Fabiana de Campos Cordeiro Hirata

**Anisotropia fracionada na
substância negra não é um
biomarcador diagnóstico para
doença de Parkinson**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São
Paulo para obtenção do Título de
Doutor em Ciências

Programa de Radiologia
Orientador: Dr. Ellison Fernando
Cardoso

São Paulo
2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Hirata, Fabiana de Campos Cordeiro
Anisotropia fracionada na substância negra não é
um biomarcador diagnóstico para doença de Parkinson /
Fabiana de Campos Cordeiro Hirata. -- São Paulo,
2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Radiologia.
Orientador: Ellison Fernando Cardoso.

Descritores: 1.Doença de Parkinson 2.Tremor
essencial 3.Imagem de tensor de difusão
4.Anisotropia fracionada 5.Imagem por ressonância
magnética 6.Imagem de tensor de difusão 7.Substância
negra 8.Acurácia diagnóstica 9.Sensibilidade e
especificidade

USP/FM/DBD-339/18

Responsável: Eidi Raquel Franco Abdalla - CRB-8/4901

*Dedico a Deus, razão de toda a minha vida, aos meus pais, irmãos
e ao meu noivo, Carlos Augusto.*

Agradecimentos

As pessoas as quais gostaria de expressar minha profunda gratidão estão listadas abaixo em ordem alfabética:

- Profa. Dra. Claudia da Costa Leite, pelo incentivo a pesquisa no Setor de Ressonância Magnética do Hospital das Clinicas da FMUSP, por ser um exemplo de docente e pelo apoio durante toda a minha formação. E também pela disponibilidade de participar em minha banca de qualificação.
- Prof. Dr. Edson Amaro Jr., pelo exemplo de dedicação a pesquisa e docência, pelo apoio e orientação deste trabalho desde o seu início até a sua conclusão e também durante toda a minha formação.
- Dr. Edson Borg Seng-Shu, pelo exemplo de dedicação a pesquisa, pelo apoio e orientação deste trabalho.
- Dr. Egberto Reis Barbosa, pela dedicação a pesquisa e assistência nos auxiliando e orientando nas discussões sobre os aspectos clínicos e diagnóstico da doença de Parkinson.
- Dr. Ellison Fernando Cardoso, minha infinita gratidão pela idéia e criação desse projeto, por seu entusiasmo e orientação no decorrer de toda a pesquisa, sempre com tanta paciência e dedicação; por sua imensa dedicação na publicação do artigo referente à essa pesquisa na *European Radiology*; por ser exemplo de médico, radiologista, matemático, pai e amigo, minha eterna gratidão.
- Dr. Felipe Barjud Pereira do Nascimento, pelo exemplo de dedicação a pesquisa, pelo apoio na coleta de dados, sempre disposto a nos auxiliar.

- Prof. Dr. João Ricardo Sato, matemático e brilhante professor, sempre disposto a tirar nossas dúvidas da área estatística.
- Kallil Taverna Chaim, brilhante físico, por sua dedicação na realização desse projeto, sempre disposto a tirar nossas dúvidas e nos auxiliar.
- Karina Fernandes Dias Correa, brilhante enfermeira, pela organização, responsabilidade, sempre ativamente buscando soluções, organizando e tornando possível a coleta dos dados e realização deste trabalho.
- Liana Guerra, brilhante biomédica, pela sua dedicação e paciência na realização dos exames de Ressonância Magnética.
- Prof. Dr. Leandro Tavares Lucato, pelo incentivo a pesquisa no Setor de Ressonância Magnética do Hospital das Clínicas da FMUSP, por ser um exemplo de docente e pelo apoio durante toda a minha formação. E também pela disponibilidade de participar em minha banca de qualificação.
- Dr. Luciano Magalhães Melo, por sua dedicação na avaliação clínica neurológica e aplicação das escalas de gravidade da doença de Parkinson durante todo este trabalho.
- Dr. Marcelo B. de Gusmão Funari, pelo incentivo a pesquisa no Setor de Ressonância Magnética do Hospital Israelita Albert Einstein, viabilização deste projeto e apoio durante toda a minha formação.
- Dr. Marcio Garcia, por todo o apoio, incentivo e compreensão durante esses anos de trabalho no Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), por sua amizade e por ser exemplo de médico radiologista e gestor médico.

- Dra. Márcia Rúbia Gonçalves, por sua dedicação na avaliação clínica neurológica e aplicação das escalas de gravidade da doença de Parkinson durante todo este trabalho.
- Profa. Dra. Maria C. Garcia Otaduy, brilhante física, por sua dedicação na realização desse projeto, sempre disposta a tirar nossas dúvidas e nos auxiliar.
- Dra. Maria da Graça Moraes Martin, por ser um exemplo de radiologista e pelo apoio durante toda a minha formação. E também pela disponibilidade de participar em minha banca de qualificação.
- Prof. Dra. Veralice Bruin, neurologista e pesquisadora da Universidade Federal do Ceará, minha orientadora do CNPQ por anos durante a graduação, quem me ensinou as bases da pesquisa clínica.
- À Kênia R Campanholo, Natália P.P. Novaes, Manoel Jacobsen Teixeira pelo apoio a pesquisa e realização desse projeto.
- A FAPESP pelo suporte financeiro ao longo destes anos.
- Pacientes e familiares com Doença de Parkinson, Tremor Essencial e nossos voluntários sadios, nossa infinita gratidão pela disponibilidade, comprometimento e paciência que tiveram com o tratamento desta pesquisa, seremos eternamente gratos.
- À Deus, sempre infinitamente bom e misericordioso, e à minha família, que me proporcionou os melhores estudos e oportunidades, sempre me amando e me apoiando.

Normalização adotada

Essa tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marivalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª edição. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Lista de gráficos

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE PARKINSON	5
3.2 FATORES DE RISCO DA DOENÇA DE PARKINSON	6
3.3 ETIOPATOGENESE DA DOENÇA DE PARKINSON	7
3.3.1 Patogênese	7
3.3.2 Genética	10
3.3.3 Sistemas dopaminérgicos	11
3.3.3.1 Via nigroestriatal	12
3.3.3.2 Via mesocortical e mesolímbica	14
3.3.3.3 Sistema túbero-infundibular	15
3.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA DE PARKINSON	16
3.4.1 Classificação	16
3.4.2 Diagnóstico clínico	17
3.4.3 Evolução	20
3.5 DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS DA DOENÇA DE PARKINSON	21
3.5.1 Condições não parkinsonianas	21
3.5.2 Condições Parkinsonianas	24
3.6 O PAPEL DA NEUROIMAGEM	
3.6.1 Introdução	26
3.6.2 Substância negra	26
3.6.3 Ressonância magnética estrutural	30
3.6.4 Avaliação do depósito de ferro	32
3.6.5 Difusão / DTI	37
3.6.6 Ressonância magnética funcional	42

