de conexão

pode ser calcular pela razão entre a intensidade de conexão obtida e o número elementos disponíveis para conexão somado das duas regiões envolvidas. Resumidamente, (Figura 29) dada duas regiões "i" e "j" diferentes entre si mas de uma mesma imagem cerebral, cada qual com seus elementos de probabilidade de conexão, pode haver, nenhum, um ou mais caminhos entre elas, dependendo da difusibilidade anatômica da região entre elas, da qual se obtém uma matriz de elementos de probabilidade anatômica. Assim a maior probabilidade de conexão será a probabilidade máxima das linha e das colunas, ou seja, a probabilidade de conectividade anatômica (ACP) definida para este par de regiões cerebrais, da mesma matriz pode-se tomar a intensidade de conectividade anatômica (ACS) entre estas duas regiões, basta processar o somatório das probabilidade de conexão das colunas em todos os elementos possíveis da região "i" adicionado ao somatório das probabilidades de conexão das linhas e todos os elementos da região "j"; Por fim, pode-se calcular a densidade de conectividade anatômica (ACP) entre estas mesmas regiões se dividirmos o valor obtido para o (ACS) pelo número total de elementos de conexão disponíveis das duas regiões ($N_i + N_j$). Deste modo, pode-se obter dos mapas de difusibilidade anatômica uma matriz de probabilidades anatômicas de haver um caminho de conexão entre dois elementos de conexão disponíveis um numa região "i" e outro numa região "j". E, a partir desta matriz de probabilidade de conexão anatômica são gerados os índices ACS, ACD e ACP que compõem as matrizes de conectividade de todas as regiões eleitas no processamento.

Figura 29: Índices de Conectividade Anatômica usados nas matrizes; Probabilidade de Conectividade Anatômica (ACP); Intensidade de conectividade Anatômica (ACS); e Densidade de Conectividade Anatômica (ACD).

O resultado do processamento pode ser exibido pelos mapas de cores individualizados gerados para cada índice de conexão ACD, ACS e ACP calculado, além do LONG que determina o comprimento (mm) do caminho anatômico que realiza a conexão. Como pode ser observado (Figura 30) cada linha representa uma região selecionada e nelas cada coluna forma um elemento de matriz que relaciona esta região com uma das cinquenta possíveis, deste modo, a diagonal principal da matriz é nula estar ser composta de elementos que relacionam uma região com ela mesma. Também observa-se uma simetria diagonal nas matrizes, pois os índices não são unívocos, de modo que o valor que relaciona duas regiões "i" e "j" é o mesmo, tanto na coordenada A_{ji} , quanto na coordenada A_{ij} .

Figura 30: Exemplo de mapa de cores de ACP, ACS, ACD e LONG gerado das matrizes de conectividade cerebral para as cinquenta estruturas cerebrais selecionadas.

Deste modo, cada sujeito de pesquisa tem suas próprias matrizes e cada elemento matricial um valor de índice para a conexão de duas regiões selecionadas, podendo ser desconsiderados os elementos da diagonal principal e as repetições simétricas. A análise dos resultados foi feita a partir destas matrizes considerando tanto as linhas (conjunto de todas as conexões de uma única estrutura) como os elementos individualizados (conexão de duas estruturas), tudo organizado, por sujeito, e dividido em dois grupos: "paciente" e "controle".

5.1.5. Resultados da difusibilidade

O estudo da difusibilidade foi realizado mediante a análise de grupos entre controles e pacientes para os mapas de coeficientes já obtidos nos processamentos anteriores, a partir da

sequência DTI, e neste caso, das máscaras de segmentações de substâncias corregistradas com a DTI re-fatiada em volumes de único gradiente em 72 fatias. O mapa de anisotropia fracionada (FA), difusibilidades laterais (L1, L2 e L3) e difusibilidade média (MD) foram aproveitados do processamento de conectividade cerebral. Especificamente, para o processamento que gerou os mapas de L, avaliamos, numa inspeção visual qualitativa, (Figura 31) qual mapa de L corresponde ao coeficiente de difusibilidade paralela ao trato por ser relacionado longitudinalmente com o elipsóide de FA. Observamos, então, que nos cortes axiais feitos na altura do corpo caloso (c.c.), tanto nos pacientes como nos controles o L3 apresentou valores maiores na região do c.c. enquanto, L1 e L2 apresentaram valores baixos, já o MD apresentou valores médios e o FA valores elevados o mesmo ocorreu para as regiões de tratos, visto em um corte axial com vários tratos observáveis no mapa de FA.

(a)

(b)

Figura 31: Imagens L1, L2, L3, MD e FA (da esquerda para a direita) de um controle (acima) e de um paciente (abaixo); (a) Fatia axial na altura do corpo caloso; (b) Fatia axial na altura de maior diversidade de tratos.

Logo, concluímos que o mapa de L3 corresponde à difusibilidade paralela, enquanto o L2 e L3 representam a difusibilidade transversa (perpendicular ao eixo longitudinal da elipsóide concernente ao FA). O primeiro resultado observado no processamento TBSS/FSL foi o conjunto de mapas de FA com três cortes sagitais, três coronais e três axiais para cada sujeito de pesquisa processado exibido através de um arquivo índice de HTML no diretório "slicedir", este é um resultado parcial para o propósito de uma visualização rápida de todas as imagens a fim de aprová-las pela não identificação de problemas óbvios, tais como; um ou mais sujeitos de pesquisa terem imagens que não correspondem ao mapa de FA (brilho e/ou contraste muito diferente) ou ainda apresentarem artefatos notáveis, ou não correspondem à região correta (imagens de encéfalo invertido, inadequadamente rotacionado ou sem máscara correta); todos os sujeitos de pesquisa estão incluídos neste resultado inicial, tantos os pacientes do grupo caso como os voluntários saudáveis do grupo controle. Com a aprovação dos mapas de FA para o processamento TBSS/FSL o resultado conseguinte (Figura 32) é um conjunto de imagens modificadas a partir do mapa de FA de cada sujeito de pesquisa incluído

no processamento; o mapa de FA médio dos sujeitos, o mapa da máscara do FA médio, a linha de eskeletonização do FA médio e, a máscara da eskeletonização do FA médio; que precedem o resultado do teste estatístico da análise de grupos que expressa-se em um mapa de valores (1-p) nos arquivos "tbss_tfce_p_tstat1 e 2" (para valores de p corrigidos por TFCE) e "tbss_tfce_coop_tstat1 e 2" (para valores de p corrigidos por TFCE e por exaustivas permutações randômicas entre os sujeitos de pesquisa de ambos os grupo comparados) - este é o "processamento FA" do TBSS/FSL que depois pode utilizar de parte deste feito para realizar o "processamento não-FA", usando outros mapas (L, MD, B0, MTR, T2, etc.).

Figura 32: Imagens do processamento no TBSS/FSL; (a) Mapa de FA médio (gradiente de cores do NIH [National Institute of Health] que segue o espectro da luz visível do frio/violeta/baixo valor ao quente/vermelho/alto valor); (b) Máscara do FA médio; (c) Eskeletonização do FA médio; (d) Máscara da eskeletonização do FA médio

O resultado do processamento de difusibilidade é apresentado em mapas probabilísticos do teste T com valores de $(1-p) > 0,95$, exibidos sobre o modelo anatômico MNI152-T1 e sobre o modelo anatômico Template do estudo com segmentação cinzenta. Este resultado está dividido em partes; cada qual refere-se a uma análise de grupo própria e aponta as regiões cerebrais identificadas com diferenças significativas (valor de p corrigido $< 0,05$) para FA, MD, L, MTR, e 5RLX (T2) tanto para controles *versus* pacientes como para testes randomizados *versus* pacientes e tanto para o "contraste" de hipóteses que avalia se os pacientes têm valores maiores como para menores que grupo sem PIDC comparado.

5.2. Alterações encontradas nas imagens de ressonância magnética

As seguintes alterações foram encontradas nas IRMs: na intensidade do sinal do parênquima encefálico; anatômicas; corticais cerebrais e cerebelares; nos ventrículos, cisternas e fissuras; nos nervos cranianos; localizadas no, cérebro, tronco cerebral e cerebelo (Fig. 33).

Não foram encontrados processos expansivos, vasos patológicos, alterações corticais e coleções extra-axiais nos pacientes.

Figura 33: Alterações das imagens de ressonância magnética nos laudos dos pacientes

Excetuado um caso, em cuja IRM foi observado exclusivamente espessamento trigeminal bilateral, as IRM dos outros pacientes apresentam o mesmo tipo de alteração na intensidade do sinal no parênquima encefálico, constituída por focos esparsos (dois deles coalescentes na região periventricular) de hipersinal de TR longo (FLAIR, TR=5000ms). Tais focos podem corresponder a microangiopatia (pontos do cérebro que, por deficiência de perfusão/demanda, estão a receber pouco oxigênio e glicose) ou gliose (aumento no número

de células da glia numa região cerebral, após uma perda neuronal) ou ainda a remielinização (processo de “reconstrução” da bainha de mielina de fibras e tratos nervosos, após uma desmielinização). As IRM de um paciente apresentam ventrículos, cisternas e fissuras proeminentes e as de outro, ventrículos laterais assimétricos (mais à direita), compatíveis com sinais de perda volumétrica subcortical. Pode haver alguma relação entre as lesões de hipersinal FLAIR na região periventricular adjacente, indicativas de comprometimento parenquimatoso cerebral, levando a uma perda volumétrica subcortical. Hipersinal nas IRMs com TR longo, constituído por lesões pontuais subcorticais esparsos e/ou coalescentes de localização periventricular, como pode ser observado na Figura 34 indicam alterações da substância branca de diferentes intensidades.

Figura 34: Hipersinal em IRM com TR longo encontrado nos (nossos) pacientes mais idosos da presente série; (a) feminino, 64 anos, (b) masculino, 61 anos, (c) feminino, 66 anos.

A comparação visual entre o paciente masculino mais idoso do estudo (61 anos de idade na data do exame) com seu controle saudável pareado (Figura 35) revela que as alterações de hipersinal em TR longo são mais intensas no paciente com PIDC.

Figura 35: IRM, sagital FLAIR de um controle saudável (à esquerda), comparada à de um paciente com PIDC (à direita) - masculino com 61 anos.

De forma geral, em TR longo (FLAIR, TR = 5000ms e TE = 339ms) os nossos laudos, excetuado um caso, descrevem (laudos referentes a pacientes com PIDC tratados no HC-FMRP e sem nenhuma confirmação clínica de outra causa para comprometimento neuropatológico relacionado ao SNC) hipersinal em pontos esparsos da substância profunda e, mais coalescentes, em porções periventriculares. A partir da observação de hipersinal em neuroimagens axiais com TR longo, entendemos que nossos pacientes (exemplo típico, Figura 36) apresentam sinais que podem ser classificados como lesões compatíveis com alterações de substância branca de grau moderado.

Figura 36: Hiper sinal observado na IRM de paciente masculino de 57 anos, por FLAIR-TR5000; (acima-direita) fatia axial 60/100, (acima-esquerda) fatia axial 63/100, (abaixo-esquerda) fatia axial 66/100, (abaixo-direita) fatia axial 67/100.

Outro achado provavelmente relacionado à PIDC é o espessamento do nervo trigêmeo bilateralmente observado em três dos casos, com aproximadamente 4mm, na porção anterior ao gânglio de Gasser chegando a obliteração do cavum de Meckel. E, por fim, um achado possivelmente incidental foi uma assimetria no ápice do petroso, sugerindo um granuloma de colesterol em um dos exames.

As conclusões apresentadas nos laudos dos pacientes examinados (Figura 37) apontaram para; 1) um espessamento trigeminal bilateral na porção pré-ganglionar do cavum

de Meckel, este achado foi identificado em três dos casos, considerando um paciente pós-excluído para as análises quantitativas devido a identificação conjunta de infartos lacunares associados a uma doença de pequenas artérias. 2) microangiopatias, quatro casos classificados a partir dos recorrentes achados de hipersinal em TR longo, com pontos coalescentes nas regiões periventriculares e pontos esparsos na substância branca profunda subcortical. 3) Uma assimetria no ápice do petroso, entendida como um achado incidental em uma paciente. 4) E uma perda volumétrica por ventrículos aumentados, ligeiramente incompatível com a idade, com hipersinal de microangiopatia associada a infartos lacunares. (segundo o estudo de referência, as lacunas se definem como um tipo de acidente vascular cerebral isquêmico caracterizado por lesões de pequeno tamanho, cujo diâmetro não ultrapassa 20mm). (MILLER, 1998)

Conclusões dos laudos

Figura 37: Histograma referente às conclusões dos laudos dos pacientes com PIDC

5.3. Volumetria

5.3.1. Achados da volumetria

Todos os testes atingiram o nível de significância científica proposto (estatística paramétrica com normalidade 0,8 tamanho de amostra 11 com poder de teste de 90% e $p < 0,05$ para T monocaudal pareado) e podem ser apreciados numa representação gráfica (Figura 38) comparando a média de o erro padrão de cada grupo analisado, está acrescentado mais um grupo de voluntários controles normais randomizados, denominado "Grupo Teste" para assegurar que não houve a infelicidade de se selecionar um "Grupo Controle" viciado (uma amostra não-representativa da população escolhida, quanto à volumetria encefálica) antes confirmando que os valores dos volumes dos pacientes foram menores que dos controles normais pareados e dos controles testes randomizados.

Figura 38: Volumetria encefálica absoluta (mm³) pacientes versus controles

Mesmo depois de conhecido estes resultado em que os volumes dos pacientes são em média menores que dos controles normais (pareados ou randomizados) existe possibilidade de o grupo de pacientes não ser uma amostra representativa da população de pacientes com PIDC, tendo, neste caso, uma máscara intracraniana (tamanho de cabeça) menor que a média populacional do pacientes, ora ignorada. Isto poderia gerar falsos positivos de que os volumes intracranianos dos pacientes com PIDC são menores que dos controles normais. Para evitar isto normalizamos os resultados absolutos em função da máscara intracraniana (tamanho da cabeça) de cada sujeito de pesquisa, e refizemos os testes estatísticos para a comparação dos grupos (Figura 39) e exceto pelo volume total de substância branca, a fração percentual do volume intracraniano total e das segmentações com e sem os ventrículos confirmou valores menores para os pacientes se comparados aos controles.

Figura 39: Volumetria percentual ponderada na máscara (brain)

Feito isto, prosseguimos com a comparação volumétrica fracionada entre os pacientes e os controles normais. Usando a volumetria percentual normalizada pela máscara intracraniana de cada sujeito avaliado, apresentamos (Figura 40) todas as regiões encefálicas identificadas no atlas de estruturas corticais e subcorticais com significância científica.

Figura 40: Volumetria percentual ponderada na máscara "brain" intracraniana e fracionada por estrutura encefálica registrada em atlas ou segmentada por tipo de substância (s.) encefálica. (a) hipointensidade em s. não-branca, vasos do hemisfério (h.) esquerdo e accumbens direito; (b) amídalas, plexo coróide direito e globos pálidos; (c) caudado esquerdo, putâmens e diencéfalos ventrais; (d) tronco cerebral e s. branca do h. esquerdo do cerebelo; (e) Córtices cerebelares; (f) S. branca dos córtices cerebrais e córtex esquerdo

Em (a) pacientes tiveram maior volume de hipointensidades em regiões não correspondentes à substância branca, maior volume de vasos no hemisfério esquerdo e maior volume no núcleo *Accumbens* (do latim, deitado - estrutura cerebral relacionada à sensação de prazer parte do sistema mesolímbico e localizado próximo ao hipocampo) do hemisfério direito; Em (b) pacientes apresentaram maior volume para a amígdala (do latim, amêndoa - estrutura de massa cinzenta amendoada adjacente ao hipocampo no pólo temporal, parte do sistema límbico relacionada com o processamento da memória, comportamento passional e as reações emocionais) direita e esquerda e para o plexo coróide (do grego, membrana delicada - estrutura resultante da invaginação do epêndima - revestimento interno do tubo neural

embrionário - para a cavidade ventricular, responsável pela produção do LCR cujo volume total é trocado de três a quatro vezes por dia) direito, porém menor volume para o globo pálido (estrutura subcortical que junto com o subtálamo forma o sistema extrapiramidal - parte do sistema motor assim denominado para diferenciar-se dos tratos do córtex motor que passa pelas "pirâmides" da medula antes de atingirem seus destinos - com importante papel na coordenação motora) direito e esquerdo; Em (c) pacientes apresentaram maior volume para o núcleo caudado esquerdo e putâmen (do latim, concha - estrutura que junto ao caudado forma o corpo estriado dorsal e está ligado à substância *nigra* e ao globo pálido) bilateral, porém menor volume bilateral de "DC ventral" (no Freesurfer, DC = diencéfalo - porção abaixo do corpo caloso e acima do mesencéfalo, limitado do corpo mamilar ao epitálamo ou comissura posterior); Em (d) os pacientes também apresentaram menor volume percentual, ponderado pela máscara intracraniana, para a substância branca do hemisfério esquerdo cerebelar e para o tronco encefálico ou cerebral (porção do SNC que liga o cérebro à medula e no qual se fixa o cerebelo - o tronco cerebral tem funções de condução [vias ascendentes e descendentes de ligação cérebro-medula], integração [da atividade respiratória e vascular com a regulação consciente] e dos nervos cranianos[concentra vias de todos os nervos cranianos que se projetam para a medula ou que se emergem dela]); Em (e) pacientes apresentaram também menor volume percentual ponderado de substância cinzenta cortical para ambos os hemisférios do cerebelo (do latim, pequeno cérebro - parte do encéfalo responsável pela manutenção do tônus muscular, dos movimentos voluntários e do equilíbrio); Em (f) pacientes apresentaram menor volume percentual ponderada pela máscara intracraniana individual se cada sujeito também para as frações relativas à substância branca do hemisfério cerebelar direito que junto com o menor volume cortical indica perda de volume hemisfério direito do cerebelo nos pacientes com PIDC, além de menor volume de substância branca no hemisfério esquerdo cerebral e menor volume no córtex cerebral contralateral (direito).