3.6.7 Tomografia por Emissão de Prótons e Tomografia por Emissão de Fóton Único (PET/SPECT)	43
4. MÉTODOS	49
4.1 Desenho do Estudo	49
4.2 Casuística	51
4.2.1 Ética.....	51
4.2.2 Recrutamento dos pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios.....	51
4.2.3 Critérios de seleção.....	52
4.2.3.1 Critérios de inclusão.....	52
4.2.3.2 Critérios de exclusão.....	53
4.2.4 Avaliação clínica neurológica.....	53
4.3 Ressonância Magnética	54
4.3.1 Equipamentos.....	54
4.3.2 Segurança.....	54
4.3.3 Posicionamento dos pacientes.....	55
4.3.4 Aquisição do DTI.....	55
4.3.5 Análise do DTI.....	55
4.3.6 Metodologia para desenho dos ROIs.....	56
4.4 Análise Estatística	58
4.4.1 Acurácia diagnóstica.....	59
4.4.1.1 Modelo linear.....	59
4.4.1.2 Reprodutibilidade.....	59
4.4.2 Meta-análise.....	60
5. RESULTADOS	62
5.1 Estudo de caso-controle	62
5.1.1 Resultados demográficos.....	62
5.1.2 Acurácia Diagnóstica da FA na substância negra.....	63
5.1.2.1 Modelo linear.	63
5.1.2.2 Reprodutibilidade.....	64
5.2 Meta-análise	66
6. DISCUSSÃO	75
7. CONCLUSÕES	83
8. ANEXOS	85
9. REFERÊNCIAS	118

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

11C-DTBZ: di-hidrotetrabenazina

18F-DA: fluorodopamina

19F-FDOPA: fluoro-L-dopa

7T: 7 tesla

3T: 3 tesla

1,5T: 1,5 tesla

ADC: "apparent diffusion coefficient"

AMS: atrofia de múltiplos sistemas

ATV: área tegmentar ventral

DA: doença de Alzheimer

DA: dopamina

DAT: "dopamine membrane transporter"

DCB: degeneração corticobasal

DP: doença de Parkinson

DTI: "diffusion tensor image"

DWI: "diffusion-weighted image"

EUA: Estados Unidos da América

FA: anisotropia fracionada

fMRI: "functional magnetic resonance imaging"

GRE: "gradient-recalled-echo"

GSH: glutationa

LRRK2: “leucina-rich repeat kinase 2”

MD: “medium diffusivity”

ml: mioinositol

MRS: “magnetic resonance spectroscopy”

NAA: N-acetilaspártato

NST: núcleos subtalâmicos

PET: tomografia por emissão de prótons

PSP: paralisia supranuclear progressiva

RSS: relação sinal-ruído

SCB: síndrome corticobasal

SN: substância negra

SNC: sistema nervoso central

SNpc: “*pars compacta*” da substância negra

SNCA: alfa-sinucleína

SNpr: “*pars reticulada*” da substância negra

SPECT: tomografia por emissão de fóton único

TDH: hormônio tireostimulante

TE: tremor essencial

UK PDS Brain Bank: “Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease of the London Brain Bank”

VBM – “voxel based morphometry”

VMAT2: transportador de monoamina vesicular tipo 2

VS: voluntários sadios

Lista de Figuras

Figura 01 – Estadiamento da patologia de Lewy relatada na doença de Parkinson.....	9
Figura 02 – Representação das vias dopaminérgicas.....	12
Figura 03 – Potenciais biomarcadores para doença de Parkinson.....	20
Figura 04 – Representação da substância negra por imuno-histoquímica.....	29
Figura 05 – Representação da substância negra por ressonância magnética.....	34
Figura 06 – Representação do sinal da cauda da andorinha.....	36
Figura 07 – Sinal da “cauda da andorinha”.....	37
Figura 08 – Ilustração explicativa da sequência de difusão.....	39
Figura 09 – Esquema do tensor de difusão.....	40
Figura 10 – Ilustração da PET-RM.....	45
Figura 11 – Metodologia para desenho do ROI na substância negra.....	57
Figura 12 – Fluxograma do protocolo de seleção dos estudos.....	66

Lista de Tabelas

Tabela 01 – Critérios do “UK PDS Brain Bank” para diagnóstico clínico da Doença de Parkinson.....	19
Tabela 02 – Detalhamento das características clínicas e demográficas de cada estudo incluso na revisão sistemática.....	62
Tabela 03 – Resultados do modelo linear.....	64
Tabela 04 – Detalhamento das características clínicas e demográficas de cada estudo incluso na revisão sistemática.....	67
Tabela 05 – Parâmetros técnicos para cada estudo incluído na meta-análise.....	71

Lista de Gráficos

Gráfico 01 – Gráficos de Bland-Altman mostrando o grau de concordância entre radiologistas e entre locais.....	65
Gráfico 02 – Forest Plots para voluntários sadios.....	68
Gráfico 03 – Forest Plots para pacientes com doença de Parkinson.....	69
Gráfico 04 – Diferença das anisotropias fracionadas na substância negra dos pacientes com DP e VS – <i>Raw Mean Difference Forest Plot</i>	70
Gráfico 05 – Diferença das anisotropias fracionadas na substância negra dos pacientes com DP e VS em estudos com mais de 30 direções – <i>Raw Mean Difference Forest Plot</i>	72
Gráfico 06 – Curva de características operacionais (ROC) – acurácia diagnóstica da anisotropia fracionada na substância negra dos pacientes com doença de Parkinson.....	74

RESUMO

Hirata FCC. *Anisotropia fracionada na substância negra não é um biomarcador diagnóstico para doença de Parkinson* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Estudos recentes têm sugerido que as imagens de tensor de difusão podem ser úteis para diagnosticar doença de Parkinson (DP). Nosso objetivo foi estimar a exatidão diagnóstica da anisotropia fracionada da substância negra (FA-SN) para o diagnóstico de DP, em uma amostra mais próxima do cenário clínico, incluindo pacientes com tremor essencial (TE) e voluntários sadios (VS). Para uma compreensão mais profunda de nossos achados, também realizamos uma revisão sistemática da literatura e meta-análise para estimar a mudança média da FA-SN induzida pela DP e a precisão diagnóstica dessa medida. Nossa amostra consistiu de 135 pacientes: 72 pacientes com DP, 21 com TE e 42 VS. Dois exames em RM 3T foram realizados em diferentes locais. Em nossa amostra, não encontramos diferenças significativas entre os grupos e a FA-SN não foi útil para o diagnóstico. O maior componente da variabilidade foi a interação sítio-sujeito. Os resultados desta amostra foram fundidos em uma meta-análise que incluiu 1549 indivíduos compostos de 896 pacientes com DP e 653 VS. Utilizaram-se os modelos bivariados e inversos de variância inversa para resumir as medidas de acurácia diagnóstica e as diferenças de médias, respectivamente. A meta-análise estimou uma pequena diminuição nos valores médios da FA-SN na DP (0,03 menor nos pacientes com DP (IC: 0,01 - 0,06)). Apesar disso, sua capacidade discriminatória para o diagnóstico da DP foi baixa. A sensibilidade e a especificidade combinadas foram, respectivamente, 70% (IC: 65 - 74) e 63% (IC: 57 - 69). Houve alta heterogeneidade entre os resultados dos estudos ($I^2 = 92\%$). O estudo de caso-controle e a meta-análise das medidas de anisotropia fracionada na substância negra de pacientes com doença de Parkinson e voluntários sadios demonstram que o seu uso como biomarcador de DP não é confiável.