Em seguida, avaliamos possíveis diferenças volumétricas bilaterais (Figura 41), por meio dos volumes absolutos (mm^3) de todas as estruturas cerebrais em todos os sujeitos de ambos os grupos (pacientes com PIDC e controles normais) identificamos diferenças volumétricas bilaterais entre casos e controles com significância científica ($p < 0,05$ para teste paramétrico t monocaudal de duas amostras pareadas) em seis estruturas cerebrais quantificadas pelo FS.

Figura 41: Diferenças bilaterais significativas identificadas, no lobo occipital lateral, no córtex pericalcarino (adjacente ao sulco calcarino), no giro précentral, na porção rostral média do lobo frontal, no lobo parietal superior e temporal superior, em todas estas regiões os pacientes apresentaram menor volume.

Outras avaliações no FS com características de estudo morfométrico são as quantificações dos vértices corticais, das superfícies corticais e da espessura cortical. Nestes parâmetros, os pacientes apresentaram menor valor para o número total de vértices corticais (Figura 42) calculados pelo FS em relação aos controles normais pareados e aos voluntários testes randomizados. Pelo entendimento matemático da geometria fractal o maior número de vértices pode tornar a distância entre dois pontos determinada x por uma reta como sendo

muito maior que x, assim a superfície cortical poderá ser muito maior que outra com menor número de vértices mesmo envolvendo um volume cerebral praticamente idêntico.

Morfometria - vertices corticais

Figura 42: O número total de vértices originalmente calculado pelo FS para cada sujeito de pesquisa processado apresentou diferenças com significância científica entre pacientes e controles normais pareados (valores de p indicados) e voluntários testes randomizados (valores de p omitidos), tanto no cérebro todo como em cada um dos hemisférios cerebrais.

A cada vértice a mais aumenta-se a distância entre dois pontos resolvidos da imagem e bidimensionalmente o número de elementos de área triangulares, por fim, tridimensionalmente a projeção inflada dos vértices formam uma área de superfície cortical esticada consideravelmente maior, e isto (Figura 43) é o que verificamos com o processamento FS que calculou a área (mm²) da superfície cortical de cada sujeito para compararmos os grupo pelo testes estatístico e representarmos as diferenças significativas entre os grupos num gráfico com a média de cada grupo e sua barra de erro padrão associado.

Morfometria - superfícies corticais

Figura 43: Área (mm²) da superfície cortical, os pacientes apresentaram valores menores que os controles, tanto no cérebro todo como em cada um dos hemisférios cerebrais separadamente.

Além da medida total do córtex cerebral e da medida separada de cada hemisfério cerebral, o FS também calcula os valores das áreas de uma série de regiões corticais sincronizando a imagem de cada sujeito processado com seu modelo (atlas template) interno, em cada um dos hemisférios. Assim, avaliado o teste estatístico sobre cada um destes grupo de resultados, podemos apresentar num gráfico (Figura 44) cada uma destas regiões corticais dos hemisférios cerebrais que apresentaram diferenças com significância científica para a comparação entre os pacientes com PIDC (grupo caso) e os controles normais pareados (grupo controle) além dos voluntários de testes randomizados (grupo teste).

Figura 44: Os pacientes apresentaram menor área para a porção caudal média do lobo frontal, córtex entorrinal, lobo parietal inferior bilateral, lobo occipital lateral, lobo temporal medial, giro paracentral pós-central, giro do cíngulo posterior, porção rostral média do lobo frontal, lobo frontal superior e lobo parietal superior.

O último parâmetro morfométrico a ser avaliado no FS, portanto, ainda pela parte que usou do processamento volumétrico é a medida da espessura cortical. De todas as regiões

cerebrais envolvidas por um córtex há algumas que apresentaram diferenças de medida (Figura 45) na espessura com significância científica, no caso, todas com o grupo de pacientes apresentando menor medida de espessura do que o grupo de controles normais.

Figura 45: A espessura cortical (mm) dos pacientes foi menor que dos controles nas regiões do: cuneus e pré-cuneus, lobo parietal inferior, lobo occipital lateral e a pars orbitalis [parte orbital do giro frontal inferior].

5.4. Morfometria

5.4.1. Achados da morfometria

Ao final do processamento SPM sobre a segmentação de substância cinzenta tendo por contraste a comparação (controles > casos), o resultado das diferenças encontradas ($p < 0,005$ para o teste T monocaudal de duas amostras pareadas pelo gênero e tendo o vetor das idade na data do exame por covariável) não se confirmou com significância científica após as

correções FWE e FDR para múltiplas comparações simultâneas terem sido aplicadas. Não obstante, apresentamos os resultados encontrados nas principais formas gráficas oferecidas pelo SPM8 (Figura 46) para que possamos usar este mesmo modelo de representação gráfica, no contraste 2 (controles < casos) para o teste com a segmentação de substância cinzenta (c1) e para os dois contrastes (controles > casos e controles < casos) para o teste com a segmentação de substância branca (c2) com estes mesmos grupos de sujeitos (caso e controle) e conservando os mesmos parâmetro de processamento no SPM8.

(a) Tabela indicando que os valores de p corrigidos não atingiram o nível de significância científica desejado para esta análise de grupos.

(b) Representação em gradiente de cor do valor T com contraste 1 sobre o MNI152 e sobre o template do estudo e, gráfico de consistência da comparação pareada no ponto de maior T.

Figura 46: Resultado SPM para morfometria de substância cinzenta (controles > pacientes)

Por fim, na região evidenciada houve maior densidade de substância cinzenta nos controles comparados a seus pares com PIDC, porém, sem atingir a significância científica.

Usando as mesmas imagens aplicadas sobre a segmentação da substância cinzenta (c1) efetua-se a comparação (Figura 47) estatística T pareada com contraste inverso. (-1, 1).

Statistics: p-values adjusted for search volume

set-level		cluster-level				peak-level					mm mm mm		
p	c	p _{FWE-cor}	q _{FDR-cor}	k _E	p _{uncorr}	p _{FWE-cor}	q _{FDR-cor}	T	(Z _E)	p _{uncorr}			
0.350	31	0.000	0.000	8205	0.000	0.036	0.195	14.64	5.27	0.000	8	24	-26
						0.140	0.299	12.02	4.95	0.000	14	9	-30
						0.241	0.459	9.99	4.63	0.000	-21	23	-30
		0.188	0.092	670	0.004	0.830	0.621	7.58	4.15	0.000	-42	36	-9
						0.905	0.621	7.17	4.04	0.000	-36	47	-9
						1.000	0.818	5.09	3.41	0.000	-30	53	-2
		1.000	0.864	111	0.193	0.924	0.621	7.03	4.01	0.000	-51	-58	-20
		0.306	0.121	569	0.008	0.994	0.818	6.09	3.74	0.000	3	-18	72
						1.000	0.818	4.42	3.14	0.001	14	-18	69
		0.005	0.003	1459	0.000	0.998	0.818	5.85	3.67	0.000	5	-48	22
						0.998	0.818	5.82	3.66	0.000	-2	-36	34
						1.000	0.818	5.45	3.54	0.000	-2	-25	39
		1.000	0.874	93	0.232	0.999	0.818	5.67	3.61	0.000	29	-88	6
		0.908	0.452	275	0.049	0.999	0.818	5.66	3.61	0.000	-27	-94	-18
		0.943	0.475	250	0.059	0.999	0.818	5.60	3.59	0.000	-6	3	40
						1.000	0.982	3.84	2.88	0.002	-6	0	55
		1.000	0.931	23	0.563	1.000	0.818	5.63	3.56	0.000	-6	-13	55
		0.464	0.161	483	0.013	1.000	0.818	5.47	3.54	0.000	-18	-18	-14
						1.000	0.818	4.93	3.35	0.000	-12	-15	-18
						1.000	0.972	3.91	2.91	0.002	-18	-7	-15

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: T = 3.25, p = 0.005 (1.000)
Extent threshold: k = 20 voxels, p = 0.592 (1.000)
Expected voxels per cluster, <k> = 70.071
Expected number of clusters, <c> = 28.59
FWEp: 14.102, FDRp: Inf, FWEc: 1459, FDRc: 1459

Degrees of freedom = [1.0, 9.0]
FWMHM = 12.5 13.2 12.6 mm mm mm; 8.3 8.8 8.4 (voxels)
Volume: 1752125 = 519148 voxels = 775.1 resels
Voxel size: 1.5 1.5 1.5 mm mm mm; (resel = 615.97 voxels)
Page 1

(a) Tabela indicando que valores de p corrigidos atingiram o nível de significância.

(b) Representação em gradiente de cor do valor T com contraste 2 sobre o MNI152 e sobre o template feito para o próprio estudo e, gráfico de consistência da comparação pareada no ponto de maior T.

Figura 47: Resultado SPM para morfometria de substância cinzenta (controles > pacientes)

Os resultados obtidos pela morfometria SPM sobre a segmentação da substância cinzenta com contraste inverso (caso > controle) apontou uma região bilateral com valores de

maior densidade de substância cinzenta para os pacientes com PIDC, se comparado com seus pares controles normais, estes valores atingiram o nível de significância científica exigida depois das correções para múltiplas comparações terem sido aplicadas. Esta região, é melhor localizada sobre o modelo (*template*) de substância cinzenta criado para o estudo, e pode estar relacionada ao espessamento trigeminal bilateral pré-ganglionar no cavum de Meckel, um achado consistente da avaliação radiológica para os pacientes com PIDC deste estudo.

Os resultados do próximo evento no processamento morfométrico pelo SPM têm como imagens de entrada os arquivos prefixados (swc2*.nii) criados sobre a segmentação da substância branca, objeto alvo neste estudo porque nela pode haver algum processo suficientemente alterado no grupo de pacientes com PIDC de modo que possa ser percebida, na análise de grupos do SPM, alguma diferença morfométrica com o nível de significância científica exigida pela aplicação das correções sobre os valores de p. Neste evento, são gerados novos mapas (Figura 48) para coeficientes beta, máscara, RPV e ResMS, que atuam como resultados parciais para um novo mapa estatístico paramétrico "spmT_0001", cujo contraste 1 é (1,-1) ou controle > paciente e o contraste 2 é (-1,1) ou controle < paciente.

Figura 48: Imagens do SPM; (a) mapa de coeficientes beta da última iteração; (b) máscara do processamento C2; (c) mapa de RPV e; (e) mapa de ResMS.

Nesta análise VBM por SPM o resultado (Figura 49) identificou quatro regiões cuja densidade de substância branca é maior nos controles do que nos pacientes e nestes arranjos (*clusters*) os valores de p atingiram o nível de significância científica.

Statistics: p -values adjusted for search volume

set-level		cluster-level				peak-level					mm mm mm		
p	c	$p_{\text{FWE-corr}}$	$\alpha_{\text{FDR-corr}}$	k_E	p_{uncorr}	$p_{\text{FWE-corr}}$	$\alpha_{\text{FDR-corr}}$	T	(Z)	p_{uncorr}			
0.994	32	0.000	0.000	1115	0.000	0.917	0.995	8.63	4.38	0.000	18	38	-11
						1.000	0.995	5.17	3.44	0.000	17	58	-2
						1.000	0.995	4.72	3.26	0.001	14	53	-9
		0.039	0.006	529	0.000	0.973	0.995	8.02	4.25	0.000	-48	32	-6
						1.000	0.995	6.86	3.96	0.000	-35	45	-8
						1.000	0.995	4.89	3.33	0.000	-30	51	-2
		0.063	0.007	482	0.001	1.000	0.995	6.87	3.97	0.000	18	-73	59
						1.000	0.995	6.01	3.72	0.000	20	-57	52
		0.001	0.000	947	0.000	1.000	0.995	6.34	3.82	0.000	45	-85	-3
						1.000	0.995	4.97	3.37	0.000	52	-59	15
						1.000	0.995	4.89	3.33	0.000	45	-81	18
		0.508	0.045	271	0.006	1.000	0.995	6.08	3.74	0.000	-29	-34	69
						1.000	0.995	5.64	3.60	0.000	-53	39	4
		0.175	0.018	381	0.002	1.000	0.995	5.05	3.39	0.000	39	54	-17
						1.000	0.995	4.93	3.35	0.000	30	-90	6
		0.004	0.001	783	0.000	1.000	0.995	4.63	3.23	0.001	24	-100	1
						1.000	0.995	4.59	3.21	0.001	27	-97	-2
		1.000	0.345	96	0.077	1.000	0.995	4.78	3.29	0.001	-32	-90	22
						1.000	0.995	4.77	3.29	0.001	39	-52	66
		0.757	0.080	218	0.012	1.000	0.995	3.83	2.87	0.002	41	-51	57

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: $T = 3.25$, $p = 0.005$ (1.000)

Extent threshold: $k = 20$ voxels, $p = 0.406$ (1.000)

Expected voxels per cluster, $\langle k \rangle = 31.128$

Expected number of clusters, $\langle c \rangle = 48.11$

FWEp: 14.478, FDRp: Inf, FWEc: 529, FDRc: 271

Degrees of freedom = [1.0, 9.0]

FWHM = 9.8 9.7 9.7 mm mm mm; 6.6 6.4 6.5 {voxels}

Volume: 2200763 = 652078 voxels = 2271.4 resels

Voxel size: 1.5 1.5 1.5 mm mm mm; (resel = 273.64 voxels)

Page 1

< >

1

(a) Tabela que identifica os pontos onde os valores de T ultrapassam o limiar 3,25 com p não corrigido menor que 0,005, e em quatro agrupamentos (*clusters*) os valores de p atingiram o nível de significância depois das correções para múltiplas correções.

(b) Mapa de cores das regiões com altos valores de T e aplicado sobre o modelo MNI152 e sobre o modelo de segmentação de substância cinzenta do grupo de estudo (*template c1*) confirmando pelo menos uma região em localização compatível com substância branca.

Figura 49: O resultado SPM-T indicando quatro regiões com valores superiores ao limiar 3,25 e com nível de significância p menor que 0,05 após as correções FDR e FWE.

Por fim, finaliza-se o estudo de morfometria aplicando o contraste inverso (-1, 1) sobre a segmentação de substância branca, identificando as regiões do mapa anatômica onde os controles têm valores menores do que os pacientes para a densidade morfométrica de substância branca. Como resultado, (Figura 50) de todas as regiões com valores de T maiores que o limiar 3,25 e valores de p não corrigido menores que 0,005, apenas um único arranjo (*cluster*) atingiu o nível de significância $p = 0,001$ após a aplicação das correções para múltiplas comparações simultâneas. Contudo, esta região, aplicada sobre o modelo de substância cinzenta gerado para o grupo de sujeitos do estudo (*template c1*), aparece estar fora da região profunda e coincidir com ápice do petroso - em concordância ao granuloma de colesterol de um paciente.

Statistics: *p-values adjusted for search volume*

set-level		cluster-level				peak-level					mm mm mm		
p	c	$p_{FWE-corr}$	$q_{FDR-corr}$	k_E	p_{uncorr}	$p_{FWE-corr}$	$q_{FDR-corr}$	T	(Z)	p_{uncorr}			
1.000	27	0.349	0.084	312	0.004	0.997	0.994	7.25	4.06	0.000	51	-27	-23
		1.000	0.480	73	0.118	1.000	0.994	6.25	3.79	0.000	-14	-67	-5
						1.000	0.994	4.37	3.12	0.001	-14	-73	3
		0.986	0.262	142	0.036	1.000	0.994	6.11	3.75	0.000	14	42	45
		1.000	0.480	69	0.128	1.000	0.994	5.63	3.60	0.000	-6	51	-6
		0.812	0.144	206	0.014	1.000	0.994	5.55	3.57	0.000	6	-6	66
						1.000	0.994	3.95	2.94	0.002	12	-1	61
		0.001	0.001	917	0.000	1.000	0.994	5.33	3.49	0.000	-3	20	-24
						1.000	0.994	5.20	3.46	0.000	8	29	-26
						1.000	0.994	4.62	3.23	0.001	-11	17	-23
		1.000	0.480	66	0.136	1.000	0.994	5.30	3.48	0.000	9	-16	58
		1.000	0.611	40	0.240	1.000	0.994	5.27	3.47	0.000	24	-63	-14
		1.000	0.611	41	0.234	1.000	0.994	5.15	3.43	0.000	-54	-18	-5
		1.000	0.611	43	0.223	1.000	0.994	5.11	3.41	0.000	-3	11	52
		1.000	0.480	61	0.151	1.000	0.994	4.98	3.37	0.000	54	3	-9
		1.000	0.480	70	0.126	1.000	0.994	4.96	3.36	0.000	-51	-27	16
		1.000	0.480	62	0.148	1.000	0.994	4.91	3.34	0.000	-47	-18	12
		0.652	0.114	240	0.009	1.000	0.994	4.75	3.28	0.001	-11	17	-3
						1.000	0.994	4.31	3.10	0.001	-23	6	-6
						1.000	0.994	3.53	2.72	0.003	-14	8	-8

table shows 3 local maxima more than 6.0mm apart

Height threshold: $T = 3.25$, $p = 0.005$ (1.000)

Extent threshold: $k = 20$ voxels, $p = 0.406$ (1.000)

Expected voxels per cluster, $\langle k \rangle = 31.128$

Expected number of clusters, $\langle c \rangle = 48.11$

FWEp: 14.478, FDRp: Inf, FWEc: 917, FDRc: 917

Degrees of freedom = [1.0, 9.0]

FWHM = 9.8 9.7 9.7 mm mm mm; 6.6 6.4 6.5 {voxels}

Volume: 2200763 = 652078 voxels = 2271.4 resels

Voxel size: 1.5 1.5 1.5 mm mm mm; (resel = 273.64 voxels)

Page 1

< >

1

- (a) Tabela que identifica os pontos onde os valores de T ultrapassam o limiar 3,25 com p não corrigido menor que 0,005, num agrupamento (*cluster*) o valor de p atingiu o nível de significância depois das correções para múltiplas correções.

- (b) Mapa de cores das regiões com altos valores de T e aplicado sobre o modelo MNI152 e sobre o modelo de segmentação de substância cinzenta do grupo de estudo (*template c1*) confirmando uma única região em localização compatível com o ápice do petroso.

Figura 50: O resultado SPM-T indicando uma região com maior densidade de substância branca para os pacientes coincidindo com o achado incidental radiológico de um granuloma de colesterol no ápice do petroso em um paciente.

E para verificar se é a presença do granuloma de colesterol no ápice do petroso descrito no laudo radiológico de um paciente como um achado incidental que causou a identificação deste ponto como uma região de valor de maior de densidade de substância branca entre os pacientes com relação aos seus controles e atingindo o nível de significância científica na análise morfométrica para este ponto, excluímos o par se sujeitos cujo paciente é o que tem o laudo radiológico que descreve a presença de um granuloma de colesterol no ápice do petroso. Como resultado (Figura 51), podemos observar que para os mesmos pontos a tabela de resultados do SPM8 não mais revela nenhum ponto cujo valor de p corrigido seja $p < 0,05$.

Statistics: *p-values adjusted for search volume*

set-level		cluster-level				peak-level					mm mm mm		
<i>p</i>	<i>c</i>	<i>p</i> _{FWE-cor}	<i>q</i> _{FDR-cor}	<i>k</i> _E	<i>p</i> _{uncor}	<i>p</i> _{FWE-cor}	<i>q</i> _{FDR-cor}	<i>T</i>	(<i>Z</i> _≡)	<i>p</i> _{uncor}			
1.000	42	0.772	0.247	206	0.012	0.994	0.979	8.58	4.20	0.000	8	-4	64
						1.000	0.979	4.33	3.02	0.001	11	-7	73
		0.947	0.270	160	0.023	1.000	0.979	6.18	3.65	0.000	51	-27	-23
		1.000	0.733	43	0.209	1.000	0.979	5.97	3.59	0.000	-14	-67	-5
		1.000	0.559	73	0.108	1.000	0.979	5.74	3.52	0.000	9	-16	58
		0.998	0.413	115	0.049	1.000	0.979	5.44	3.42	0.000	14	44	45
		1.000	0.637	57	0.152	1.000	0.979	5.35	3.40	0.000	-48	-16	12
		1.000	0.782	23	0.357	1.000	0.979	5.02	3.28	0.001	6	11	51
		1.000	0.747	39	0.231	1.000	0.979	4.90	3.24	0.001	-6	50	-6
		1.000	0.782	24	0.346	1.000	0.979	4.81	3.21	0.001	-47	-54	19
		1.000	0.796	18	0.417	1.000	0.979	4.75	3.19	0.001	24	-63	-14
		1.000	0.559	69	0.117	1.000	0.979	4.71	3.17	0.001	0	-75	9
		0.098	0.034	417	0.001	1.000	0.979	4.71	3.17	0.001	6	27	-24
						1.000	0.979	4.55	3.11	0.001	-3	20	-24
						1.000	0.979	3.89	2.83	0.002	-11	17	-23
		1.000	0.870	10	0.554	1.000	0.979	4.51	3.09	0.001	-3	11	52
		1.000	0.782	20	0.391	1.000	0.979	4.50	3.09	0.001	54	3	-9
		1.000	0.841	15	0.461	1.000	0.979	4.33	3.02	0.001	-54	-18	-5
		1.000	0.782	20	0.391	1.000	0.979	4.28	3.00	0.001	-51	-27	16

table shows 3 local maxima more than 8.0mm apart

Height threshold: $T = 3.36$, $p = 0.005$ (1.000)	Degrees of freedom = [1.0, 8.0]
Extent threshold: $k = 0$ voxels, $p = 1.000$ (1.000)	FWHM = 9.9 9.7 9.8 mm mm mm; 6.6 6.5 6.5 {voxels}
Expected voxels per cluster, $\langle k \rangle = 29.236$	Volume: 2204138 = 653078 voxels = 2226.3 resels
Expected number of clusters, $\langle c \rangle = 125.85$	Voxel size: 1.5 1.5 1.5 mm mm mm; (resel = 279.61 voxels)
FWEp: 16.889, FDRp: Inf, FWEc: Inf, FDRc: 417	Page 1

1

Figura 51: O resultado SPM-T indicando que sem o par de sujeitos cujo paciente tem laudo radiológico que descreve um granuloma no ápice do petroso como achado incidental não há nenhuma região cujo p corrigido seja menor que 0,05.

Concluimos assim o estudo morfométrico (VBM-SPM) apontando para; 1) nenhum ponto com maior densidade de substância cinzenta dos controles do que dos pacientes; 2) um ponto bilateral de maior densidade de substância cinzenta nos pacientes do que nos controles, correspondendo possivelmente ao espessamento bilateral do nervo trigêmeo na porção pré-ganglionar compatível com um achado consistente dos laudos radiológicos dos pacientes com PIDC examinados; 3) quatro pontos de menor densidade de substância branca dos pacientes do que nos controles, sendo pelo menos uma região compatível com a região de substância

branca do lobo frontal direito do modelo (*template*) gerado para o grupo de estudo; e 4) Nenhum ponto de maior densidade de substância branca dos pacientes do que nos controles, exceto se considerado um ponto compatível com o ápice do petroso quando presente entre os pacientes está aquele cujo laudo radiológico identificou um granuloma de colesterol descrito como um possível achado incidental.

5.5. Tratometria & Conectividade

5.5.1. Achados da tratometria

Inicialmente, geramos uma imagem obtida com os dados da tratometria correspondente a sobreposição das fatias de mesma posição anatômica uma de cada sujeito. Assim podemos avaliar por inspeção visual qualitativa possíveis diferenças nos tratos da imagem gerada para a representação do grupo PIDC e do grupo Controle, no caso, em seções axiais na região do corpo caloso (Figura 52).

Figura 52: Sobreposição de imagens dos tratos [vermelho = direita/esquerda, verde = anterior/posterior, azul = caudal/rostral e combinações primárias da luz para as inclinadas, p.ex. amarelo = verde+vermelho]; (a) Grupo controle ; (b) Grupo paciente.

Qualitativamente, é possível observar algumas diferenças na imagem resultante para os grupo controle (Figura 76-a) região predominante azul, verde e vermelha mais bem definidas e simétricas que a imagem resultante dos pacientes (Figura 76-b), esta última, por sua vez, apresentou região predominante azul menos definida à esquerda e, regiões verdes e vermelhas bilateralmente menos intensas e definidas. Como se trata de superposições, entendemos que o grupo controle tem tratos anatomicamente mais homogêneos e intensos.

5.5.2. Resultados para o ACP

O ACP representa a probabilidade de conectividade que existe entre duas estruturas cerebrais selecionadas de um mesmo indivíduo. Numa análise de grupo podemos comparar os valores dos pacientes com o dos seus controles pareados num teste estatístico paramétrico, e para as diferenças com significância estatística ($p < 0,05$) representamos pelo gráfico da média com erro padrão de cada grupo. Inicialmente selecionamos o "somatório do ACP" das linhas (que representam as estruturas) de cada sujeito para ser comparado (Figura 53) deste modo, analisamos se os pacientes têm algum "somatório ACP" estatisticamente diferente dos controles e, em que estruturas cerebrais isto ocorre.

Figura 53: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACP" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte seis das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.

Ou seja, cada estrutura pode, teoricamente, conectar-se com todas as demais estruturas cerebrais presentes, cada conexão tem um valor de ACP próprio e somando-se todos os ACP

de uma estrutura obtemos o "somatório do ACP desta estrutura", o que expressa (Figura 54) o ACP desta estrutura com todas as outras, e verificamos se os pacientes com PIDC tiveram menor valor e em que estruturas cerebrais isto foi registrado com $p < 0,05$. Outra variante analisada foi a "mediana do ACP" por estrutura.

Figura 54: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACP" por estrutura.

Nesta análise, mensura-se quão diversificadas são as conexões de uma dada estrutura cerebral, pois, mesmo que uma estrutura seja muito fortemente conectada com outras a

"mediana do ACP" é nula se não houver pelo menos uma fraca conexão com metade das estruturas possíveis. Por fim, encerramos os resultados do ACP com um mapa que relaciona as cinquenta estruturas selecionadas entre si e destaca em azul todas as conexões que tiveram maior ACP nos controles do que nos pacientes, em vermelho as conexões que tiveram menor ACP nos controles do que nos pacientes e, em cinza todas as conexões cujas diferenças de ACP entre os grupos de pacientes e controles não foram significativas ($p < 0,05$), considerando a diagonal principal em branco por se tratar da conexão de uma estrutura com ela mesma e os elementos matriciais acima da diagonal branca foram desconsiderados pois são meras repetições simétricas das conexões vistas abaixo da diagonal. Assim, junto do mapa exibimos as roscas dos percentuais entre as comparações de foram significativas ou não e quais das significativas foram de valores maiores e menores para os pacientes (Figura 55) de modo que cada conexão foi avaliada quanto ao ACP numa comparação estatística paramétrica entre pacientes e controles.

Figura 55: Diferenças significativas de ACP para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.

5.5.3. Resultados para o ACS

O ACS representa a intensidade da conectividade anatômica que existe entre duas estruturas cerebrais selecionadas de um mesmo indivíduo. Numa análise de grupo podemos comparar os valores dos pacientes com o dos seus controles pareados num teste estatístico paramétrico, e para as diferenças com significância estatística ($p < 0,05$) representamos pelo gráfico da média com erro padrão de cada grupo. Inicialmente selecionamos o "maior ACS" das linhas (que representam as estruturas) de cada sujeito para ser comparado (Figura 56) deste modo, analisamos se os pacientes têm algum "maior ACS" estatisticamente diferente dos controles e, em que estruturas cerebrais isto ocorre.

Figura 56: Diferenças para o Maior ACS; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)

Seguindo com a análise do ACS (Figura 57) pelo "somatório do ACS".

Figura 57: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACS" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte quatro das cinquenta estruturas seleccionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.

Ou seja, cada estrutura pode, teoricamente, conectar-se com todas as demais estruturas cerebrais presentes, cada conexão tem um valor de ACS próprio e somando-se todos os ACS

de uma estrutura obtemos o "somatório do ACS desta estrutura", o que expressa (Figura 57) o ACS desta estrutura com todas as outras, e verificamos se os pacientes com PIDC tiveram menor valor e em que estruturas cerebrais isto foi registrado com $p < 0,05$. Outra variante analisada foi a "mediana do ACS" por estrutura (Figura 58).

Figura 58: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACS" por estrutura;

Nesta análise, mensura-se quão diversificadas são as conexões de uma dada estrutura cerebral, pois, mesmo que uma estrutura seja muito fortemente conectada com outras a

"mediana do ACS" é nula se não houver pelo menos uma fraca conexão com metade das estruturas possíveis. Por fim, encerramos os resultados do ACS com um mapa que relaciona as cinquenta estruturas selecionadas entre si e destaca em azul todas as conexões que tiveram maior ACS nos controles do que nos pacientes, em vermelho as conexões que tiveram menor ACS nos controles do que nos pacientes e, em cinza todas as conexões cujas diferenças de ACS entre os grupos de pacientes e controles não foram significativas ($p < 0,05$), considerando a diagonal principal em branco por se tratar da conexão de uma estrutura com ela mesma e os elementos matriciais acima da diagonal branca foram desconsiderados pois são meras repetições simétricas das conexões vistas abaixo da diagonal. Assim, junto do mapa exibimos as roscas dos percentuais entre as comparações de foram significativas ou não e quais das significativas foram de valores maiores e menores para os pacientes (Figura 59) de modo que cada conexão foi avaliada quanto ao ACS numa comparação estatística paramétrica entre pacientes e controles.

Figura59: Diferenças significativas de ACS para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.

5.5.4. Resultados para o ACD

O ACD representa a densidade da conectividade anatômica que existe entre duas estruturas cerebrais selecionadas de um mesmo indivíduo. Numa análise de grupo podemos comparar os valores dos pacientes com o dos seus controles pareados num teste estatístico paramétrico, e para as diferenças com significância estatística ($p < 0,05$) representamos pelo gráfico da média com erro padrão de cada grupo. Inicialmente selecionamos o "maior ACD" das linhas (que representam as estruturas) de cada sujeito para ser comparado (Figura 60) deste modo, analisamos se os pacientes têm algum "maior ACD" estatisticamente diferente dos controles e, em que estruturas cerebrais isto ocorre.

Figura 60: Diferenças para o Maior ACD; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)

Seguindo com a análise do ACD (Figura 61) pelo "somatório do ACD".

Figura 61: Diferenças caso-controle significativas para o "somatório de ACD" por estrutura; Houve diferenças significativas em vinte seis das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.

Ou seja, cada estrutura pode, teoricamente, conectar-se com todas as demais estruturas cerebrais presentes, cada conexão tem um valor de ACD próprio e somando-se todos os ACD

de uma estrutura obtemos o "somatório do ACD desta estrutura", o que expressa (Figura 66) o ACD desta estrutura com todas as outras, e verificamos se os pacientes com PIDC tiveram menor valor e em que estruturas cerebrais isto foi registrado com $p < 0,05$. Outra variante analisada foi a "mediana do ACD" por estrutura (Figura 62).

Figura 62: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de ACD" por estrutura;

Nesta análise, mensura-se quão diversificadas são as conexões de uma dada estrutura cerebral, pois, mesmo que uma estrutura seja muito fortemente conectada com outras a

"mediana do ACD" é nula se não houver pelo menos uma fraca conexão com metade das estruturas possíveis. Por fim, encerramos os resultados do ACD com um mapa que relaciona as cinquenta estruturas selecionadas entre si e destaca em azul todas as conexões que tiveram maior ACD nos controles do que nos pacientes, em vermelho as conexões que tiveram menor ACD nos controles do que nos pacientes e, em cinza todas as conexões cujas diferenças de ACD entre os grupos de pacientes e controles não foram significativas ($p < 0,05$), considerando a diagonal principal em branco por se tratar da conexão de uma estrutura com ela mesma e os elementos matriciais acima da diagonal branca foram desconsiderados pois são meras repetições simétricas das conexões vistas abaixo da diagonal. Assim, junto do mapa exibimos as roscas dos percentuais entre as comparações de foram significativas ou não e quais das significativas foram de valores maiores e menores para os pacientes (Figura 63) de modo que cada conexão foi avaliada quanto ao ACD numa comparação estatística paramétrica entre pacientes e controles.

Figura 63: Diferenças significativas de ACD para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.

5.5.5. Outros achados

O LONG representa o comprimento das fibras na conectividade anatômica que existe entre duas estruturas cerebrais selecionadas de um mesmo indivíduo. Numa análise de grupo podemos comparar os valores dos pacientes com seus controles pareados num teste estatístico paramétrico, e para as diferenças com significância estatística ($p < 0,05$) representamos pelo gráfico. Inicialmente, analisamos se os pacientes têm algum "maior LONG" estatisticamente diferente dos controles e, em que estruturas cerebrais isto ocorre. (Figura 64)

Figura 64: Diferenças para o Maior LONG; os pacientes apresentaram valor maior para o Cuneus, Occipital Superior e Medial (valores referentes às estruturas bilaterais)

Seguindo com a análise do LONG (Figura 65) pelo "somatório do LONG".

Figura 65: Diferenças caso-contrôle significativas para o "somatório de LONG" por estrutura; Houve diferenças significativas em trinta e cinco das cinquenta estruturas selecionadas, todas com resultados menores para os pacientes comparados aos controles.

Ou seja, cada estrutura pode, teoricamente, conectar-se com todas as demais estruturas cerebrais presentes, cada conexão tem um valor de LONG próprio e somando-se todos os

LONG de uma estrutura obtemos o "somatório do LONG desta estrutura", o que expressa (Figura 66) o LONG desta estrutura com todas as outras, e verificamos se os pacientes com PIDC tiveram menor valor e em que estruturas cerebrais isto foi registrado com $p < 0,05$. Outra variante analisada foi a "mediana do LONG" por estrutura (Figura 66).

Figura 66: Diferenças caso-controle significativas para a "mediana de LONG" por estrutura;

Nesta análise, mensura-se quão diversificadas são as conexões de uma dada estrutura cerebral, pois, mesmo que uma estrutura seja muito fortemente conectada com outras a

"mediana do LONG" é nula se não houver pelo menos uma fraca conexão com metade das estruturas possíveis. Por fim, encerramos os resultados do LONG com um mapa que relaciona as cinquenta estruturas selecionadas entre si e destaca em azul todas as conexões que tiveram maior LONG nos controles do que nos pacientes, em vermelho as conexões que tiveram menor LONG nos controles do que nos pacientes e, em cinza todas as conexões cujas diferenças de LONG entre os grupos de pacientes e controles não foram significativas ($p < 0,05$), considerando a diagonal principal em branco por se tratar da conexão de uma estrutura com ela mesma e os elementos matriciais acima da diagonal branca foram desconsiderados pois são meras repetições simétricas das conexões vistas abaixo da diagonal. Assim, junto do mapa exibimos as roscas dos percentuais entre as comparações de foram significativas ou não e quais das significativas foram de valores maiores e menores para os pacientes (Figura 67) de modo que cada conexão foi avaliada quanto ao LONG numa comparação estatística paramétrica entre pacientes e controles.

Figura 67: Diferenças significativas de LONG para cada conexão entre duas estruturas; cor azul indica controles > pacientes, vermelho o contrário.

Outros resultados para o estudo da conectividade cerebral e para a tratometria podem ser expressos em função das matrizes de conectividade geradas no processamento anterior, só que ao invés de considerar cada conexão separadamente ou cada conjunto de conexões por estrutura isoladamente, consideramos, desta vez, as matrizes completas e, delas extraímos um valor que as possam representar de alguma maneira. Por exemplo, a comparação entre grupos (Figura 68) do número total de elementos gerados pelas matrizes do processamento de conectividade cerebral.

Figura 68: O número total de elementos gerados pelas matrizes do processamento de conectividade cerebral foi menor entre os pacientes do que entre os controles;

Também analisamos as dez conexões com maior número de elementos gerados por todas as matrizes e comparamos os resultados (Figura 69) entre os grupos.