Descritores: doença de Parkinson; tremor essencial; imagem de tensor de difusão; anisotropia fracionada; imagem por ressonância magnética; imagem de tensor de difusão; substância negra; acurácia diagnóstica; sensibilidade e especificidade.

SUMMARY

Hirata FCC. *Substantia nigra fractional anisotropy is not a diagnostic biomarker of Parkinson's disease* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2018.

Recent studies have suggested that diffusion tensor images can be useful to diagnose Parkinson's disease (PD). Our goal was to estimate the diagnostic accuracy of substantia nigra fractional anisotropy (SN-FA) for PD diagnosis in a sample closer to the clinical setting, including patients with essential tremor (ET) and healthy controls (HC). To a deeper understanding of our findings, we also performed a systematic literature review and meta-analysis to estimate mean change of SN-FA induced by PD, and diagnostic accuracy of this measurement. Our sample consisted of 135 subjects: 72 PD and 21 ET patients and 42 HC. Two 3T MRI scans were performed in different sites. In our sample, we did not find significant mean difference between groups and SN-FA was useless for diagnosis. The largest component of explained variability of SN-FA was site-subject interaction. MRI results of this sample were merged in a meta-analysis that included 1549 subjects composed of 896 PD patients and 653 HC. The normal bivariate and the inverse-variance random-effect models were used to summarize diagnostic accuracy measures and mean differences respectively. Meta-analysis estimated a small decrease in mean SN-FA values in PD (0.03 lower in PD patients (CI: 0.01 - 0.06)). Despite this fact, its discriminatory capability to diagnose PD was low. The pooled sensitivity and specificity was respectively 70% (CI: 65 - 74) and 63% (CI: 57 - 69). There was high heterogeneity between studies results ($I^2 = 92\%$). This case-control study and meta-analysis of substantia nigra fractional anisotropy measurements in Parkinson's disease and healthy volunteers demonstrate that their use as a PD biomarker is not reliable.

Descriptors: Parkinson disease; essential tremor; diffusion tensor imaging; fractional anisotropy; magnetic resonance imaging; diffusion; substantia nigra; diagnostic accuracy; sensitivity and specificity.

1. INTRODUÇÃO

A Doença de Parkinson (DP) é uma desordem neurodegenerativa comum e complexa, descrita há quase duzentos anos por James Parkinson em "*An Essay on the Shaking Pulse*" (1817). Caracterizada classicamente como uma desordem neurológica com sintomas motores clássicos de parkinsonismo (tremor em repouso, rigidez, bradicinesia e instabilidade postural), associados a corpos de Lewy e perda dos neurônios dopaminérgicos na substância negra (SN) ^{1 2}. Entretanto, sabe-se que essa é uma afecção neurológica com camadas evolutivas de diferentes complexidades³. A sintomatologia é bastante heterogênea, variável e com diferentes formas de acometimento, sendo que alguns sintomas não motores podem atingir os pacientes com décadas de antecedência, como hiposmia, constipação e distúrbios do sono. Além disso, patologicamente, envolve diversas áreas do sistema nervoso central (SNC), que não só os núcleos da base, vários neurotransmissores, que não só a dopamina, e outras proteínas agregantes, que não só os corpos de Lewy ³.

Os fatores etiopatogênicos envolvem determinantes ambientais em conjunto com fatores genéticos, que são responsáveis pelo desenvolvimento dessa afecção neurodegenerativa, que se inicia muitos anos antes do diagnóstico clínico poder realmente ser feito⁴. Infelizmente, biomarcadores que permitam esse diagnóstico em estágios precoces subclínicos não existem, apesar de profundas pesquisas no assunto.

Um bom biomarcador para o diagnóstico de uma doença deve ser reprodutível em vários centros e por diversos radiologistas, permitir o diagnóstico correto, ou seja, distinguir aquela doença de todos os seus diagnósticos diferenciais e não apenas dos principais, além de poder ser associado a progressão dos sintomas e melhoras com o tratamento.

A doença de Parkinson ainda não possui um biomarcador para o seu diagnóstico. O padrão diagnóstico ainda é a comprovação patológica da degeneração da substância negra e da deposição dos corpos de Lewy ⁵. Tais corpos são inclusões citoplasmáticas eosinofílicas constituídas por várias estruturas de natureza proteica, encontradas em áreas de degeneração celular, podendo ser consideradas como marcadores de perda neuronal. Entretanto, também podem ser encontrados em outras doenças neurodegenerativas, bem como em indivíduos normais⁵. As características clínicas da DP terão início quando 80% da dopamina estriatal e 50% dos neurônios da substância negra são perdidos ⁶.

Apesar da neuroimagem direcionada para avaliação do sistema dopaminérgico ser o método mais frequentemente utilizado atualmente para o diagnóstico precoce da doença de Parkinson (SPECT - *single-photon emission computed tomography* e PET - *positron emission tomography*), técnicas avançadas de RM têm se mostrado promissoras para detectar alterações patológicas que envolvam a substância negra e o córtex encefálico. Dentre essas técnicas avançadas, temos diversos estudos sobre a avaliação da deposição do ferro, avaliações volumétricas e morfométricas, difusão / DTI (*diffusion tensor imaging* ou imagem de tensor de difusão), espectroscopia e RM funcional, embora na prática clínica nenhum seja ainda reprodutível e aplicável como biomarcador dessa doença.

Em 2009, *Vaillancourt et al* estudaram 28 pacientes (14 em estágio precoce da Doença de Parkinson e 14 voluntários sadios) com protocolo de DTI em RM 3T para avaliar as porções rostral, média e caudal da SN⁷⁸. A FA média foi menor na população com DP do que nos voluntários sadios, com uma sensibilidade e especificidade de 100% para distinguir esses pacientes. Além disso, eles viram que as maiores diferenças entre as FA foram nas porções caudais da SN, consistente com a região da SN onde há a maior perda dos neurônios dopaminérgicos. ^{6 17}. Esse trabalho foi

publicado na revista *Neurology* em 2009 (fator de impacto: 8,3) e foi citado 372 vezes, considerado, na época, um grande divisor de águas no diagnóstico da doença de Parkinson. Ter um biomarcador para essa doença a partir de exames de imagem nos permitiria um diagnóstico precoce e introdução de drogas modificadoras da doença, o que mudaria radicalmente a sua história natural.