Figura 69: Em cinco das dez maiores conexões avaliadas houve diferenças com significância ($p < 0,05$); em todas as comparações, o Grupo PIDC teve resultados menores que o Controle.

Observamos que a média de elementos das dez maiores conexões foi estatisticamente maior no grupo controle do que no grupo paciente (Figura 70), embora a média do total tratos

identificados entre os controles não tenha sido suficientemente maior ($p=0,10$) que nos pacientes para atingir uma significância estatística.

Figura 70: Em cinco da dez maiores conexões avaliadas houve diferenças com significância ($p<0,05$); em todas as comparações, o Grupo PIDC teve resultados menores que o Controle.

Consideramos o fato de que entre as dez maiores conexões (conexões com maior número de elementos processados) as duas estruturas ligadas em cada conexão avaliada nem sempre eram exatamente as mesmas, mas sete pares de estruturas coincidiram entre das principais conexões e analisamos o pareamento delas entre o grupo de Pacientes e o grupo de Controles. Como resultado, em todas as conexões principais com o mesmo par de estruturas ligadas os Controles tiveram valores maiores que os Pacientes e todos com nível de significância estatística ($p<0,05$) para os testes t de duas amostra pareadas.

Nesta condição, (Figura 71) podemos entender que as principais conexões entre as mesmas estruturas dos pacientes com PIDC foram menores quanto ao número de elementos no processamento da conectividade se comparadas com as do grupo controle. A identificação dos pares das estruturas conectadas em cada conexão notável, na ordem em que aparecem no

gráfico são; 82--86 = Temporal_Sup_R--Temporal_Mid_R; 52--86 = Occipital_Mid_R--Temporal_Mid_R; 51--85 = Occipital_Mid_L--Temporal_Mid_L; 49--51 = Occipital_Sup_L--Occipital_Mid_L; 04--08 = Frontal_Sup_R--Frontal_Mid_R; 04--30 = Frontal_Sup_R--Insula_R e; 13--31 = Frontal_Inf_Tri_L--Cingulum_Ant_L.

Figura 71: As principais conexões (com maior número de elementos processados) nos pacientes com PIDC foram menores que as mesmas conexões (que ligam as mesmas estruturas cerebrais) nos controles.

Deste modo, concluímos os resultados obtidos para o estudo da conectividade cerebral e tratometria comparativa entre os grupos. Os resultados apresentados aqui foram somente os que alcançaram o nível de significância estatística para as comparações entre controles e pacientes.

5.6. Difusibilidade

5.6.1. Achados da difusibilidade

O resultado da análise de grupo do "processamento FA" entre pacientes com PIDC e controles normais (Figura 72), no TBSS/FSL, pode ser avaliado no "FSLView" com a imagem da eskeletonização do FA médio em linha verde sobreposta à imagem ponderada em T1 com alta resolução (1mm³) do sujeito modelo (FMRIB58) do FSL e, sobreposto ao esqueleto de FA o valor (1-p) do mapa de probabilidades do teste t com contraste "stat1" para controles maior que pacientes e "stat2" para pacientes maior que controles.

Também podemos avaliar os valores máximo e mínimo de cada mapa de probabilidades resultantes (1-p) pelo MRICro. Por fim, foi possível identificar que nenhuma região com valores - corrigidos pelo TFCE e pelas permutações randômicas exaustivas dos sujeitos de pesquisa dos grupos comparados - alcançou o nível de significância estatística de $(1-p) > 0,95$, para os mapas probabilísticos resultantes do processamento "tbss_tfce_corr_p_tstat#", porém para o resultado padrão do TBSS, que considera valores de p corrigido somente pelo TFCE, para a comparação com contraste do tipo 01 - que representa diferença entre os grupo do tipo controles maior que paciente - foram encontrados valores significativos $(1-p) > 0,95$ em algumas regiões. Deste modo, pode-se afirmar que não houve diferenças significativas para o valor de FA na comparação entre pacientes com PIDC e controles normais, porém há regiões onde o valor do FA médio do grupo controle foi suficientemente maior que do grupo de pacientes com PIDC para apontar valores de $(1-p) > 0,95$ no "tbss_tfce_p_tstat1", e para a discussão e interpretação deste resultado pode-se afirmar que o "tbss_tfce_corr_p_tstat1" pode ter apresentado um falso-negativo, haja vista que o processamento sem exaustivas permutações randômicas mantém a ordem inicial dos sujeitos de pesquisa que, neste estudo foi exatamente a ordem do teste pareado.

(a)

(b)

(c)

(d)

(e)

Figura 72: Mapas resultantes do processamento TBSS/FSL para o FA com valores de $(1-p)$ (a) pacientes maior que controles; (b) controles maior que pacientes; (c) item "a" com p corrigido; (d) item "b" com p corrigido; (e) região com valores $(1-p) > 0,95$.

Em (a) teste de contraste 2, corrigido pelas permutações randômicas nenhum valor dos pacientes foi significativamente maior que os controles; Em (b) teste de contraste 2,

corrigido por TFCE, raros pontos atingiram mais de 0,95, que concluímos ser insuficiente para definir alguma ROI com valores de FA significativamente maiores nos pacientes do que nos controles; Em (c) teste de contraste 1, corrigido pelas permutações randômicas além do TFCE, observamos valores de até 0,6144 e concluímos que as permutações entre os sujeitos dos grupos tenham influenciado o resultado negativamente já que a ordem inicial segue um pareamento; Em (d) teste de contraste 1, corrigido pelo TFCE foi encontrada uma região com valores de FA maiores nos controles do que nos pacientes com PIDC, considerada a significância estatística; Em (e) a região que apresentou valores significativos de maior FA entre os controles do que entre os pacientes com PIDC, esta região foi identificada como sendo o trato de substância branca (59%) entre o globo pálido esquerdo (19%) e o córtex cerebral adjacente (2%) pelo *Harvard-Oxford Subcortical Structural Atlas*. Este achado é razoável por expressar que numa dada região cerebral a anisotropia fracionada num trato de substância branca foi significativamente menor no grupo de pacientes com PIDC se comparado com valor do grupo controle. Porém, surpreende por não ser um achado bilateral e por ser anatomicamente bastante restrito. Posto que consideramos somente o resultado após a correção das permutações randômicas entre os sujeitos dos grupos, os valores corrigidos não atingiram o nível de significância estatística exigido " $1 - p = 0,95$ para `tbss_tfce_coop_tstat1`". Entretanto, apresentamos este achado a discussão de significância científica, posto que este resultado preserva significância estatística após TFCE e mantém os sujeitos dos grupos alinhado em pares que realmente têm mesmo gênero e faixa etária. Os próximos resultados referem-se ao "processamento não-FA" do TBSS/FSL a começar pelo mapa de difusibilidade média (MD). O resultado da análise de grupos com o mapa de MD apresentou um valor inicialmente intrigante. Nenhum ponto sobre a máscara de esqueletonização apresentou valores de MD significativamente maiores para os controles, porém o teste de contraste 2 (inverso) evidenciou que (Figura 73) em praticamente toda a

esqueletonização de tratos os valores de MD foram significativamente (incluída a correção TFCE e das permutações randômicas) maiores no grupo de pacientes com PIDC.

Figura 73: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores de MD foram significativamente maiores no grupo de pacientes com PIDC quando comparados com os valores de MD do grupo controle.

Posto que cada valor do mapa de MD foi determinado pela média dos valores dos mapas de L1, L2 e L3 para o mesmo voxel e, neste estudo, o L3 corresponde à difusibilidade paralela ao trato, enquanto o L1 e L2 são representantes da difusibilidade transversa, orientamo-nos para avaliar o resultado de cada mapa L separadamente (L1, L2 e L3) para determinarmos qual foi a contribuição de cada L no MD final. Assim resolvemos se a maior participação no resultado para o MD foi decorrente da difusibilidade paralela ou da difusibilidade transversa (Figura 74). Fizemos, então, a comparação entre os grupos (caso e controle) para o L1, L2 e L3, separadamente, e observamos que todos tiveram diferenças significativas somente para o contraste 2 (valor nos pacientes maior que nos controles) porém mais restrita em L1, ou seja, L1 apresentou menos regiões e L2 e L3 mais regiões ($1-p > 0,95$).

(a)

Figura 74: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores de L1, L2 e L3 atingiram significância estatística somente para o contraste 2 (paciente > controle) sendo L1 com menos regiões e L2 e L3 com mais regiões ($1-p > 0,95$).

Segue; Itens (b) e (c)

Este resultado surpreendeu ao revelar que os pacientes com PIDC apresentaram maior difusibilidade em algumas regiões do trato de substância branca que os controles normais. Porém, numa região (Figura 75) de trato de substância profunda logo abaixo do giro central (100% substância branca, pelo *Harvard-Oxford Subcortical Structural Atlas*) a diferença (paciente > controle) foi significativa somente para o L1 e L2, não sendo para o L3; isto, sinaliza que o MD desta região (significativo para paciente > controle) é resultante da maior difusibilidade transversa (L1 e L2, perpendiculares à difusibilidade predominante) que os pacientes apresentaram, o que é razoável que ocorra na PIDC, já que uma possível perda de integridade física das barreiras mielínicas e axonais nos tratos pode aumentar a difusibilidade

transversa. Para as demais regiões da eskeletonização do FA médio que apresentaram maior valor de MD nos pacientes, com significância estatística (Figura 81), tanto o valor de L3 como o de L2 foram igualmente superiores entre os pacientes e com nível ($1-p>0,95$) significativo. Ou seja, em nenhuma região o maior MD dos pacientes foi resultado da participação isolada de um maior L3 referente à difusibilidade paralela ao trato. A combinação de L2 e L3 pode ser compreendida como um aumento da difusibilidade em eixos oblíquos (não paralelos ao trato) o que não se espera de um trato com integridade física perfeita (capa de mielina e membranas axonais íntegras). Os resultados apresentados revelaram que nos tratos gerados pela eskeletonização do FA médio o TBSS/FSL revelou que os pacientes não tiveram uma anisotropia fracionada suficientemente (considerando a correção das permutações randômicas além do TFCE) menor que os controles, mas apresentaram maior difusibilidade transversa e oblíqua aos tratos o que é consoante à possível perda de integridade física em tratos de substância branca na PIDC. Ademais (Figura 83), também fizemos uma análise de grupos TBSS para os mapas de B0, MTR e T2 da relaxometria de cinco ecos, esta última chamamos de mapa 5RLX. Como resultado nenhuma diferença com significância científica foi identificada entre os pacientes com PIDC e os controles normais quanto aos valores de B0, MTR e 5RLX.

Figura 75: O resultado do processamento não-FA no TBSS/FSL evidenciou que os valores dos mapas de B0, MTR e 5RLX não apresentaram diferenças entre os pacientes com PIDC e os controles normais.

Com estes resultados a análise de grupos do TBSS/FSL revelou que nenhuma diferença significativa ocorreu entre os controles e pacientes, exceto pela maior difusibilidade transversa e oblíqua dos pacientes com relação aos controles. Para confirmar este achado incluímos um grupo de sujeitos normais num "grupo teste" e refizemos o processamento "FA e não-FA" do TBSS/FSL. Se alguma comparação entre os grupos "controle e teste" fosse revelada interpretaríamos como uma sensibilidade superestimada da aplicação TBSS de modo que o resultado visto até agora poderia ser um falso-positivo do método analítico usado. Porém, nenhum falso-positivo foi detectado, e nenhuma comparação "controle *versus* teste" apresentou diferenças com nível de significância estatística. Este segundo processamento no

TBSS/FSL foi realizado em um outro diretório de trabalho criado especialmente para isto, nele o primeiro passo foi acrescentar ao grupo controle outros onze sujeitos de pesquisa também saudáveis formando um grupo teste. Para todos os sujeitos do grupo teste preparamos os mapas desejados (FA, MD, L1, L3, MTR e 5RLX) no formato NIfTI compactado (*.nii.gz) em diretórios que bem os identifica. Inicialmente realizamos o "processamento FA" preparando os dados de entrada, copiando os arquivos originais em "origdata" e os arquivos de visualização rápida no "slicedir". Em seguida, no diretório FA foi gerado os arquivos com o FA médio, a máscara do FA médio, a eskeletonização do FA médio e a máscara da eskeletonização do FA médio. Ao concluir os comandos do processamento FA, realizamos o processamento "não-FA" tendo nos diretórios dos mapas escolhidos (MD, L1, L3, MTR e 5RLX) os arquivos com o mesmo nome dos sujeitos processados. Todos os resultados para a análise de grupos que comparou mediante TBSS o grupo controle com o grupo teste foram guardados na pasta "stats" do novo diretório de trabalho, conclusão, não houve nenhuma diferença com nível de significância científica.

Os resultados negativos - para todas as comparações entre controles *versus* testes randomizados - ratificam o achado anterior de que o grupo paciente foi maior que o grupo controle para difusibilidade transversa e oblíqua, pelo fica descartada a possibilidade de um falso-positivo do método TBSS;

Conforme apresentado (Figura 76), de cima para baixo e da esquerda para direita tem-se; cortes nos mapas de FA dos sujeitos do grupo teste; FA médio, sua máscara, eskeletonização do FA médio e sua máscara; imagem do sujeito modelo do MNI152 com a eskeletonização do FA médio sobreposto e nenhuma região marcada com diferenças de FA, MD, L1, L3, MTR e 5RLX ($1-p > 0,95$).

Figura 76: O resultado do segundo processamento "FA e não-FA" no TBSS/FSL evidenciou que os valores dos mapas de FA, MD, L1, L3, MTR e 5RLX não apresentaram diferenças significativas entre os sujeitos do grupo teste e os sujeitos do grupo controle -

Assim, podemos concluir que único achado consistente do estudo da difusibilidade anatômica foi a identificação de que os pacientes com PIDC possuem maior valor de difusibilidade transversa e oblíqua se comparado a controle normais e este achado se confirmou ao descartar-se um falso-positivo quando comparamos o mesmo grupo de controles normais com outros sujeitos saudáveis e randomizados de num grupo teste.

6. Discussão

Entendemos que este estudo tem limitações, assim identificamos os seguintes pontos para serem considerados na sua reprodutibilidade científica.

6.1. Tamanho da amostra

1) Primeira limitação: O pequeno número de pacientes. Embora onze pacientes seja um N razoável para o estudo clínico de uma síndrome de baixa prevalência e o cálculo do tamanho da amostra tenha indicado este valor como suficiente para testes paramétricos da volumetria intracraniana, um número maior de pacientes poderia realçar preditivos ainda latentes.

6.2. Heterogeneidade

2) Segunda limitação: A heterogeneidade do grupo. Embora a análise de grupo tenha pareado os sujeitos de pesquisa caso-controle com gênero igual e mesma faixa etária, o ideal era ter um grupo de pacientes maior, balanceado em gênero e com a mesma faixa etária e demais covariáveis demográficas.

6.3. Comorbidades

3) Terceira limitação: A presença de comorbidades no grupo da pacientes, somente um paciente do grupo caso não apresentava nenhuma comorbidade, embora os critérios de inclusão tenham sido atendidos outras comorbidades como diabetes mellitus (DM) e hipertensão arterial (HAS) podem lançar dúvida sobre achados positivos do grupo caso.

6.4. Diagnóstico diverso

4) Quarta limitação: A presença de um paciente com diagnóstico diverso, em tempo não-hábil para pós-exclusão foi sabido que um dos onze pacientes apresentou DNA positivo para CMT-1A. Portanto, pode-se questionar sua influência nos achados positivos para o grupo caso.

6.5. Influência do tratamento

5) Quinta limitação: O tratamento dos paciente pode influenciar tanto positiva como negativamente nos resultados do estudo (obviamente não se interrompe o tratamento para a pesquisa). Apesar da estratégia usada pelo desenho do estudo de realizar um único exame no dia da pulso-terapia, imediatamente antes da sessão, para que a influência da medicação seja a menor possível (o mínimo remanescente da última sessão) a maioria dos pacientes eram tratados com imunoglobulina e em momento anterior usaram corticosteróides (vide anexo A2), portanto, os resultados de volumetria intracraniana podem ser questionados sobre a influência do uso de tais substâncias.

Vale destacar que a revisão nas bases de dados científicas - até esta dada - não encontrou estudos que relacionam o uso de imunoglobulina com possíveis alterações ou atrofias encefálicas, portanto, não sabemos se o uso de IgIV prejudica os resultados do estudo ou não, não obstante, os corticosteróides que são um grupo hormônios esteróides (tanto os glicocorticóides ou cortisol como o mineralcorticóides ou aldosterona) têm citações em estudos que de alguma forma relatam "atrofia cerebral", nisto destacamos que o nível de cortisol em idosos pode se relacionar com a atrofia cerebral e hiper-intensidades na substância branca (Koehler et al, 2010). Contudo, em nosso estudo o uso de corticosteróides se deu em 4 dos 11 pacientes e o exame de RM foi feito imediatamente antes de uma sessão, ou seja, ao

maior tempo de distância possível do efeito remanescente da sessão anterior, se é que ainda há algum efeito após mais de quatro semanas.

6.6. Sintomatologia clínica ausente

6) Sexta limitação: As alterações identificadas no grupo caso foram significativas porém limitadas por que não foram acompanhadas de um sintomatologia clínica consistente e não tiveram, neste estudo, um acompanhamento neuropsicológico que corroborasse a evidência estatística da presença alterações centrais por testes de memória e/ou habilidades cognitivas.

6.7. Aplicabilidade limitada

7) Sétima limitação: A aplicabilidade dos resultados, das interpretações e das conclusões deste estudo está circunscrita pela limitação da sua casuística e especificidade metodológica. Avaliamos somente pacientes com PIDC (diagnóstico positivo em avaliação clínica e eletrofisiológica do HC-FMRP), todos adultos entre 19 e 69 anos de idade e pareados por gênero e faixa etária com controles normais. Todos os pacientes estavam em tratamento corrente no HC-FMRP da USP, gozavam boa saúde física aparente (tinham leve ou nenhuma limitação de movimento na marcha e não se queixavam de dores ou desconfortos) e mental (sem dificuldades de comunicação oral, entendimento e com escrita básica boa ou regular). Por fim, todos os sujeitos de pesquisa incluídos no estudo foram brasileiros oriundos da região sudeste com aparência caucasiana, deste modo, é questionável que pacientes com PIDC oriundos de outra região do planeta e com outras características demográficas apresentem os mesmo resultados.

7. Conclusões

7.1. Conclusões específicas

7.1.1. Avaliação descritiva das IRM

- 1) Achados relativos a gliose, microangiopatia e possíveis processos de desmielinização e remielinização podem ser observados nas imagens de ressonância magnética de pacientes com PIDC.
- 2) Espessamento do nervo trigêmeo pode ser encontrado em IRMs de pacientes com PIDC e pode ser considerado um dos achados relacionados à síndrome.
- 3) A dilatação ventricular assimétrica e a atrofia cerebral, observados em um caso podem ser ou não fortuitas.

7.1.2. Volumetria FS

Os resultados do estudo (considerado o nível de significância científica) identificaram que diversas estruturas cerebrais dos pacientes com PIDC foram, na sua maioria, bilateralmente quantificadas com volumes menores e com menor fração do volume encefálico total quando comparados aos controles normais. A segmentação com e sem os ventrículos e o volume intracraniano total dos pacientes também apresentaram volumes menores que dos controles e, suas frações percentuais da máscara "brain" também foram menores. Repetido o processamento volumétrico num outro "grupo teste" os volumes dos "controles" foram confirmados como sendo realmente normais. Além destas diferenças volumétricas significativas (para controles > pacientes) os pacientes com PIDC também apresentaram menor espessura cortical, menor número de vértices e consequentemente menor superfície cortical em algumas regiões cerebrais.

7.1.3. Morfometria VBM/SPM

O resultado do estudo VBM/SPM identificou diferenças entre o grupo caso (pacientes com PIDC) e o grupo controle (voluntários saudáveis) com significância estatística preservada mesmo após a aplicação do FDR e FWE para múltiplas comparações simultâneas em duas situações;

1) Para a segmentação de substância cinzenta (C1) foi identificada uma região bilateral de maior densidade de substância cinzenta para o grupo caso (pacientes com PIDC) regiões com valores de T superiores ao limiar 3,25 e com nível de significância corrigido $p=0,005$ e $p=0,001$. Dada a localização destas regiões no modelo (*template*) de substância cinzenta do estudo, este resultado foi consoante ao achado radiológico de espessamento trigeminal bilateral.

2) Para a segmentação de substância branca (C2) foram identificados quatro agrupamentos (*clusters*) com valor de T superior ao limiar de 3,25 e cujo maior p corrigido foi $p=0,039$. Localizados destes agrupamentos no modelo (*template*) de substância cinzenta do estudo identificamos pelo menos uma região coincidente com substância branca subcortical profunda do lobo frontal. Sinalizando que nossos pacientes com PIDC possuem menor densidade de substância branca nesta região encefálica.

7.1.4. Tratometria e Conectividade Cerebral

Os resultados do estudo de tratometria e conectividade cerebral identificaram que a conectividade cerebral dos pacientes com PIDC foi quantificada e comparada à conectividade dos controles normais pode ser classificada como menos intensa, menos densa e menos provável de estabelecer conexões entre as estruturas cerebrais avaliadas (foram selecionadas as cinquenta estruturas mais relevantes do estudo para o atlas de 116 estruturas cerebrais).

Para o ACP, 4,56% das conexões apresentaram diferenças significativas, das quais 74% correspondem a valores de ACP maior nos controles do que nos pacientes. Para o ACS, 6,88% das conexões apresentaram diferenças significativas entre os grupos e destas 98% refere-se a valores de ACS maior nos controles do que nos pacientes. E para o ACD, 5,92% das conexões apresentaram diferenças significativas entre os grupos, sendo que 91% destas representaram maior valor de ACD nos controles do que nos pacientes.

Por fim, podemos concluir que as fibras dos tratos anatômicos que conectam as regiões cerebrais avaliadas são menos intensas, prováveis e densas nos pacientes com PIDC, além de terem menor comprimento e menor número de elementos nas matrizes de conectividade.

7.1.5. Difusibilidade TBSS

O estudo da difusibilidade anatômica entre os paciente com PIDC e os controles normais por TBSS foi realizado com todos os mapas selecionados (FA, MD, L1, L2, L3, B0, MTR, e 5RLX) em comparações paramétricas t de duas amostras independentes com contraste direto (controle . paciente) e inverso (controle < paciente).

De todas as comparações realizadas e localizadas no *Harvard-Oxford Subcortical Structural* Atlas pelo TBSS/FSL foi encontrado valores com significância estatística ($p < 0,05$) após correção TFCE e permutações randômicas para valores de MD, L1, L2 e L3 maiores nos pacientes. Este resultado pode ser entendido como maior difusibilidade transversa e oblíqua nos pacientes com PIDC, o que corresponde à possível perda de integridade física dos tratos anatômicos (capas de mielina e membranas axonais) destes pacientes.

7.2. Conclusão Geral

Este estudo caracterizou a alteração do SNC na PIDC, apresentando valores de diferenças volumétricas, morfométricas, tratométricas, de difusibilidade anatômica e

conectividade cerebral entre controles normais e pacientes com PIDC sem clínica para alterações centrais identificada previamente. Concluimos que existem alterações no SNC de pacientes com PIDC mesmo que estes não tenham uma clínica que sinalize para alterações neurológicas centrais, de modo que isto deve ser doravante também considerado no tratamento dos pacientes com PIDC.

Referências

- ALEMÁN-GÓMEZ, Y.; MELIE-GARCÍA, L.; VALDÉS-HERNANDEZ, P. IBASPM: toolbox for automatic parcellation of brain structures. 12th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, 2006.
- ALLEN, D. et al. Subacute peripheral and optic neuropathy syndrome with no evidence of a toxic or nutritional cause. **Clinical neurology and neurosurgery**, 2013. ISSN 0303-8467.
- ANDERSSON, J. L.; JENKINSON, M.; SMITH, S. Non-linear registration, aka Spatial normalisation FMRIB technical report TR07JA2. **FMRIB Analysis Group of the University of Oxford**, 2007.
- ANDERSSON, J. L. et al. **Non-linear optimisation. FMRIB technical report TR07JA1**: Oxford (UK): FMRIB Centre 2007.
- ASHBURNER, J.; FRISTON, K. J. Nonlinear spatial normalization using basis functions. **Human brain mapping**, v. 7, n. 4, p. 254-266, 1999. ISSN 1065-9471.
- _____. Why voxel-based morphometry should be used. **Neuroimage**, v. 14, n. 6, p. 1238-1243, 2001. ISSN 1053-8119.
- ASHBURNER, J. et al. Identifying global anatomical differences: deformation-based morphometry. **Human Brain Mapping**, v. 6, n. 5-6, p. 348-357, 1998. ISSN 1065-9471.
- BARIŠIĆ, N. et al. Progressive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in a child with central nervous system involvement and myopathy. **Collegium antropologicum**, v. 30, n. 4, p. 945-949, 2006. ISSN 0350-6134.
- _____. Early-onset progressive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) associated with CNS demyelination and inflammatory myopathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 199, p. S85-S86, Jul 2002. ISSN 0022-510X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000180247400380 >.
- BEGHI, E. et al. THE EPIDEMIOLOGY OF INFLAMMATORY POLYRADICULONEUROPATHY - A CRITICAL-REVIEW OF THE DISTRIBUTION, CHARACTERISTICS AND OUTCOME OF THE DISEASE.

- Italian Journal of Neurological Sciences**, v. 12, n. 1, p. 63-73, Feb 1991. ISSN 0392-0461. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1991EZ88400007 >.
- BENCARDINO, J. T. Radiological Society of North America (RSNA) 2010 Annual Meeting. **Skeletal radiology**, v. 40, n. 8, p. 1109-1112, 2011. ISSN 0364-2348.
- BEZERRA, M. L. E. et al. Hepatitis C virus: A rare manifestation - Remitting relapsing central and peripheral demyelination. **Neurology India**, v. 59, n. 1, p. 114-116, Jan-Feb 2011. ISSN 0028-3886. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000288023600029 >.
- BLUM, S.; MCCOMBE, P. A. Genetics of Guillain - Barré syndrome (GBS) and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP): current knowledge and future directions. **Journal of the Peripheral Nervous System**, 2014a. ISSN 1529-8027.
- _____. Genetics of Guillain - Barré syndrome (GBS) and chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP): current knowledge and future directions. **Journal of the Peripheral Nervous System**, 2014b. ISSN 1529-8027.
- BOUCHARD, C. et al. Clinicopathologic findings and prognosis of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Neurology**, v. 52, n. 3, p. 498-498, 1999. ISSN 0028-3878.
- CAPELLO, E. et al. Acute axonal form of Guillain-Barre syndrome in a multiple sclerosis patient: chance association or linked disorders? **European Journal of Neurology**, v. 7, n. 2, p. 223-225, Mar 2000. ISSN 1351-5101. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000086595600014 >.
- CAVANNA, A. E. et al. Corpus callosum abnormalities in Tourette syndrome: an MRI-DTI study of monozygotic twins. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 81, n. 5, p. 533-535, 2010. ISSN 1468-330X.
- CHUMBLEY, J. R.; FRISTON, K. J. False discovery rate revisited: FDR and topological inference using Gaussian random fields. **Neuroimage**, v. 44, n. 1, p. 62-70, 2009. ISSN 1053-8119.
- COMI, C.; FLEETWOOD, T.; DIANZANI, U. The role of T cell apoptosis in nervous system autoimmunity. **Autoimmunity reviews**, v. 12, n. 2, p. 150-156, 2012. ISSN 1568-9972.

- DALAKAS, M. C. Advances in the diagnosis, pathogenesis and treatment of CIDP. **Nature Reviews Neurology**, v. 7, n. 9, p. 507-517, 2011. ISSN 1759-4758.
- DALE, A. M.; FISCHL, B.; SERENO, M. I. Cortical surface-based analysis: I. Segmentation and surface reconstruction. **Neuroimage**, v. 9, n. 2, p. 179-194, 1999. ISSN 1053-8119.
- FEASBY, T. et al. Central lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. An MRI study. **Neurology**, v. 40, n. 3 Part 1, p. 476-476, 1990. ISSN 0028-3878.
- FEE, D. B.; FLEMING, J. O. Resolution of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy-associated central nervous system lesions after treatment with intravenous immunoglobulin. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 8, n. 3, p. 155-158, Sep 2003. ISSN 1085-9489. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000185118600004 >.
- FEENEY, D. et al. HLA antigens in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 53, n. 2, p. 170-172, 1990. ISSN 1468-330X.
- FISCHL, B. FreeSurfer. **Neuroimage**, v. 62, n. 2, p. 774-781, 2012. ISSN 1053-8119.
- FISCHL, B.; DALE, A. M. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 20, p. 11050-11055, 2000. ISSN 0027-8424.
- FISCHL, B. et al. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. **Neuron**, v. 33, n. 3, p. 341-355, 2002. ISSN 0896-6273.
- _____. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. **Human brain mapping**, v. 8, n. 4, p. 272-284, 1999. ISSN 1065-9471.
- _____. Automatically parcellating the human cerebral cortex. **Cerebral Cortex**, v. 14, n. 1, p. 11-22, 2004. ISSN 1047-3211.
- FISHER, C. M. Lacunes: small, deep cerebral infarcts. **Neurology**, v. 50, n. 4, p. 841-841-a, 1998. ISSN 0028-3878.

- FRANSSEN, H.; STRAVER, D. C. Pathophysiology of immune - mediated demyelinating neuropathies—Part II: Neurology. **Muscle & nerve**, v. 49, n. 1, p. 4-20, 2014. ISSN 1097-4598.
- FRESSINAUD, C.; JEAN, I.; DUBAS, F. Modifications des neurofilaments et des microtubules axonaux en fonction du mécanisme lésionnel: étude pathologique et expérimentale. **Revue Neurologique**, v. 161, n. 1, p. 55-60, 2005. ISSN 0035-3787.
- FROHMAN, E. M. et al. Vestibular dysfunction in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Annals of Neurology**, v. 39, n. 4, p. 529-535, Apr 1996. ISSN 0364-5134. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1996UF80800014 >.
- HAN, X.; FISCHL, B. Atlas renormalization for improved brain MR image segmentation across scanner platforms. **Medical Imaging, IEEE Transactions on**, v. 26, n. 4, p. 479-486, 2007. ISSN 0278-0062.
- HARTUNG, H.-P. et al. T cell activation in Guillain - Barré syndrome and in MS Elevated serum levels of soluble IL - 2 receptors. **Neurology**, v. 40, n. 2, p. 215-215, 1990. ISSN 0028-3878.
- HAWKE, S.; HALLINAN, J.; MCLEOD, J. Cranial magnetic resonance imaging in chronic demyelinating polyneuropathy. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 53, n. 9, p. 794-796, 1990. ISSN 1468-330X.
- HAYASAKA, S. et al. Nonstationary cluster-size inference with random field and permutation methods. **Neuroimage**, v. 22, n. 2, p. 676-687, 2004. ISSN 1053-8119.
- HOLTKAMP, M. et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with histologically proven optic neuritis. **Acta neuropathologica**, v. 101, n. 5, p. 529-531, 2001. ISSN 0001-6322.
- HUGHES, R. A. et al. Treatments for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP): an overview of systematic reviews. **The Cochrane Library**, 2013. ISSN 1465-1858.
- IOANNIDIS, P. et al. Spinal cord involvement in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a clinical and MRI study. **Acta Neurologica Belgica**, p. 1-5, 2014. ISSN 0300-9009.

- ISOSE, S. et al. Long - term regular plasmapheresis as a maintenance treatment for chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 15, n. 2, p. 147-149, 2010. ISSN 1529-8027.
- ITURRIA-MEDINA, Y. **Caracterizacion de la conectividad anatomica cerebral a partir de las neuroimagenes de la difusion y la teoria de grafos**. 2013. Universidad de Ciencias Medicas de la Habana.
- ITURRIA-MEDINA, Y. et al. Characterizing brain anatomical connections using diffusion weighted MRI and graph theory. **Neuroimage**, v. 36, n. 3, p. 645-660, 2007. ISSN 1053-8119.
- _____. Studying the human brain anatomical network via diffusion-weighted MRI and Graph Theory. **Neuroimage**, v. 40, n. 3, p. 1064-1076, 2008. ISSN 1053-8119.
- KAKUDA, T. et al. Diffusion tensor imaging of peripheral nerve in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a feasibility study. **Neuroradiology**, v. 53, n. 12, p. 955-960, Dec 2011. ISSN 0028-3940. Disponible em: <<Go to ISI>://WOS:000297162600004 >.
- KALE, H. A.; SKLAR, E. Magnetic resonance imaging findings in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with intracranial findings and enhancing, thickened cranial and spinal nerves. **Australasian Radiology**, v. 51, p. B21-B24, Oct 2007. ISSN 0004-8461. Disponible em: <<Go to ISI>://WOS:000254281900007 >.
- KAWAMURA, N. et al. Anti-neurofascin antibody in patients with combined central and peripheral demyelination. **Neurology**, 2013. ISSN 0028-3878.
- KIM, S. et al. Subacute Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy Combined with Optic Neuritis. **Korean Journal of Clinical Neurophysiology**, v. 15, n. 1, p. 13-18, 2013. ISSN 1229-6414.
- KOEHLER, M. J. et al. In vivo measurement of the human epidermal thickness in different localizations by multiphoton laser tomography. **Skin Research and Technology**, v. 16, n. 3, p. 259-264, 2010. ISSN 1600-0846.
- KOMORI, T. et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy associated with central nervous system involvement--as compared to multiple sclerosis]. **Rinshō shinkeigaku= Clinical neurology**, v. 30, n. 9, p. 939, 1990. ISSN 0009-918X.

- KOPRDOVA, I. et al. Chronic inflammatory (dysimmune) demyelination polyneuropathy. **Ceska a Slovenska Neurologie a Neurochirurgie**, v. 61, n. 6, p. 331-336, 1998. ISSN 1210-7859. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000077741100008 >.
- KUBICKI, M. et al. DTI and MTR abnormalities in schizophrenia: analysis of white matter integrity. **Neuroimage**, v. 26, n. 4, p. 1109-1118, 2005. ISSN 1053-8119.
- KUWABARA, S. et al. Magnetic resonance imaging at the demyelinating foci in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Neurology**, v. 48, n. 4, p. 874-877, Apr 1997. ISSN 0028-3878. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1997WU32700015 >.
- LAURA, M. et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI study of brain and spinal cord. **Neurology**, v. 64, n. 5, p. 914-916, Mar 2005. ISSN 0028-3878. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000227470000033 >.
- LEWIS, R. A. Neuropathies associated with conduction block. **Current opinion in neurology**, v. 20, n. 5, p. 525-530, 2007. ISSN 1350-7540.
- MATHEY, E. K.; POLLARD, J. D. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of the neurological sciences**, 2012. ISSN 0022-510X.
- MCDONALD, A. J. Neuronal organization of the lateral and basolateral amygdaloid nuclei in the rat. **Journal of Comparative Neurology**, v. 222, n. 4, p. 589-606, 1984. ISSN 1096-9861.
- MENDELL, J. et al. Evidence for central nervous system demyelination in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **Neurology**, v. 37, n. 8, p. 1291-1291, 1987. ISSN 0028-3878.
- MERKIES, I. et al. Health-related quality-of-life improvements in CIDP with immune globulin IV 10% The ICE Study. **Neurology**, v. 72, n. 15, p. 1337-1344, 2009. ISSN 0028-3878.
- MERLINI, L. et al. MRI neurography and diffusion tensor imaging of a sciatic perineuroma in a child. **Pediatric radiology**, v. 38, n. 9, p. 1009-1012, 2008. ISSN 0301-0449.
- MIZUNO, K. et al. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy with diffuse and massive peripheral nerve hypertrophy: Distinctive clinical and

- magnetic resonance imaging features. **Muscle & Nerve**, v. 21, n. 6, p. 805-808, Jun 1998. ISSN 0148-639X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000073405100016 >.
- NEVO, Y.; TOPALOĞLU, H. 88th ENMC international workshop: childhood chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (including revised diagnostic criteria), Naarden, The Netherlands, December 8–10, 2000. **Neuromuscular Disorders**, v. 12, n. 2, p. 195-200, 2002. ISSN 0960-8966.
- NOTTURNO, F. et al. Susceptibility to chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy is associated to polymorphic GA repeat in the SH2D2A gene. **Journal of neuroimmunology**, v. 197, n. 2, p. 124-127, 2008. ISSN 0165-5728.
- OGUZ, B. et al. Diffuse spinal and intercostal nerve involvement in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: MRI findings. **European Radiology**, v. 13, p. L230-L234, Dec 2003. ISSN 0938-7994. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000187789400035 >.
- OHTAKE, T. et al. CNS involvement in Japanese patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **Acta neurologica scandinavica**, v. 81, n. 2, p. 108-112, 1990. ISSN 1600-0404.
- ORMEROD, I. et al. Involvement of the central nervous system in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a clinical, electrophysiological and magnetic resonance imaging study. **Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry**, v. 53, n. 9, p. 789-793, 1990. ISSN 1468-330X.
- OTTO, F. et al. A 69-YEAR-OLD MAN WITH LEFT HEMISPHERIC NECROTIZING MASS LESION. **Brain Pathology**, v. 19, n. 3, p. 541-544, Jul 2009. ISSN 1015-6305. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000266921700024 >.
- PAKALNIS, A. et al. Evoked potentials in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Archives of neurology**, v. 45, n. 9, p. 1014, 1988.
- PFISTER, S.; KOEHLER, A.; HELLWEG, S. Assessing the environmental impacts of freshwater consumption in LCA. **Environmental Science & Technology**, v. 43, n. 11, p. 4098-4104, 2009. ISSN 0013-936X.