Diante desse cenário, tentamos validar o resultado de *Vaillancourt et al*⁷⁸ em uma amostra populacional brasileira, a partir de um estudo prospectivo e multicêntrico, com pacientes portadores de doença de Parkinson e voluntários sadios. Considerando o tremor essencial um dos distúrbios de movimento mais comuns em nosso meio, muitas vezes tornando o diagnóstico da doença de Parkinson desafiador, optamos por também incluir essa população no nosso estudo. Não encontramos na literatura nenhum trabalho que incluísse pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios.

De forma a avaliar todos os estudos até agora publicados, nossos resultados foram fundidos em uma meta-análise com outros 22 estudos que avaliaram a anisotropia fracionada na substância negra de pacientes com doença de Parkinson e voluntários sadios. Esse estudo de meta-análise visa avaliar com mais profundidade esses dados, principalmente se os resultados dos outros estudos foram comparáveis ao estudo de *Vaillancourt et al*.

2. OBJETIVOS

1. Avaliar a medida da anisotropia fracionada na substância negra de uma amostra brasileira de pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios, em um estudo prospectivo e multicêntrico, estendendo o trabalho de *Vaillancourt et al*⁷⁸, por dois neurorradiologistas com mais de cinco anos de experiência.
2. Avaliar se há diferenças na medida da anisotropia fracionada entre esses grupos que seja capaz de diferenciá-los e qual a sua acurácia diagnóstica.
3. Realizar uma revisão sistemática da literatura e meta-análise para avaliar se a alteração da anisotropia fracionada na substância negra dos pacientes com doença de Parkinson tem boa precisão diagnóstica para diferenciá-los de voluntários sadios e se os resultados dos outros estudos foram similares aos de *Vaillancourt et al*⁷⁸.
4. Avaliar se a FA na substância negra dos pacientes com doença de Parkinson é um biomarcador da doença.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA DE PARKINSON

A Doença de Parkinson é a segunda desordem neurodegenerativa mais comum, perdendo apenas para Doença de Alzheimer, com a incidência anual nos países de alta prevalência estimada em 14 por 100.000 habitantes na população geral e 160 por 100.000 habitantes na população com idade maior ou igual a 65 anos⁷. Sua prevalência é de 0,5-1% dos pacientes entre 65-69 anos. O risco estimado é de cerca de 2% para homens e 1,3% para mulheres maiores de 40 anos nos Estados Unidos da América (EUA), levando em conta os riscos particulares de cada sexo, como fatores cardiovasculares e doenças oncológicas ⁸. A duração da doença é de cerca de 9,4 anos, com a taxa de mortalidade de cerca de 2,9 vezes em relação à população saudável de mesma faixa etária ⁹.

Estudos mostram que a prevalência é menor na África do que na Europa e Américas, sendo a incidência na Ásia similar a da Europa e Américas ¹⁰. Uma redução de 6% ao ano no aumento da Doença de Parkinson foi reportado entre 1999 e 2009 no Reino Unido, atribuído provavelmente à melhora da acurácia diagnóstica de outras síndromes parkinsonianas ¹¹.

A incidência de doença de Parkinson é baixa antes dos 50 anos, mas aumenta exponencialmente com a idade, com um pico por volta dos 80 anos¹². Há uma redução no diagnóstico da doença nas idades mais avançadas, provavelmente devido a maior prevalência de demência, que, quando presente no momento dos sintomas motores, é critério de exclusão para Doença de Parkinson¹³. Dessa forma, com o aumento da expectativa de vida em todo o mundo e com o crescimento da população geriátrica, estima-se que haverá um aumento de até 50% no número de pacientes com doença de Parkinson até 2030.

A incidência relativa entre homens e mulheres é de cerca de 3 homens para 2 mulheres, provavelmente relacionado às diferenças de comportamento, discutidas adiante ¹³.

3.2 FATORES DE RISCO DA DOENÇA DE PARKINSON

O risco de desenvolvimento da DP é multifatorial e uma rede de fatores genéticos e ambientais começa a ser decifrada, sendo de bastante importância para elucidação dos mecanismos patogênicos, identificação de biomarcadores e tratamento.

Uma meta-análise realizada em 2014 por *Alastair et al*¹⁴ examinou 30 potenciais fatores de risco para doença de Parkinson e identificou 10 fatores ambientes que consideravelmente alteram o risco para a doença¹⁴. Os fatores que aumentam o risco são: exposição a pesticida, injúria neurológica prévia, moradores rurais, uso de beta-bloqueadores e ocupação agrícola. Os fatores que reduzem o risco são: tabagismo, ingestão de cafeína, uso de anti-inflamatórios não esteroidais, uso de bloqueadores do canal de cálcio e consumo alcoólico ¹⁴.

O tabagismo como fator protetor à doença de Parkinson pode ser questionado visto que, muito provavelmente, esses pacientes tendem a parar de fumar com maior facilidade durante a fase de pródromos, precedendo o diagnóstico.

Os fatores genéticos também contribuem para a suscetibilidade individual para desenvolver a doença. Em familiares de primeiro grau dos pacientes, há um risco levemente maior para o desenvolvimento da doença. Embora a maioria dos pacientes com DP não apresente história familiar, muito do que conhecemos hoje sobre a sua etiopatogenia deriva dos estudos em pacientes com formas genéticas da doença. Estas formas são raras e em sua maior parte têm início precoce dos sintomas. Apenas

15% dos doentes tem um parente de primeiro grau acometido, sem um padrão claro de herança¹⁵.

Os trabalhos mais convincentes sobre o assunto foram aqueles que descobriram os padrões monogenéticos da doença, autossômicas dominantes e recessivas ¹⁶. O gene *SNCA*, que codifica a proteína alfa-sinucleína, foi o primeiro associado a DP idiopática (denominado PARK 1) e permitiu a identificação dessa proteína responsável pela patologia de Lewy⁵. As mutações nos genes *LRRK2* e *parkin* são as mais comumente envolvidas nos padrões monogenéticos da doença de Parkinson, sendo a primeira relacionada a um padrão autossômico dominante (geralmente acometendo pacientes na mesma faixa etária que a forma idiopática) e a segunda associada à forma recessiva (acomete pacientes mais jovens). Entretanto, o maior fator de risco genético é a mutação no gene *GBA* que codifica a beta-glucocerebrosidase, cuja deficiência lisosomal é responsável pela doença de Gaucher¹⁶.

A idade constitui o principal fator de risco para esta doença, tendo sido demonstrado, em estudos de autópsia, redução progressiva da “*pars compacta*” da substância negra com o envelhecimento. Além disto, os corpúsculos de Lewy são relatados em até 16% dos cérebros de pacientes idosos em autópsias ¹⁷.

3.3 ETIOPATOLOGIA DA DOENÇA DE PARKINSON

3.3.1 PATOGÊNESE

A característica principal da DP é a perda dos neurônios dopaminérgicos na porção ventrolateral da “*pars compacta*” da substância negra. (SNpc). Esses neurônios se projetam para o putame dorsal e para o caudado, sendo que estudos clínico-patológicos demonstram que a perda neuronal leve a moderada nessa região,

responsável pelos sintomas motores da doença, também ocorre nas fases mais precoces, de forma que haveria uma população de células salvável nesse estágio da doença ¹⁸.

A perda neuronal também ocorre em outras regiões do cérebro, como no *locus ceruleus*, núcleos basais de Meynert, núcleos pedunculopontinos, núcleos da rafe, núcleos dorsais motores do vago, amígdala e hipotálamo ¹⁷.

Os núcleos subtalâmicos (NST) também exercem um papel fundamental nos circuitos dos núcleos da base e no controle dos movimentos, visto que, junto com o caudado e o putame, são os maiores responsáveis por receber as vias eferentes excitatórias do córtex cerebral e exercem efeitos opostos inibitórios nos globos pálidos internos e na SNpr.

Outro marcador da DP é a patologia de Lewy que corresponde às inclusões citoplasmáticas especialmente da proteína alfa-sinucleína nos corpos (corpos de Lewy) e projeções (neurite de Lewy) dos neurônios, tanto no SNC quanto na medula espinal e nervos periféricos, como vago, gânglios simpáticos e plexo cardíaco⁵. Essa teoria propõe que a patologia de Lewy teria papel fundamental na perda neuronal da substância negra. Acredita-se que a alfa-sinucleína, associada a outras proteínas como ubiquitina e proteasomal, ativem o sistema de morte neuronal e levem a destruição de outras proteínas dos neurônios. A formação dos corpos de Lewy nas células neurais e, portanto, a perda da atividade do sistema ubiquitina-proteasomal, é uma das propostas etiopatogênicas mais aceitas da doença de Parkinson ¹⁹.

*Braak et al*¹⁷ propuseram um modelo de progressão da patologia de Lewy, em que há uma evolução temporal e espacial na deposição dos corpos e dos neurônios de Lewy, de caudal para rostral, no sistema nervoso periférico e central. A hipótese é de

que a alfa-sinucleína se espalhe entre os neurônios trans-sinapticamente (Figura 1) por uma transmissão prion-like²⁰.

Segundo a classificação de *Braak*, os estágios 1 e 2 correspondem a um estágio de sintomas pré-motores, o estágio 3 seria caracterizado pelos sintomas da deficiência dopaminérgica e os estágios 4 a 6 por sintomas não motores da doença mais avançada, especialmente a demência¹¹.

ESTADIAMENTO BRAAK DA PATOLOGIA DE LEWY NA DOENÇA DE PARKINSON

Estágio 1

Sistema Nervoso

Estágio 1

Sistema Nervoso Periférico (neurônios autônomos), sistema olfatório (bulbo olfatório, núcleos olfatórios anteriores), medula (núcleo motor dorsal dos nervos vago e glossofaríngeo)

Estágio 2

Ponte (locus ceruleus, formação reticular), substância cinzenta da medula espinhal

Estágio 3

Ponte (núcleos pedunculopontinos), mesencéfalo (pars compacta da substância negra), núcleos basais (núcleo magnocelular, incluindo núcleo basal de Meynert), sistema límbico (subnúcleo central da amígdala)

Estágio 4

Sistema límbico (núcleo da amígdala, núcleo intersticial da stria terminalis e claustrum ventral), tálamo (núcleo intralaminar), córtex temporal (mesocórtex anteromedial temporal, região CA2 do hipocampo)

Estágios 5 e 6

Múltiplas regiões corticais (córtex insula, áreas corticais de associação, áreas corticais primárias)

FIGURA 1: Estadiamento da patologia de Lewy relatada na Doença de Parkinson esporádica.

Entretanto, estudos nas últimas décadas revelaram que a doença de Parkinson é mais que uma doença neurodegenerativa devido à patologia de Lewy. Outras proteínas como placas beta-amiloide e emaranhados de fibrilas-TAU (relacionadas classicamente à doença de Alzheimer) são encontrados no cérebro dos pacientes com DP na mesma quantidade que nos pacientes com DA e vice-versa, de forma que inclusões de outras proteínas que não a alfa-sinucleína podem estar associadas a patologia de Lewy e contribuir para o desenvolvimento da DP²¹.

Além disso, após o reconhecimento das formas monogênicas da doença de Parkinson, estudos neuropatológicos mostram que pacientes podem ter a doença sem a patologia de Lewy, caracteristicamente quando relacionado a mutações nos genes *parkin* e *LRRK2* ¹⁶.

Também é reconhecido um padrão neuroinflamatório como um fator possivelmente sinérgico para o desenvolvimento da doença, determinando gliose reacional mediada por ativação astrocitária e microglial nas áreas de neurodegeneração. A microglia ativada também pode secretar fatores tróficos e citocinas pró-inflamatórias. Entretanto, estudos epidemiológicos mostram um risco reduzido para o desenvolvimento de DP em usuários de medicações anti-inflamatórias. Desta forma, a importância deste desbalanço inflamatório na sobrevida neuronal ainda precisa ser mais bem elucidada ²².

3.3.2 GENÉTICA

Além dos genes *SNCA*, *LRRK2* e *parkin* anteriormente descritos, outros vários genes estão envolvidos nas formas monogênicas da doença de Parkinson.

O gene *LRRK2* codifica uma quinase rica em leucina (*leucine-rich repeat kinase 2*), proteína envolvida nos processos de multiplicação neuronal, como crescimento dos neurônios e morfogênese das sinapses, transporte de membranas, autofagia e síntese proteica¹⁶. A mutação *LRRK2* é encontrada em cerca de 4% dos casos de doença de Parkinson familiar (autossômica dominante) e 1% dos casos esporádicos.

O gene *parkin* é associado a forma autossômica recessiva e codifica uma proteína implicada com o fenômeno chamado mitofagia, responsável pela eliminação de mitocôndrias danificadas²³.

O gene PARK-2 codifica uma proteína denominada parkina que desempenha um papel de ligase dentro do sistema ubiquitina, em que a ligação entre a alfa-sinucleína e a ubiquitina é catalisada pela parkina. Este gene suporta a hipótese de que a falência do sistema ubiquitina-proteasomal é o denominador comum na patogênese da DP. O sistema ubiquitina-proteasomal é responsável em situações fisiológicas da degradação de proteínas. O mau funcionamento do sistema leva ao acúmulo de proteínas intracelulares, em especial da alfa-sinucleína²⁴.

3.3.3 SISTEMAS DOPAMINÉRGICOS

Tendo em vista a etiopatogenia e os achados anátomo-patológicos, a alteração predominante na DP é a degeneração dos neurônios dopaminérgicos. A dopamina é um neurotransmissor envolvido no controle das funções motoras, cognitivas e emocionais. Os principais sistemas dopaminérgicos são as vias: nigroestriatal, mesolímbica, mesocortical e túbero-infundibular²⁵ (Figura 2). O esquema mostra as relações anatômicas entre a substância negra, a área tegmentar ventral, os núcleos do tegmento pontino, o núcleo accumbens e o córtex pré-frontal medial. Estas formam as principais áreas responsáveis pelo sistema de recompensa do cérebro.