- PINEDA, A. et al. The role of evoked potentials in detecting subclinical CNS involvement in CIDP. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 238, p. S274-S274, Nov 2005. ISSN 0022-510X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000235088002305 >.
- PINEDA, A. A. M. et al. A distinct subgroup of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with CNS demyelination and a favorable response to immunotherapy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 255, n. 1-2, p. 1-6, Apr 2007. ISSN 0022-510X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000245849000001 >.
- POU-SERRADELL, A. et al. Complete reversible acute, bilateral and symmetrical CNS lesions coexisting with a CIDP relapse associated with ophthalmoplegia but without anti-GQ1b antibodies. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 199, p. S115-S116, Jul 2002. ISSN 0022-510X. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000180247400514 >.
- QUAN, D.; KLEINSCHMIDT-DEMASTERS, B. K. A 71-year-old male with 4 decades of symptoms referable to both central and peripheral nervous system - Diagnosis - Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) with onion bulb formation in hypertrophic nerves and co-existent multiple sclerosis (MS). **Brain Pathology**, v. 15, n. 4, p. 369+, Oct 2005. ISSN 1015-6305. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000233512700013 >.
- REZANIA, K.; ARNASON, B. G.; SOLIVEN, B. Patterns and significance of concomitant central and peripheral inflammatory demyelination. **Neurological Research**, v. 28, n. 3, p. 326-333, Apr 2006. ISSN 0161-6412. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000237223500017 >.
- RICHEZ, C. et al. Neuropathy resembling CIDP in patients receiving tumor necrosis factor- α blockers. **Neurology**, v. 64, n. 8, p. 1468-1470, 2005. ISSN 0028-3878.
- RODRIGUEZ-CASERO, M. et al. Childhood chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with central nervous system demyelination resembling multiple sclerosis. **Neuromuscular Disorders**, v. 13, n. 2, p. 158-161, 2003. ISSN 0960-8966.
- ROTTA, F. T. et al. The spectrum of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 173, n. 2, p. 129-139,

Feb 2000. ISSN 0022-510X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000085726300009 >.

RUECKERT, D. et al. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. **Medical Imaging, IEEE Transactions on**, v. 18, n. 8, p. 712-721, 1999. ISSN 0278-0062.

SAID, G. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of neurology**, v. 249, n. 3, p. 245-253, 2002. ISSN 0340-5354.

SANDER, H. W.; LATOV, N. Research criteria for defining patients with CIDP. **Neurology**, v. 60, n. 8 suppl 3, p. S8-S15, 2003. ISSN 0028-3878.

SCHADY, W. et al. Massive nerve root enlargement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry**, v. 61, n. 6, p. 636-640, Dec 1996. ISSN 0022-3050. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1996VY19300020 >.

SILVER, M.; MONTANA, G.; NICHOLS, T. E. False positives in neuroimaging genetics using voxel-based morphometry data. **Neuroimage**, v. 54, n. 2, p. 992-1000, 2011. ISSN 1053-8119.

SMITH, S. M. Fast robust automated brain extraction. **Human brain mapping**, v. 17, n. 3, p. 143-155, 2002. ISSN 1097-0193.

SMITH, S. M. et al. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. **Neuroimage**, v. 31, n. 4, p. 1487-1505, 2006. ISSN 1053-8119.

_____. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. **Neuroimage**, v. 23, p. S208-S219, 2004. ISSN 1053-8119.

STOJKOVIC, T. et al. Visual evoked potentials study in chronic idiopathic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Clinical Neurophysiology**, v. 111, n. 12, p. 2285-2291, Dec 2000. ISSN 1388-2457. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000165777900027 >.

STOLL, G. et al. Magnetic resonance imaging of the peripheral nervous system. **Journal of neurology**, v. 256, n. 7, p. 1043-1051, 2009. ISSN 0340-5354.

SUMITOMO, Y. et al. Brain involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP): An MRI study and report of an autopsy case associated

- with lethal encephalopathy. **Journal of Neuropathology and Experimental Neurology**, v. 60, n. 5, p. 553-553, May 2001. ISSN 0022-3069. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000168786800211 >.
- TAKEDA, M. et al. CNS involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a visual evoked potential study. **J Neurol Neurophysiol**, v. 1, n. 105, p. 2, 2010.
- TANITAME, K. et al. Effect of age on the fractional anisotropy (FA) value of peripheral nerves and clinical significance of the age-corrected FA value for evaluating polyneuropathies. **Neuroradiology**, v. 54, n. 8, p. 815-821, 2012. ISSN 0028-3940.
- TAUB, N.; LEMIC-STOJCEVIC, N.; WOLFE, C. Capture-recapture methods for precise measurement of the incidence and prevalence of stroke. **Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry**, v. 60, n. 6, p. 696, 1996.
- TAYLOR, W.; HUGHES, R. T lymphocyte activation antigens in Guillain-Barré syndrome and chronic idiopathic demyelinating polyradiculoneuropathy. **Journal of neuroimmunology**, v. 24, n. 1, p. 33-39, 1989. ISSN 0165-5728.
- THOMAS, P. et al. Chronic demyelinating peripheral neuropathy associated with multifocal central nervous system demyelination. **Brain**, v. 110, n. 1, p. 53-76, 1987a. ISSN 0006-8950.
- _____. Chronic demyelinating peripheral neuropathy associated with multifocal central nervous system demyelination. **Brain**, v. 110, n. 1, p. 53-76, 1987b. ISSN 0006-8950.
- TOBLER, W. R.; KENNEDY, S. Smooth multidimensional interpolation. **Geographical Analysis**, v. 17, n. 3, p. 251-257, 1985. ISSN 1538-4632.
- UNCINI, A. et al. CNS involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an electrophysiological and MRI study. **Electromyography and clinical neurophysiology**, v. 31, n. 6, p. 365-371, 1991. ISSN 0301-150X.
- VALLEJO, J. M. et al. POEMS syndrome with central and peripheric nervous system demyelination. **Neurologia**, v. 18, n. 8, p. 465-469, Oct 2003. ISSN 0213-4853. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000186605700007 >.

- VEDELER, C.; FARBU, E.; MELLGREN, S. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP). **Acta Neurologica Scandinavica**, v. 127, n. s196, p. 48-51, 2013. ISSN 1600-0404.
- VO, D. T. et al. GADOLINIUM ENHANCEMENT OF MRI SIGNAL IN PATIENTS WITH CHRONIC INFLAMMATORY DEMYELINATING POLYNEUROPATHY (CIDP). **Neurology**, v. 43, n. 4, p. A247-A247, Apr 1993. ISSN 0028-3878. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1993KY35600361 >.
- WADDY, H. et al. Focal cranial nerve involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: clinical and MRI evidence of peripheral and central lesions. **Journal of neurology**, v. 236, n. 7, p. 400-405, 1989. ISSN 0340-5354.
- WAKAI, S. et al. CHILDHOOD MULTIPLE-SCLEROSIS - MR-IMAGES AND CLINICAL VARIATIONS IN 4 JAPANESE CASES. **Brain & Development**, v. 16, n. 1, p. 52-56, Jan 1994. ISSN 0387-7604. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:A1994ND48000008 >.
- WHITESELL, J. Inflammatory neuropathies. *Seminars in neurology*, 2010. p.356.
- WOKKE, J.; VAN DEN BERG, L.; VAN SCHAIK, J. Sixth nerve palsy from a CNS lesion in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. **Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry**, v. 60, n. 6, p. 695, 1996.
- WORSLEY, K. et al. Detecting changes in nonisotropic images. **Human brain mapping**, v. 8, n. 2-3, p. 98-101, 1999. ISSN 1065-9471.
- YOON, M.-S.; CHAN, A.; GOLD, R. Standard and escalating treatment of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. **Therapeutic advances in neurological disorders**, v. 4, n. 3, p. 193-200, 2011. ISSN 1756-2856.

A. Anexos

A.1. Aprovação do CEP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica mediante o processamento de Imagens por Tensor de Difusão em Ressonância Magnética Nuclear.

Pesquisador: Samuel Sullivan Carmo

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 09472513.3.0000.5440

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 375.410

Data da Relatoria: 06/08/2013

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto muito bem circunstanciado e atendendo aos fundamentos éticos e científicos pertinentes de acordo com a Resolução CNS nº 466/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos obrigatórios foram apresentados.

Recomendações:

Não há novas recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto de pesquisa, assim como o TCLE 2 Versão 03 para Controles 2 03/08/2013 e o TCLE 2 Versão 03 para Pacientes 2 03/08/2013 podem ser considerados aprovados.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: CAMPUS UNIVERSITÁRIO

Bairro: MONTE ALEGRE

CEP: 14.048-900

UF: SP

Município: RIBEIRAO PRETO

Telefone: (16)3602-2228

Fax: (16)3633-1144

E-mail: cep@hcrp.usp.br

A.2. Levantamento médico da casuística (pacientes do estudo)

Obs. Levantamento atualizado cerca de um ano após a realização dos exames do estudo.

Paciente 01; masculino, 20 anos, estudante, procedente Sertãozinho. Início dos sintomas aos 12 anos, com queixa de fraqueza e parestesia em MMII e mãos, com quedas. Comorbidades: Epilepsia Benigna da Infância, fez uso de Ácido Valpróico e Fenobabital. Iniciou uso de Imunoglobulina em setembro de 2006, de novembro de 2006 à fevereiro de 2007 houve falta IgIV – pulso com corticóide – pouca resposta, desde julho de 2007 recebe pulso mensal de IgIV com boa resposta

Paciente 02; feminino, 31 anos, secretária, procedente Brodowski. Caso Novo em 2009. Início dos sintomas aos 24 anos, com dificuldade para caminhar longas distâncias, subir escadas e abrir portas. Após um ano, teve queixa sensitiva associada. Comorbidades: Diabetes tipo 1 desde os 11 anos de idade, nefropatia diabética, retinopatia diabética, descolamento de retina, Polineuropatia diabética associada. Uso IgIV de março a novembro 2009; Desde 2011 com bom controle glicêmico e estabilidade da doença. Segue em tratamento da dor neuropática

Paciente 03; feminino, 50 anos, copeira. Caso Novo em 2012. Início dos sintomas aos 47 anos com dormência e parestesias em pés, face e mãos. Evolução ascendente. Comorbidades: Hipotireoidismo, HAS, síndrome túnel carpo E operado em 2012, Eletroforese de proteína com pico monoclonal de gamaglobulinas, porém biópsia de medula e mielograma sem neoplasia, com Imunofenotipagem com padrão policlonal. Uso de corticoesteróide (pulso) de junho 2012 a dezembro 2013. Iniciou plasmaférese em janeiro 2014 com nova sessão atual

Paciente 04; masculino, 51 anos. Início dos sintomas aos 39 anos com queixa de perda de força em mãos e pés, parestesia em mãos, desequilíbrio e quedas. Comorbidades: Tabagista, DPOC em uso BIPAP, Diabetes tipo II. História familiar semelhante com duas irmãs acometidas. Iniciou seguimento no ANGE com DNA para CMT 1 A positivo. Durante a evolução aventada a hipótese de PIDC sobreposto. Realizou pulsoterapia com corticoide de novembro de 2012 a junho de 2013, sem melhora e com ENMG mantida. Suspenso pulso desde então.

Paciente 05; masculino, 43 anos, pastor, natural de Mogi das Cruzes. Início dos sintomas aos 42 anos com parestesia e hipoestesia ascendente em MIE assimétrica, com evolução para mão E. Sem comorbidades. ENMG – compatível com PIDC com presença de bloqueios de condução. Uso corticoide (pulso) desde Maio/13 com melhora dos parâmetros

Paciente 06; feminino, 65 anos, procedente Poços de Caldas. Início dos sintomas aos 51 anos com surgimento de parestesias em mãos e acometimento posterior de MMII. Comorbidades: Ex TBG / Histerectomia prévia / HAS / Glaucoma. Fez uso de Decadron EV e VO (dose ignorada) em 2000 sem alteração do quadro. Iniciou uso de IgIV de Maio 2000 a out/2000. Início pulso corticoide: Nov/2001 a Set/2002 - Fev/2006 a 2007 - Nov / 2008 a Jun/2009 - Mar/2010 a Out/2010 - Out/2012 a Abr/2014. Aguarda nova ENMG e reavaliação clínica

Paciente 07; masculino, 62 anos, pedreiro, procedente Pitangueiras. Início dos sintomas aos 59 anos, com quadro de déficit de força nos quatro membros e parestesias em MMII e MMSS. Comorbidades: HAS/ ETL/ Insuficiência cardíaca / TBG / Reposição vitamina B12 prévia. Iniciou uso de corticosteróide (pulso) de outubro de 2011 a junho de 2012. Segue estável desde então.

Paciente 08; masculino, 58 anos. Início dos sintomas aos 49 anos com dificuldade para deambular, subir e descer escadas, levantar da cadeira. Queixa de parestesia associada. Comorbidades: Hipotireoidismo, Dislipidemia, DM tipo II. Screening CMT - Normal. Ressonância da coluna lombossacra – imagem sugestiva de processo expansivo com disseminação líquórica, porém biópsia da raiz nervosa com infiltrado inflamatório leve e focal. Pulso IgIV de janeiro a novembro de 2011 e de abril de 2013 até o momento.

Paciente 09; masculino, 48 anos. Início dos sintomas aos 46 anos com queixa de dor e hipoestesia em MMII. Comorbidades: Ex TBG/ ETL social / Gamopatia monoclonal de significado indeterminado. Uso corticóide (pulso) de Dez/2011 até Out/2013. ENMG Set/2013 com piora dos parâmetros. Plasmaférese em Nov/2013. Pulso IgIV de novembro de 2013 a maio de 2014.

Paciente 10; feminino, 61 anos. Início dos sintomas aos 52 anos, com perda progressiva de força em MMII e MMSS. Comorbidades: Tabagismo / Pico monoclonal de IgM, com biópsia de medula óssea e mielograma negativos para neoplasia. Plasmaférese em 2006 seguido de

pulso de corticóide e ciclofosfamida de Dez/2006 a Abril/2007. Desde 2007 segue em pulso de IgIV mensal.

Paciente 11; feminino, natural Jaboticabal, óbito sem data disponível no prontuário. Início dos sintomas aos 63 anos, com parestesias simétricas em MMII e MMSS. Comorbidades: DM insulínica, Síndrome Parkinsoniana (sem confirmação para Parkinson), retinopatia diabética. Pulso com imunoglobulina de Julho de 2012 a Agosto de 2013. Última evolução da paciente em Agosto de 2014 – não consta no prontuário *causa mortis*.

B. Apêndices

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Departamento de Neurociências e Ciências do Comportamento
Av. Bandeirantes, 3900. Monte Alegre. Ribeirão Preto SP

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)
Versão 03 para Pacientes

Eu, [REDAZIDA],
pesquisador responsável pelo estudo cujo título do projeto é "Características do envolvimento do Sistema Nervoso Central na Polirradiculoneuropatia Inflamatória Desmielinizante Crônica mediante o processamento de Imagens por Tensor de Difusão em Ressonância Magnética Nuclear" e que tem como participantes os também pesquisadores, [REDAZIDA]
[REDAZIDA]
[REDAZIDA] e estou a convidar V.Sa. para participar de forma voluntária desta pesquisa científica conosco.

Justifico que esta pesquisa poderá ser usada no futuro para melhorar o tratamento de pacientes com polineuropatia inflamatória desmielinizante crônica (PIDC), a fim de promover-lhes mais qualidade de vida. O objetivo desta pesquisa é entender melhor o que acontece no cérebro dos pacientes com PIDC.

Como procedimento, pedirei sua participação num único exame ressonância magnética nuclear de cabeça, sem injeções e com duração menor que 30 minutos. Este exame pode ser ruidoso (mas não se preocupe, imagine uma "grande impressora matricial imprimindo imagens internas da cabeça" e ela não emite radiação nociva como raios-X ou outra). Manter-se imóvel na maca dentro do "túnel do aparelho" pode ser desconfortável, mas caso haja algum desconforto significativo basta sinalizar ao operador que o exame será interrompido, podendo ser retomado ou cancelado. Qualquer outra coisa que V.Sa. queira saber sobre este exame, pode me perguntar antes e/ou durante a pesquisa.