FIGURA 2 – Representação das vias dopaminérgicas.

3.3.3.1 Via Nigroestriatal

Na via nigroestriatal, a dopamina é sintetizada em neurônios da “*pars compacta*” da substância negra mesencefálica e armazenada em vesículas no terminal pré-sináptico dos axônios que se encontram no corpo estriado.

A degeneração dos neurônios dopaminérgicos da “*pars compacta*” leva a disfunção do estriado, que, por duas vias distintas (direta e indireta), determinam um aumento da atividade do globo pálido interno e da “*pars reticulada*” da substância negra. Em função disto, há uma redução da atividade dos núcleos motores do tálamo e do tronco cerebral, que por sua vez diminuem a excitabilidade do córtex cerebral (Figura 02) ^{1 2}.

Os achados de neuroimagem funcional também dão suporte ao modelo acima proposto. Nestes estudos, observou-se uma menor atividade da área suplementar

motora, que é restaurada por meio da terapêutica dopaminérgica, palidotomia ventral pósterio-lateral ou da estimulação do núcleo subtalâmico²⁶. Exames como PET também demonstraram uma maior atividade basal do estriado e globo pálido, que estão correlacionados com o grau de bradicinesia²⁷.

Por meio de técnicas recentes de neuroimagem molecular, é possível estudar onde a degeneração progressiva destas vias está correlacionada com a piora dos sintomas motores. O transportador de dopamina é um receptor do terminal pré-sináptico e principal responsável pela recaptação da dopamina da fenda. Drogas como a cocaína agem neste receptor inibindo sua recaptação. O TRODAT (do inglês, “tropane dopamine transporter”) é um complexo cuja estrutura molecular é semelhante à da cocaína, permitindo a ligação com um elemento radioativo. Desta forma, por meio da tomografia por emissão de fóton único (SPECT), demonstra a distribuição dos receptores dopaminérgicos ²⁸

Ming et. al. ²⁹, em um estudo realizado no Brasil, demonstraram que há uma redução significativa da densidade do transportador de dopamina no estriado bilateralmente em pacientes com DP, quando comparados a voluntários sadios²⁹. Além disto, a estratificação dos pacientes de acordo com a escala de Hoehn e Yahr (Anexo 7), demonstrou concentração progressivamente menor nos pacientes mais graves, correlacionando a piora da evolução clínica à degeneração das vias dopaminérgicas. O início dos sintomas da doença ocorre quando há uma redução entre 40 e 60 % na captação do radiofármaco e com a evolução da doença atinge até 90 % ²⁹.

Este grupo também demonstrou que, em pacientes com a forma precoce da doença, ocorre uma perda maior de neurônios dopaminérgicos para o mesmo grau de acometimento motor³⁰. Os mecanismos compensatórios dos sistemas motores e a maior plasticidade neuronal devem ser mais eficazes nos indivíduos jovens ou porque

os demais sistemas ainda não estejam afetados, sendo necessária maior perda neuronal para equivalência de sintomas.

3.3.3.2 Via Mesocortical e Mesolímbica

A existência de áreas no cérebro responsáveis por recompensa e prazer foi inicialmente sugerida por meio dos estudos em ratos na década de 50 realizados por Olds e Milner³¹. A estimulação do hipotálamo lateral condicionava o comportamento dos ratos de forma que eles buscassem ativamente esta estimulação³¹. A estimulação elétrica de áreas cerebrais relacionadas à recompensa se tornou uma ferramenta fundamental para identificar os locais responsáveis pela motivação e recompensa. Desta forma, o conhecimento integrado gerado por estas duas ferramentas possibilitou o seu conhecimento anatômico e neuroquímico.

A convergência dos achados anatômicos e neuroquímicos demonstrou que o sistema dopaminérgico mesolímbico, em especial a via entre a área tegmentar ventral e o núcleo *accumbens*, tem um papel fundamental dentro do sistema de recompensa do cérebro. Inúmeras drogas agonistas dopaminérgicas têm ação recompensadora quando injetadas no núcleo *accumbens* e determinam mudanças de comportamento de animais de experimentos.

Por meio da injeção de outras drogas foi possível determinar como esta via é modulada. A injeção de drogas colinérgicas na área tegmentar ventral, como o carbacol, um agonista nicotínico, e a neostigmina, um inibidor da acetilcolinesterase, também são recompensadoras³². Acredita-se que a estimulação do hipotálamo lateral seja mediada por meio de mecanismos colinérgicos³². A estimulação do hipotálamo lateral por meio de conexões do fascículo prosencefálico medial com o núcleo do

pedúnculo pontino e do núcleo do tegmento látero dorsal da ponte, determinará indiretamente a liberação de acetilcolina na área tegmentar ventral³¹.

As projeções glutamatérgicas do córtex pré-frontal medial para a área tegmentar ventral também tem importante papel na modulação desta via. A estimulação do córtex pré-frontal determina excitação dos neurônios da área tegmentar ventral. E a injeção de antagonistas glutamatérgicos também determina recompensa quando injetados no núcleo *accumbens* por reduzir o disparo dos neurônios gabaérgicos do estriado. Desta forma postulou-se o modelo atual de como o sistema de recompensa do cérebro age. Os neurônios espinhosos médios do núcleo *accumbens* são a via final comum de saída do sistema, cuja inibição desencadeia o fenômeno de recompensa. Sua função é modulada por mecanismos dopaminérgicos inibitórios provenientes da área tegmentar ventral (ATV). A ATV, por sua vez, é modulada por mecanismos colinérgicos de núcleos do tronco cerebral e glutamatérgicos do córtex pré-frontal. Ainda não está claro se todos ou apenas uma parte dos neurônios espinhosos médios do núcleo *accumbens* contribuem para a função de recompensa³¹.

3.3.3.3 Sistema túbero-infundibular

O sistema túbero-infundibular tem um papel importante na regulação do eixo hipotálamo-hipofisário, onde modula principalmente a secreção e proliferação das células produtoras de prolactina, por meio de receptores D₂³³. O hipotálamo exerce uma inibição constante da produção de prolactina, sendo observado aumento da produção de prolactina por meio do bloqueio dopaminérgico.

Há indícios de que na DP, o funcionamento do sistema dopaminérgico túbero-infundibular também esteja alterado. Embora o nível sérico de prolactina em pacientes com DP seja normal, estudos com provas funcionais demonstram alterações deste sistema. Pacientes com DP e controles sadios foram comparados com um teste de

administração de TSH (hormônio tireostimulante – que estimula a produção de prolactina) após terem recebido bromocriptina (um agonista dopaminérgico que inibe a secreção de prolactina). O objetivo deste teste é avaliar o aumento da produção de prolactina em uma situação onde sua produção está parcialmente inibida. A injeção do TSH determinou um aumento da secreção de prolactina menor em pacientes com DP do que em controles saudáveis. No grupo de pacientes com parkinson juvenil, o aumento da secreção de prolactina foi ainda menor³⁴. Ainda que de forma subclínica, observamos disfunção desta via dopaminérgica. Este achado suporta a hipótese que ocorra uma degeneração global das vias dopaminérgicas. Os mecanismos envolvidos na degeneração preferencial de vias motoras ainda necessitam ser melhor esclarecidos.