Se V.Sa. tiver algum implante ou prótese, ou tiver sido submetido a alguma cirurgia ou ainda sofrido algum acidente com estilhaços, por favor, informe isto a

mim, e repita seu relato na entrevista prévia do exame, para evitar riscos de possíveis incompatibilidades de materiais não biológicos com o campo magnético gerado pelo aparelho usado no exame;

Espero que a realização desta pesquisa possa trazer benefícios ao tratamento da PIDC no futuro, e se algo importante for encontrado no seu exame um laudo radiológico será feito, tão logo possível, informando seu médico.

Como forma de acompanhamento e assistência a esta pesquisa, V.Sa. poderá procurar pelos responsáveis (nomes e telefones e e-mails já informados) ou o Comitê de Ética em Pesquisa pelo telefone 16 3602-2228. Esclareço que V.Sa. tem direito à garantia de esclarecimentos antes e durante a pesquisa; V.Sa. tem ainda o direito à garantia de sigilo, estando assegurada a sua privacidade quanto aos dados confidenciais envolvidos nesta pesquisa. E tem a liberdade para se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem pena alguma e sem prejuízo ao seu cuidado, caso V.Sa. esteja usando ou venha a solicitar por qualquer Serviço de Saúde.

Se V.Sa. precisar de ressarcimento de despesas decorrentes da participação na pesquisa (p.ex.: transporte e alimentação) basta solicitar-me o valor total para que eu possa providenciá-lo e, se puder, traga os comprovantes no dia.

Lembro que como forma de indenização, V.Sa. tem direito a indenização conforme as leis vigentes no país, caso ocorra algum dano decorrente da sua participação nesta pesquisa.

Eu sou, [REDACTED] e, nesta data, firmo este Termo como pesquisador responsável [Assinatura: _____ / / _____], e caso V.Sa. tenha qualquer dúvida pode me perguntar agora ou durante a pesquisa, por meio dos contatos já anteriormente informados neste.

Estando tudo devidamente lido e esclarecido, e V.Sa. consentindo livremente em aceitar este Termo, por favor, assine no campo abaixo após sua correta identificação e data de hoje [Nome _____], [Data ____ / ____ / ____] e [Assinatura: _____].
Obrigado por aceitar este convite de participação voluntária.

B.2. Manuscrito para Publicação

CNS involvement in CIDP: a qMRI study

Samuel Sullivan Carmo*

Co-authors **

(*) M.P. M.Sc. Ph.D.

(**) Assistant Professors and Full Professors

Department of Neurosciences and Behavioral Sciences
Ribeirão Preto Medical School

Department of Physics
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto

Centro de Ciências das Imagens e Física Médica
Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina de Ribeirão Preto

University of São Paulo
Ribeirão Preto, Brazil

Corresponding author:

Lab address:

E-mail:

Phone:

Disclosure: The authors report no conflicts of interest

Abstract

Introduction: Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP) is a severe disease fundamentally characterized by dysfunction of the Peripheral Nervous System and affects greatly the quality of life of patients. The Central Nervous System (CNS) involvement in CIDP has not been described using recent quantitative neuroimaging techniques. **Methods:** We evaluated 11 patients with CIDP, all treated and without clinical signs of central alterations and 11 controls matched for gender and age group of 19 to 69 years. Magnetic Resonance Imaging were performed on a 3T scanner using different imaging techniques; structural 3D T1-weighted, fluid-attenuated inversion recovery, relaxometry with 5 echoes pulse sequence for T2 maps, magnetization transfer weighted and diffusion tensor imaging. The images were processed on different tools and were obtained results for the studies of diffusivity, volumetry, morphometry, tractometry, brain connectivity, and radiological findings of patients. Different statistical group analyses were performed in the quantitative results: 1) Parametric test for volumetry, tractometry and brain connectivity; 2) Parametric mapping for voxel morphometry; 3) Tract-based spatial statistics (TBSS) for diffusion coefficients. **Results:** Changes were detected in all comparisons. In the patients, our main findings are: generalized loss brain volume more pronounced in periventricular regions associated with prominent ventricles, increased simultaneously perpendiculars and parallel diffusivity in the major tracts of the TBSS analyze, white matter density loss in the periventricular area, some bilateral trigeminal thickening, and general reduction of the brain connectivity. **Conclusion:** The CIDP affects the global brain and represents a demyelination in the CNS.

Keywords: Chronic Inflammatory Demyelinating Polyneuropathy (CIDP); Central Nervous System (CNS); Magnetic Resonance Imaging (MRI); Diffusion Tensor Imaging (DTI); connectivity; Tract-based Spatial Statistic (TBSS).

1. Introduction

Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy (CIDP) is one of several chronic acquired demyelinating neuropathies that are considered to be autoimmune diseases. The prevalence of these illnesses may be underestimated because of limitations in clinical, serological, and electrophysiological diagnostic criteria. (Sander and Latov, 2003)

A pioneer study reported that many CIDP patients have concurrent central nervous system (CNS) demyelination. (Mendell et al., 1987) Another study suggested that typical Multiple Sclerosis (MS) lesions on magnetic resonance imaging (MRI) are uncommon in CIDP. (Feasby et al., 1990) Taken together, these observations support the existence of a central-peripheral inflammatory demyelinating syndrome. Whether this combined demyelinating syndrome lies on a spectrum between MS and CIDP or is a separate pathogenic entity will require further investigation. (Barišić et al., 2006; Feasby et al., 1990; Fee and Fleming, 2003; Mendell et al., 1987; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Takeda et al., 2010; Uncini et al., 1991; Waddy et al., 1989)

In the last 25 years, several studies have reported the involvement of the CNS in the CIDP. (Fee and Fleming, 2003; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Takeda et al., 2010; Uncini et al., 1991) The reports have used different populations - Asians (Ohtake et al., 1990; Pineda et al., 2007), north-Americans (Fee and Fleming, 2003; Takeda et al., 2010) and Europeans people (Barišić et al., 2006; Ormerod et al., 1990; Uncini et al., 1991; Waddy et al., 1989) - and evaluation techniques - Clinical (Barišić et al., 2006; Fee and Fleming, 2003; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Waddy et al., 1989), Electrophysiological (Barišić et al., 2006; Komori et al., 1990; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Takeda et al., 2010; Waddy et al., 1989), MRI (Barišić et al., 2006; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Uncini et al., 1991; Waddy et al., 1989) and Evoked potentials (Barišić et al., 2006; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Waddy et

al., 1989). In these reports not been used Brazilian or South American population evaluated with quantitative MRI (qMRI) techniques.

In a study, thirteen consecutive Japanese patients with CIDP were studied by MRI, evoked potentials, and electroencephalography (EEG). In the cases without clinical CNS signs showed abnormal EEG findings. However, the subclinical CNS abnormalities found in the Japanese patients were considered to be less frequent than in cases from Western countries reported previously.(Ohtake et al., 1990)

Thus, to explore subclinical CNS involvement in CIDP, other study were recorded somatosensory and motor evoked potentials using transcranial magnetic stimulation (TMS), to measure central sensory and motor conduction time (CSCT & CMCT) and examined brain and spinal cord MRI in patients with probable CIDP based on the American Academy of Neurology AIDS Task Force criteria. The CSCT and CMCT by TMS results suggest that subclinical CNS involvement in CIDP is not uncommon in Japanese patients and that CIDP with subclinical CNS involvement is more demyelinating thus responsive to immunotherapy while those without have more axonal damage and less responsive to immunotherapy. (Pineda et al., 2007)

Other findings too suggest the existence of a combined central and peripheral demyelinating syndrome and emphasize the possibility of a common pathogenetic mechanism for both in an electrophysiological and MRI study with eight consecutive patients about the CNS involvement in CIDP. (Uncini et al., 1991)

CIDP is a condition affecting the peripheral nervous system (PNS); however, it has been associated with CNS involvement. The natural history and response to treatment of these CNS lesions are unknown, but, conform a case report: intravenous immunoglobulin therapy is a reasonable treatment option when symptomatic, CIDP-associated CNS lesions are present. (Fee and Fleming, 2003)

An important study concluded that subclinical evidence of CNS involvement is common, at least in patients with CIDP in the United Kingdom, but that clinically evident signs of CNS disease are infrequent and the association of a multiple sclerosis-like syndrome with CIDP is rare. (Ormerod et al., 1990)

A common finding in these reports is the subclinical CNS involvement in CIDP patients though the subclinical CNS abnormalities found in the Japanese patients were considered to be less frequent than in cases from Western countries. (Barišić et al., 2006; Feasby et al., 1990; Fee and Fleming, 2003; Mendell et al., 1987; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Takeda et al., 2010; Uncini et al., 1991; Waddy et al., 1989)

A more recent study suggests the existence of combined central and peripheral demyelinating lesions in CIDP and emphasize the possibility of a common pathogenic mechanism for both lesions. (Takeda et al., 2010)

The MRI have been considered an important tool in all these previous reports, but it have been used as a qualitative tools. (Barišić et al., 2006; Feasby et al., 1990; Fee and Fleming, 2003; Mendell et al., 1987; Ohtake et al., 1990; Ormerod et al., 1990; Pineda et al., 2007; Takeda et al., 2010; Uncini et al., 1991; Waddy et al., 1989)

CIDP progressive course is rare in children. In a report case of a boy with progressive generalized muscle weakness and areflexia since the age of two, developed after viral infection. Brain magnetic resonance imaging showed cortical atrophy, hyperintensities of the white matter and gray matter hypointensities. Improvement occurred on intravenous immune globulins and methylprednisolone treatment. Demyelination might develop in CNS and PNS associated with inflammatory myopathy in patients with progressive course of CIDP. (Barišić et al., 2006)

There a study in which five cases of CIDP are described with cranial nerve involvement accompanied a more generalized neuropathy. Clinical, electrophysiological, radiological and

nerve biopsy findings are presented. Cranial nerve lesions may be related to lesions of the PNS or CNS. In cases of early onset, the occurrence of focal cranial nerve lesions may serve to distinguish chronic inflammation from inherited demyelinating polyneuropathy. (Waddy et al., 1989)

In the last fifteen years, several MRI quantitative techniques have evolved and today are commons in the clinical practice. Two important quantitative MR approach used to evaluated the demyelination process are diffusion tensor imaging (DTI) and magnetization transfer imaging (MTI).

The DTI have been used in the evaluation of several neurological disease and we think the DTI may be a scientific tool important for a study of CNS involvement in CIDP by brain connectivity analysis specially because a study assessed *corpus callosum* white-matter connectivity with fractional anisotropy (FA) index from DTI in two monozygotic twins (male sex; age 20) discordant for the diagnosis of Tourette syndrome (TS). Findings of reduced inter-hemispherical white-matter connectivity in the affected twin support the hypothesis that plastic remodeling in the *corpus callosum* possibly represents an adaptation mechanism in TS (a chronic neurodevelopment mental disorder characterized by the presence of multiple motor and phonic tics). (Cavanna et al., 2010)

Additionally, in MTI, have an study about DTI and magnetization transfer ratio (MTR) abnormalities in schizophrenia, the diffusion information was used to normalize registered maps of FA and MTR to a specific template, using the multi-channel daemon algorithm, designed specifically to deal with multidirectional tensor information and the findings suggest that, while some of the diffusion abnormalities in schizophrenia are likely due to abnormal coherence, or organization of the fiber tracts, some of these abnormalities may, in fact, be attributed to or coincide with myelin/axonal disruption, proving the sensitivity of the MTI for this application. (Kubicki et al., 2005)

So, we understand the CNS involvement in CIDP may be characterized by conjunct application of several quantitative MRI process: 1) the brain volumetry by surfaces method of the FreeSurfer (FS); (Dale et al., 1999; Fischl, 2012; Fischl and Dale, 2000; Fischl et al., 2002; Fischl et al., 1999; Fischl et al., 2004) 2) the brain morphometry by voxel-based morphometry (VBM) of the statistical parametric mapping (SPM); (Ashburner and Friston, 1999, 2001; Ashburner et al., 1998) 3) the brain diffusivity maps by tract-based spatial statistic (TBSS) of the FMRIB [functional magnetic resonance imaging of brain] Software Library (FSL); (Andersson et al., 2007a; Andersson et al., 2007b; Rueckert et al., 1999; Smith, 2002; Smith et al., 2006; Smith et al., 2004) 4) and the brain connectivity by anatomical connection strength (ACS) of the mapping anatomical brain connectivity (MABC). (Alemán-Gómez et al., 2006; Iturria-Medina, 2013; Iturria-Medina et al., 2007; Iturria-Medina et al., 2008) The goal is to characterize the CNS involvement in CIDP patients without clinical signals of CNS disorders by the qMRI techniques.

In this study we have evaluated 11 CIDP patients using several quantitative MRI techniques and compared with a control group. We found differences in generalized brain volume, simultaneously perpendiculars and parallel diffusivity, white matter density in the periventricular areas, and in the general brain connectivity. Our findings confirm the damages in the CNS in CIDP patients.

2. Material and methods

We evaluated 11 patients with CIDP. All patients are treated and without clinical signs of central neurological disorders also. We evaluated 11 health subjects matched with the patients for gender and age group. The age of the subjects (patients and controls) at the time of study was 19-69 years. [fig. 01].

fig.1 - Some demographic data of our subject groups

Brain MRI was performed using a 3T scanner (*Achieva*, Philips) and a 8-channel head coil. Several images were obtained using different pulse sequences: Structural image from a 3D T1-weighted Turbo-field-echo (3D-T1) (TI / Flip angle / TE / T Echo Spacing / TR / Resolution = 900ms / 8° / 3.2ms / 7.0ms / 2500ms / 1x1x1mm³), Relaxometry-maps from a 2D multi-echo spin-echo (Echoes / TR / first TE / Echo spacing / Slices / Resolution = 5 / 3000ms / 20ms / 20ms / 48/1x1x3mm³), qualitative clinical images from a 3D TSE fluid attenuated inversion recovery (FLAIR-VISTA) (TI / TE / TR / Refocusing angle / Slices /

Resolution = 2400ms / 331ms / 5000ms / 50° / 180 / 1x1x1mm³), magnetization transfer map from two 3D gradient echo (TE / TR / Flip angle / MT pulse / Resolution = 3.6ms / 7.3ms / 8° / on resonance / 1x1x3mm³) and DTI using a 2D diffusion-weighted spin echo (TE / TR / Max-b-value / Gradient-Directions / Slices / Resolution = 65ms / 8700ms / 1000s·mm⁻² / 32 / 72 / 2x2x2mm³). Additional structural images, DTI and MTI were used to make a second control group, called as random control group. To avoid false-positive due to the fact that eventually the selected control group having a head with medium size bigger, a test group with 11 others controls (random control group: 11 Brazilian healthy subjects with mean age 37 years in exam date; 7 female, 4 male, age group of 24 to 75 years) was processed and declined this possibility.

The structural images were processed in two software: individual brains in FreeSurfer (FS) (Dale et al., 1999; Fischl, 2012; Fischl and Dale, 2000; Fischl et al., 2002; Fischl et al., 1999; Fischl et al., 2004) and group brain analysis in statistical parametric mapping (SPM version 8). (Ashburner and Friston, 1999, 2001; Ashburner et al., 1998) In the FS were segmented 49 structures using *Destrieux atlas FS-4.5 aparc.a2009s*. We calculated the normalized volumes of each structure and each subject using the ratio between absolute structure volume and the individual intracranial volume. The comparisons isolated for each segmented structure by FS were performed between the CIDP group and the matched control group by a matched-pair t test. Additionally the comparisons for whole brain, hemispheres and absolute brain volumetry were performed between the CIDP group and random control group by a two-sample t test. The conventional group analysis in the SPM was based on VBM applied to white and gray matter densities considering both groups and using the age and sex as confounding factors. (Ashburner and Friston, 1999, 2001; Ashburner et al., 1998)

Due to our interest in white matter alterations we used a tract-based spatial statistics (TBSS) implemented by the FMRIB Software Library (FSL) to evaluate changes in several maps:

Fractional Anisotropy (FA), Mean Diffusivity (MD), Eigenvalues from DTI (L1, L2, L3), Magnetization Transfer Ratio (MTR) and Transverse relaxation time (T2). (Andersson et al., 2007a; Andersson et al., 2007b; Rueckert et al., 1999; Smith, 2002; Smith et al., 2006; Smith et al., 2004)

The brain connectivity analysis was performed using a MATLAB toolbox implemented by other authors. (Alemán-Gómez et al., 2006; Iturria-Medina, 2013; Iturria-Medina et al., 2007; Iturria-Medina et al., 2008) Three anatomical connectivity measures were considered: the anatomical connection strength (ACS), anatomical connection density (ACD) and anatomical connection probability (ACP) for mapped structures 116 atlas by mapping anatomical brain connectivity (MABC). (Alemán-Gómez et al., 2006; Iturria-Medina, 2013; Iturria-Medina et al., 2007; Iturria-Medina et al., 2008) First, 50 brain structures been chosen for when $ACS > 1000$ within the matrices. After, a matched-pair test was applied to compare the "ACD sum by structure", "ACD-matrix", and "size of the biggest connections" between healthy subjects and CIDP patients.

3. Results

The intracranial total volume in CIDP group was statistically lower than in the control group. To prevent others fractionated volumes were all smaller because the CIDP group has lower intracranial total volume; we compared the percentage partial volume of each structure (segmented in FS) with respect to the intracranial total volume, and even then the CIDP group showed values statically lower that controls and test group for various structures. [fig. 02]

fig.2 - (A) Absolute volumes (mm³) with statistical differences between patients and controls.

The volumes of the random control group is also showed. The numerical values in the superior part of each bar represent p-values by a 2-sample t test every with peer controls.

fig.2 - (B) Fractional brainstem and cerebellum volumetry. The numerical values in the superior part of each bar represent p-values by a 2-sample t test.

fig.2 - (D) Fractional cerebral volumetry. The numerical values in the superior part of each bar represent p-values by a 2-sample t test.

The results of morphometric study showed that our CIDP patients (Brazilians patients, adult caucasians) have cortical surface area, number of cortical vertexes and cortical thickness decreased in relation the controls. And according with VBM applied by SPM8 with design for t-test two sample matched, the CIDP group has lower density of white matter confirmed in at least one brain region. [fig. 03]

Morphometry - cortical surfaces

fig.3 - (A) Area of cortical surfaces, morphometry

Cortical Surfaces

fig.3 - (B) Cortical surfaces of brain regions, morphometry. The numerical values in the forward part of each bar represent p-values by a 2-sample t test.

fig.3 - (C) Cortical thickness, morphometry. The numerical values in the superior part of each bar represent p-values by a 2-sample t test.

fig.3 - (D) VBM results overlapped in a 3D-T1 image (upper) and gray matter mask (lower), from SPM, considering the white matter density in controls greater than in PIDC patients. The color bar represents the statistical significance of the difference.

The our TBSS study pointed out that the FA controls is not sufficiently greater than the CIDP group considering the correction by exhaustive random permutations between the subjects of groups, but is sufficiently larger to achieve statistical significance corrected by threshold-free cluster enhancement (TFCE). The MD in some regions was higher in the CIDP group, but not because the longitudinal component (L3 parallel to the diffusivity tract), but because the transverses component L1, L2 (radials diffusivity) simultaneously associated with L3 (oblique diffusivity). No other map (MTR, T2-RLX) gave significant differences. To rule out the possibility that this result was a false-positive from hypersensitivity of the method, we compared a test group (random control group) with the same control group showing that none significant result were found for comparisons with the same maps. [fig. 04]

fig.4 - (A) TFCE without random permutations; $FA(c) > FA(p)$ in one region

59% left cerebral white matter at side 19% left *Pallidum*

by Harvard-Oxford Subcortical Structural Atlas

OBS, result no confirmed with random permutations exhaustive correction.

fig.4 - (B) How to explain: $MD(p) > MD(c)$,

fig.4 - (C) $L1(p) > L1(c)$,

fig.4 - (D) $L2(p) > L2(c)$ and

fig.4 - (E) $L3(p) > L3(c)$ on same regions

The results in brain connectivity study by compared the matrices of connectivity between structures (116 Atlas) form anatomical coefficients (ACD, ACS and ACP) showed that many brain connections of the CIDP patients pointed statistically lower values than normal controls. [fig. 05]

First: qualitatively we note that anisotropic diffusivity of healthy subjects was more homogeneous than the of CIDP patients. The more intense colors and the well-defined areas can be seen in the medial slice of the *corpus callosum* (cc) by group superposition. Second: We note that the ACD-sum for each brain structure was statistically lower in the CIDP patients on 24 of 50 selected structures. And the average total was also significantly lower. Third: We note that the connectivity matrices of healthy subjects have a higher number of elements than patients with CIDP. Also, the average number of elements of the 10 largest tracts of healthy volunteers was significantly higher than the average patient with CIDP.

Finally, performing a matched-pair t test for each non-mirrored element of the matrix of ACD; we noticed that 74 connections in healthy subjects had greater ACD value and only 7 connections had a lower ACD value than patients with CIDP.

fig.5 - (A) Tractometry & Connectivity - Qualitative diffusivity map by DTItool;

Left (controls superposition) & Right (patients superposition); cc slice

fig.5 - (B) Tractometry & Connectivity; ACD-sum by brain structures,

Showed: Controls > Patients with $p < 0.05$ by matched-pair t test.

fig.5 - (C) Connectivity matrices

fig.5 - (D) Elements in 10 largest tracts

fig.5 - (E) ACD-matrix; "gray" (no sig.), "blue" (C>P) and "red" (P>C)

fig.5 - (F) Size of the biggest connections

Note: Identification of connected structures pairs in each connection, in the order as appear in the graph; 82↔86 = Temporal_Sup_R with Temporal_Mid_R; 52↔86 = Occipital_Mid_R with Temporal_Mid_R; 51↔85 = Occipital_Mid_L with Temporal_Mid_L; 49↔51 = Occipital_Sup_L with Occipital_Mid_L; 04↔08 = Frontal_Sup_R with Frontal_Mid_R; 04↔30 = Frontal_Sup_R with Insula_R e; 13↔31 = Frontal_Inf_Tri_L with Cingulum_Ant_L.

4. Discussion

We are inclined for understand that the results of this study characterize the CNS involvement in CIDP as subclinical, i.e., even without a set of clinical signs that point to this involvement, it exists and can be identified with quantitative MRI studies. The main characteristics identified in this study of CNS involvement in CIDP were; 1 - The total and partials intracranial volume are decreased in CIDP group and probably this is associated with the prominence of the ventricles and loss of periventricular white matter. 2 - The morphometry with lower density of white matter in periventricular regions for CIDP group that probably is associated lesions of hyper-signal on FLAIR. 3 - The integrity of white matter tracts is dwindled in CIDP group because they are having greater mean diffusivity (MD) associated with greater transverse diffusivity (higher L2) or oblique diffusivity (higher L2 or L1 with L3 simultaneously) and they aren't having higher FA. 4 - The brain connectivity in the CIDP group was decreased in relation the controls. The ACD, ACS and ACP index showed that the general and specific brain connectivity are reduced in the patients with CIDP.

The absolute volumetric indicated that CIDP patients had a lower overall brain volume than controls, comparing these same matched controls with other controls randomized to test was confirmed with statistical significance that the CIDP group really had lower total intracranial volume than the randomized or matched controls.

Normalizing the overall brain volume and comparing the results of both groups (as if they had brain volumes alike); the percentage of the segmented volumes and brain structures also have significant differences, shown in [fig. 02]. This pointing to an volumetric loss of some regions [brainstem, cerebelar and cerebral white matter, cerebelar cortex and left cerebral cortex] possibly associated with larger ventricles and perhaps periventricular hyper-intensity seen on long TR by T2-FLAIR images of patients. [fig. 06]

fig. 06 - Volumetry; C = controls (match controls) in "blues hues", P = patients (CIDP patients) in "red hues", T = test (random controls)

For morphometry, we consider the fractal geometry that can make the path between two points be of a AB-line segment up on a path of possibly infinite length.

Thus, the number of vertices found at brain from CIDP group was compared with the control group alike that the area of the cortical surfaces resulting from triangulation of these vertices. This influencing the cortical thickness because the segmentations too consider the vertices.[fig. 03]

The results indicate that the number of vertices found in cortical surfaces from brain of the CIDP patients was shorter than that the found in controls. So, regardless of the brain volume, patients have a less ridge cortical surface. They also have lower cortical thickness in some brain regions [*cuneus*, *precuneus* and right *parsorbitalis*, *inferior parietal* and *bilateral occipital*]. These considerations converge to explain the results of controls had higher surface area of cerebral cortex in both hemispheres. [fig. 07]

fig. 07 - Morphometry; AB = segment between the points A and B , d = minimal distance AB ;

k = fractal geometry index

The result of the diffusivity study was obtained by comparing the indices of diffusion maps (FA, MD, L1, L2, L3, B0, MTR and T2-RLX) by TBSS/FLS. These results for the analysis of groups between CIDP and yours matched controls were confirmed when same method pointed negative results for the comparing between the same matched controls and others random controls. [fig. 04]

The results surprised because not confirmed the significant differences in FA. The biggest FA value in the controls not was confirmed after exhaustive random permutations be added with the TFCE correction. Despite, the matched comparison may be the better method and in this situation the permutations may be refuted for keeping the original ranking of matched subjects.

After the FA, the T2-RLX and MTR (non-FA) maps too not pointed significant differences. But a biggest MD value in the controls was confirmed after the exhaustive random permutations added with the TFCE correction. Several ROI with L2 and L3 or L1 and L3 simultaneously elevated and few with L1, L2 and L3 or just L3 elevated.

To explain this, we believe that there are three and not two possible situations. So the third situation concern our results [fig. 08]

- 1) the first situation reveals the condition of isotropy when no anatomical barriers or they are completely broken and the water molecules are free to diffuse equally in any direction;
- 2) The second condition reveals that physical barriers (membranes and sheaths) limit the diffusion of water molecules into a tube. Thus, the longitudinal direction of the pipe (parallel and antiparallel) creates a predominant diffusion. In this situation the FA value is high and the water diffusion can be represented by well slim ellipsoids;
- 3) The third situation occurs when the membrane of the tube (descript in 2nd situation) is broken in some regions but preserved in other.

In this situation, some of the molecules that diffused parallel in the tube (fiber or tract) now have greater freedom in both transverse directions. This creates an "oblique diffusivity" that can be represented as "horizontal or vertical ellipsoids pizza form".

With this hypothesis we explain that the FA value of CIDP patients was not different from normal controls and in the same tracts the MD value was higher.

The combination between two of three components of MD (L1, L2 and L3) that increase concomitantly in the same regions, we call of "oblique diffusivity" because they are partly transverse and parallel to same time.

fig. 08 - Diffusivity situations: B = ball form diffusivity (isotropic); E = ellipsoid form (anisotropic, slim form ellipsoids are ideal for describe integrate tracts); P = pizza form (anisotropic, pizza form ellipsoids are ideal for describe broken tracts); p or t = parallel or transverse diffusivity; v or h = vertical or horizontal.

Note: "h" = ref. on tract; so h = get out of paper plane.

The connectivity study used an Atlas of 116 brain structures by MABC (mapping anatomical brain connectivity) (Alemán-Gómez et al., 2006; Iturria-Medina, 2013; Iturria-Medina et al., 2007; Iturria-Medina et al., 2008). After reduced to 90 exclude the cerebellum. And then reduced to 50 by the set union only of the structures with ACS (anatomical connectivity

strength) with value greater than 1000 for controls and patients. When need we show the name of these structures [Note; Fig. 05 (F)]

The results of end processing from connectivity study were four matrices with an array of anatomical connectivity indices (ACD = anatomical connectivity density) for same 50 brain structures selected on research subjects.

The elements of main diagonal of each matrix should be refuted because it corresponds a connection of a structure with itself. The remaining element must be divided by the main diagonal because the results are mirrored.

Thus, the number of connections $C(n) = (n^2 - n) / 2$ for $n = 50$ results in 1225 connections evaluated for each research subject and those connections 81 are significantly different between CIDP patients and normal controls, with 74 results for minor ACD value in the CIDP patients. [fig. 09] and [fig. 05]

fig. 09 - Connectivity & Tractometry; P = patient group; C = control group; ACD = anatomical connectivity density; $C(n)$ = number of connections not mirrored, n = number of brain structures selected for study.

4.1. Conclusions

The brain anatomical volumetry by FS been statistically reduced in CIDP patients.

The brain anatomical connectivity by ACS, ACD and ACP been reduced in CIDP patients.

The density morphometric of white-matter by SPM/VBM been decreased in CIDP patients.

The brain anisotropic diffusivity by TBSS/FSL in our CIDP patients been statistically different with major longitudinal and transversal diffusivity simultaneously in same regions.

Our findings concern subclinical CNS involvement in CIDP and only may be shown in qMRI.

Acknowledgment

We thank the MD Mônica Nascimento, Rodrigo Pessini and Jaqueline Macarios for their important help. We thank very much all the subjects for agreeing to take part in this study.

This work was supported by CNPq.

Conflict of interest

We declare that we have no conflict of interest.

References

- Alemán-Gómez, Y., Melie-García, L., Valdés-Hernandez, P., 2006. IBASPM: toolbox for automatic parcellation of brain structures. 12th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping.
- Andersson, J.L., Jenkinson, M., Smith, S., 2007a. Non-linear registration, aka Spatial normalisation FMRIB technical report TR07JA2. FMRIB Analysis Group of the University of Oxford.
- Andersson, J.L., Jenkinson, M., Smith, S., Andersson, J., 2007b. Non-linear optimisation. FMRIB technical report TR07JA1. Oxford (UK): FMRIB Centre.
- Ashburner, J., Friston, K.J., 1999. Nonlinear spatial normalization using basis functions. *Human brain mapping* 7, 254-266.
- Ashburner, J., Friston, K.J., 2001. Why voxel-based morphometry should be used. *Neuroimage* 14, 1238-1243.
- Ashburner, J., Hutton, C., Frackowiak, R., Johnsrude, I., Price, C., Friston, K., 1998. Identifying global anatomical differences: deformation-based morphometry. *Human Brain Mapping* 6, 348-357.
- Barišić, N., Horvath, R., Grković, L., Mihelčić, D., Luetić, T., 2006. Progressive chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in a child with central nervous system involvement and myopathy. *Collegium antropologicum* 30, 945-949.

Cavanna, A.E., Stecco, A., Rickards, H., Servo, S., Terazzi, E., Peterson, B., Robertson, M.M., Carriero, A., Monaco, F., 2010. Corpus callosum abnormalities in Tourette syndrome: an MRI-DTI study of monozygotic twins. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 81, 533-535.

Dale, A.M., Fischl, B., Sereno, M.I., 1999. Cortical surface-based analysis: I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* 9, 179-194.

Feasby, T., Hahn, A., Koopman, W., Lee, D., 1990. Central lesions in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy An MRI study. *Neurology* 40, 476-476.

Fee, D.B., Fleming, J.O., 2003. Resolution of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy-associated central nervous system lesions after treatment with intravenous immunoglobulin. *Journal of the Peripheral Nervous System* 8, 155-158.

Fischl, B., 2012. FreeSurfer. *Neuroimage* 62, 774-781.

Fischl, B., Dale, A.M., 2000. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97, 11050-11055.

Fischl, B., Salat, D.H., Busa, E., Albert, M., Dieterich, M., Haselgrove, C., van der Kouwe, A., Killiany, R., Kennedy, D., Klaveness, S., 2002. Whole brain segmentation: automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* 33, 341-355.

Fischl, B., Sereno, M.I., Tootell, R.B., Dale, A.M., 1999. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Human brain mapping* 8, 272-284.

Fischl, B., Van Der Kouwe, A., Destrieux, C., Halgren, E., Ségonne, F., Salat, D.H., Busa, E., Seidman, L.J., Goldstein, J., Kennedy, D., 2004. Automatically parcellating the human cerebral cortex. *Cerebral Cortex* 14, 11-22.

Iturria-Medina, Y., 2013. Caracterización de la conectividad anatómica cerebral a partir de las neuroimágenes de la difusión y la teoría de grafos. Universidad de Ciencias Médicas de la Habana.

Iturria-Medina, Y., Canales-Rodríguez, E., Melie-García, L., Valdes-Hernandez, P., Martínez-Montes, E., Aleman-Gomez, Y., Sánchez-Bornot, J., 2007. Characterizing brain anatomical connections using diffusion weighted MRI and graph theory. *Neuroimage* 36, 645-660.

Iturria-Medina, Y., Sotero, R.C., Canales-Rodríguez, E.J., Alemán-Gómez, Y., Melie-García, L., 2008. Studying the human brain anatomical network via diffusion-weighted MRI and Graph Theory. *Neuroimage* 40, 1064-1076.

Komori, T., Ohtake, T., Miyazaki, Y., Hirose, K., Tanabe, H., 1990. Chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy associated with central nervous system involvement--as compared to multiple sclerosis]. *Rinshō shinkeigaku= Clinical neurology* 30, 939.

Kubicki, M., Park, H., Westin, C., Nestor, P., Mulkern, R., Maier, S., Niznikiewicz, M., Connor, E., Levitt, J., Frumin, M., 2005. DTI and MTR abnormalities in schizophrenia: analysis of white matter integrity. *Neuroimage* 26, 1109-1118.

Mendell, J., Kolkin, S., Kissel, J., Weiss, K., Chakeres, D., Rammohan, K., 1987. Evidence for central nervous system demyelination in chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Neurology* 37, 1291-1291.

Ohtake, T., Komori, T., Hirose, K., Tanabe, H., 1990. CNS involvement in Japanese patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy. *Acta neurologica scandinavica* 81, 108-112.

Ormerod, I., Waddy, H., Kermode, A., Murray, N., Thomas, P., 1990. Involvement of the central nervous system in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a clinical, electrophysiological and magnetic resonance imaging study. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 53, 789-793.

Pineda, A.A.M., Ogata, K., Osoegawa, M., Murai, H., Shigeto, H., Yoshiura, T., Tobimatsu, S., Kira, J., 2007. A distinct subgroup of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy with CNS demyelination and a favorable response to immunotherapy. *Journal of the Neurological Sciences* 255, 1-6.

Rueckert, D., Sonoda, L.I., Hayes, C., Hill, D.L., Leach, M.O., Hawkes, D.J., 1999. Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images. *Medical Imaging, IEEE Transactions on* 18, 712-721.

Sander, H.W., Latov, N., 2003. Research criteria for defining patients with CIDP. *Neurology* 60, S8-S15.

Smith, S.M., 2002. Fast robust automated brain extraction. *Human brain mapping* 17, 143-155.

Smith, S.M., Jenkinson, M., Johansen-Berg, H., Rueckert, D., Nichols, T.E., Mackay, C.E., Watkins, K.E., Ciccarelli, O., Cader, M.Z., Matthews, P.M., 2006. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage* 31, 1487-1505.

Smith, S.M., Jenkinson, M., Woolrich, M.W., Beckmann, C.F., Behrens, T.E., Johansen-Berg, H., Bannister, P.R., De Luca, M., Drobnjak, I., Flitney, D.E., 2004. Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 23, S208-S219.

Takeda, M., Tachibana, H., Tuda, K., Wada, S., Kasama, S., Watanabe, S., Takaoka, T., Kimura, T., Kajiyama, K., Yoshikawa, H., 2010. CNS involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: a visual evoked potential study. *J Neurol Neurophysiol* 1, 2.

Uncini, A., Gallucci, M., Lugesesi, A., Porrini, A., Onofri, M., Gambi, D., 1991. CNS involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: an electrophysiological and MRI study. *Electromyography and clinical neurophysiology* 31, 365-371.

Waddy, H., Misra, V., King, R., Thomas, P., Middleton, L., Ormerod, I., 1989. Focal cranial nerve involvement in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy: clinical and MRI evidence of peripheral and central lesions. *Journal of neurology* 236, 400-405.