3.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sintomas parkinsonianos incluem bradicinesia, rigidez muscular, tremor de repouso, alteração postural e da marcha. Sintomas motores são heterogêneos e utilizados para classificar a doença de Parkinson de forma empírica, havendo a hipótese de que esses subtipos tenham diferentes etiologias e patogêneses ³⁵.

Características não motoras incluem disfunção olfatória, comprometimento cognitivo, sintomas psiquiátricos, distúrbios do sono, disfunção autonômica, dor e fadiga. Esses sintomas são comuns nas fases iniciais da doença (fase de pródromos), sendo relacionados a uma piora na qualidade de vida e podendo preceder a sintomatologia motora em até 20 anos ³⁶.

3.4.1 CLASSIFICAÇÃO

Etiologicamente, a doença de Parkinson pode ser classificada como primária ou idiopática, parkinsonismo secundário, familiar ou hereditária e associada a outras

síndromes ou doenças neurodegenerativas (Síndrome Parkinson-Plus).

Classifica-se a forma primária como doença de Parkinson com predominância de tremor, sem predominância de tremor (inclui fenótipos descritos como síndrome rigidez-acinesia e desordem de instabilidade postural) e um subtipo misto ou indeterminado.

O curso da doença e o prognóstico diferem entre os subtipos, sendo que o primeiro é associado a uma menor velocidade de progressão e menor incapacidade funcional do que o grupo sem predominância de tremores.

3.4.2 DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Não há uma única maneira de se definir a doença de Parkinson idiopática, a fim de diferenciá-la de outras causas de parkinsonismo, como a atrofia de múltiplos sistemas (AMS) e paralisia supranuclear progressiva (PSP). A DP é tradicionalmente definida pela presença patológica de corpos de Lewy e pela perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra, identificada no *pós-mortem*, sem evidências patológicas de outras doenças neurodegenerativas. Entretanto, usar uma definição patológica de DP é problemático, pois não é prático em pacientes vivos, além do que a patologia de Lewy é caracterizada em indivíduos sem DP e algumas vezes pode não ser vista em pacientes com formas monogênicas da doença ³⁷.

Dadas essas dificuldades, é geralmente aceito que o diagnóstico de DP deva ser baseado em achados clínicos. Os critérios clínicos mais amplamente aceitos para o diagnóstico da DP são os introduzidos pelos Critérios do *UK PDS Brain Bank* ³⁸ (Tabela 1). A sensibilidade desses critérios pode ser maior que 90%³⁹.

Estratégias de desenvolvimento de biomarcadores para o diagnóstico de DP são profundamente estudados há décadas, especialmente daqueles que permitam um

diagnóstico precoce, de preferência na fase de pródromos (Figura 3). Esses biomarcadores podem ser clínicos, por imagem, patológicos, bioquímicos e genéticos.

Discutiremos mais profundamente a respeito dos biomarcadores por neuroimagem nas próximas secções.

Critérios Diagnósticos do Banco de Cérebro de Londres para a Doença de Parkinson	
I)	<p><i>Diagnóstico da síndrome parkinsoniana</i></p> <p><i>Bradicinesia associada a pelo menos um dos seguintes:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> a. <i>rigidez;</i> b. <i>tremor de repouso de 4-6Hz;</i> c. <i>instabilidade postural não causada por alteração visual, vestibular, cerebelar ou disfunção proprioceptiva.</i>
II)	<p><i>Critérios de exclusão</i></p> <ul style="list-style-type: none"> a. <i>história de isquemias cerebrais recorrentes ou evolução em escada das características parkinsonianas;</i> b. <i>traumas encefálicos de repetição;</i> c. <i>história de encefalite definida;</i> d. <i>crises oculógiras;</i> e. <i>tratamento com neurolépticos no início dos sintomas;</i> f. <i>remissão sustentada;</i> g. <i>mais de um familiar afetado;</i> h. <i>sintomas estritamente unilaterais por mais de três anos;</i> i. <i>paralisia supranuclear do olhar;</i> j. <i>sinais cerebelares;</i> k. <i>disautonomia grave precoce;</i> l. <i>demência precoce com distúrbios de memória, linguagem e praxias;</i> m. <i>sinal de Babinski;</i> n. <i>tumor cerebral ou hidrocefalia em estudo de imagem;</i> o. <i>exposição à tetra-hidropteridina (MPTP);</i> p. <i>resposta negativa à levodopa, a despeito de altas doses, na ausência de má-absorção.</i>
III)	<p><i>Critérios de suporte prospectivos</i></p> <p><i>Três ou mais dos seguintes para o diagnóstico:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> a. <i>Início unilateral, acometimento assimétrico;</i> b. <i>Presença de tremor de repouso;</i> c. <i>Doença progressiva;</i> d. <i>Assimetria persistente afetando principalmente o lado de início da doença;</i> e. <i>Resposta excelente à levodopa (melhora de 70 a 100%);</i> f. <i>Resposta à levodopa por cinco anos ou mais;</i> g. <i>Discinesia induzida pela terapia com levodopa;</i> h. <i>Evolução clínica de dez anos ou mais.</i>

TABELA 1: Critérios do “UK PDS Brain Bank” para diagnóstico clínico da doença de Parkinson idiopática (similar ao ANEXO 3).

FIGURA 3: Potenciais biomarcadores para doença de Parkinson.

3.4.3 EVOLUÇÃO

Como já relatado, a fase de pródromos da DP pode preceder os sintomas motores em pelo menos 20 anos, sendo caracterizada por constipação, alterações do sono, dor, fadiga e alterações psiquiátricas. Com a progressão da doença, há uma piora das queixas motoras que podem ser aliviadas com drogas dopaminérgicas. Entretanto, surgem complicações relacionadas ao uso dessas drogas, como flutuações motoras e não motoras, discinesia e psicose⁴⁰. Nas fases mais tardias da doença, predominam os sintomas motores resistentes aos agonistas dopaminérgicos (paralisia de marcha, quedas, disfagia, alterações da fala) e os sintomas não-motores, como sintomas autonômicos (incontinência urinária, constipação) e hipotensão postural. A demência é bastante prevalente, sendo presente em até 83% dos pacientes com DP

após 20 anos de doença⁴⁰.

3.5 DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

O diagnóstico diferencial da doença de Parkinson é amplo, complexo e, muitas vezes, difícil de ser realizado clinicamente, seja por limitações na anamnese e exame físico do paciente, como pela sobreposição de sintomatologia e associação de doenças.

Inicialmente, devem ser consideradas condições não parkinsonianas e, em seguida, as demais causas de parkinsonismo ⁴¹.

3.5.1 CONDIÇÕES NÃO PARKINSONIANAS

O tremor essencial é um dos distúrbios de movimento mais comuns, embora não haja um consenso entre os neurologistas a respeito de sua etiologia e diagnóstico clínico ⁴².

Costuma ser um distúrbio monossintomático que envolve as mãos ou antebraços, diferenciado do tremor parkinsoniano por ser mais rápido, pela tendência em se acentuar com os movimentos voluntários e por desaparecer com o repouso ⁴³. Tremor isolado da cabeça sem evidência de anormalidade postural também pode ocorrer.

A etiologia não é conhecida e não há achados patológicos convincentes. Algumas hipóteses são postuladas, como anormalidades no centro de função oscilatória (localizado no triângulo de *Guillain Mollaret*, envolvendo o núcleo olivar inferior) e circuitos cerebelo-tronco-talâmicos-corticais⁴⁴. Questiona-se se é uma doença neurodegenerativa, visto que alguns estudos *pós-mortem* mostram

anormalidades no tronco e cerebelo, perda de células de Purkinje e anormalidades no núcleo denteado⁴⁵. Há ainda relatos de anormalidades na substância branca caracterizadas no DTI ⁴⁶.

O tremor essencial é familiar em pelo menos 50-70% dos casos, com transmissão autossômica dominante e penetrância incompleta. Alguns casos são esporádicos e de etiologia desconhecida. Já foi encontrada associação com os genes EMT1 (3q13), EMT2 (2p25-22) e com 6p23 ⁴⁷.

Em 1994, *Bain et al*⁴⁸ desenvolveram critérios diagnósticos a partir do trabalho com 20 pacientes com tremor essencial e que tinham acometimento de pelo menos três gerações da família ⁴⁸, sendo que esses critérios são utilizados até os dias atuais. Eles definiram a condição pela presença de tremor postural bilateral, com ou sem movimentos cinéticos dos membros superiores, que pode ser assimétrico, na ausência de tremor residual após o repouso. O local de início deve ser os membros superiores e a idade de início antes dos 65 anos. Geralmente não há remissão completa, mas a amplitude pode variar. Pode ou não produzir incapacidade funcional. Tremor de pernas, língua, cabeça, músculos faciais e voz (sem disartria ou disfonia) podem estar presentes, mas não isolados ou em repouso.

A Sociedade de Desordens do Movimento (*Movement Disorders Society*) define tremor essencial como tremor postural (ocorre com a tendência voluntária de se manter contra a gravidade) ou cinético (ocorre durante movimentos voluntários), envolvendo as mãos e antebraços, visível e persistente ⁴⁸. Tremor de cabeça pode ocorrer de forma isolada ou associada, mas sem postura anormal. A incapacidade funcional com o comprometimento de atividades voluntárias ocorre, pois muitas vezes os pacientes agravam os tremores com atividades como beber, comer, escrever, etc. Fatores de exclusão para o tremor essencial são a presença de outros sintomas neurológicos (exceto pelo fenômeno da “roda denteada” e dificuldades com a macha em “tandem”),

outras causas conhecidas para tremor fisiológico, exposição recente a termogênicos, período de retirada de drogas, trauma há menos de 3 meses, suspeita de tremor psicogênico ou tremor de início súbito. Não pode haver evidências de tremor distônico ou parkinsonismo.

O tremor essencial é exacerbado pelo estresse, cafeína, exercícios e fadiga e melhora com alguns medicamentos e álcool ⁴⁹.

O diagnóstico dessa condição é clínico, baseado na história familiar e exame físico. Exames laboratoriais e de imagem geralmente não são necessários pois não existem biomarcadores para essa doença. Exames laboratoriais podem ser solicitados para excluir outras condições, especialmente quando a história familiar não é positiva. Painel de eletrólitos, testes de função tireoidiana, função hepática, creatinina e dosagem sérica de ceruloplasmina podem ser úteis. Ressonância magnética de crânio pode ser útil para excluir afecções inflamatórias e doença de Wilson. Eletromiografia e acelerometria podem ser utilizados para avaliar a frequência, ritmicidade e amplitude dos tremores, mas não é parte da rotina clínica.

Os principais diagnósticos diferenciais são doença de Parkinson em estágios iniciais e tremor distônico. Já foi aventada a possibilidade de o tremor essencial ser um fator de risco para doença de Parkinson, pois alguns desses pacientes reportam uma longa história pregressa de tremor postural. Um amplo estudo de coorte realizado pela Clínica Mayo revelou que alguns pacientes com início precoce da doença de DP ou com predomínio de tremores tinham chance maior de ter tremor essencial ⁵⁰. Entretanto, sem a presença de biomarcadores que definam se essas duas condições fazem parte de um mesmo espectro de doenças, é impossível essa definição.

O tratamento medicamentoso mais comum inclui primidona, beta-bloqueadores e benzodiazepínicos. Em pacientes refratários, pode ser considerada a neuroestimulação profunda dos núcleos subtalâmicos⁴⁹.

Distonia é uma contração muscular involuntária resultando em anormalidades posturais nos membros, face, tronco ou outras partes do corpo. Tremor distônico é definido quando a distonia é presente no membro afetado pelo tremor ou em outra parte do corpo. Geralmente os tremores são posturais ou localizados, assimétricos, com amplitude irregular e periódicos, exacerbados pela contração muscular e podem estar associados a mioclonias. A amplitude e duração de cada crise de contrações é variável e elas podem ocorrer apenas em posições ou movimentos particulares. O início dos tremores pode ser em outra parte do corpo que não as mãos e pode haver remissão ⁵¹.

Algumas artropatias que levam a rigidez podem simular um quadro parkinsoniano, especialmente se a coluna vertebral é acometida. Como exemplo, temos a espondilite anquilosante. As mãos deformadas pela rigidez parkinsoniana podem ser confundidas com as alterações causadas por artrite reumatóide. Deve-se analisar o conjunto das manifestações para se fazer o diagnóstico diferencial.

3.5.2 CONDIÇÕES PARKINSONIANAS

O parkinsonismo secundário pode ser determinado por causas infecciosas, como o parkinsonismo pós-encefálico que atualmente é muito raro, determinado por encefalites virais, como na encefalite japonesa B e na AIDS. Causas medicamentosas pela utilização de bloqueadores de receptores dopaminérgicos (haloperidol, pimozide, flufenazina, metoclopramida, cinarizina e flufenazina) e as drogas depletoras de

dopamina (reserpina, tetrabenazina e alfametildopa). O CO (monóxido de carbono) e o Hg (mercúrio) são apontados como substâncias tóxicas. Causas vasculares determinadas por múltiplos infartos cerebrais, principalmente nos núcleos da base e outras como tumores (raro) e hidrocefalia de pressão normal.

As síndromes parkinsonianas degenerativas representam um grupo de condições caracterizadas predominantemente por comprometimento motor associado a sintomas não motores, como distúrbios cognitivos, psiquiátricos, autonômicos e distúrbios do sono. A doença de Parkinson é a mais comum delas, seguida pelas síndromes parkinsonianas atípicas, que inclui a paralisia supranuclear progressiva (PSP), a atrofia de múltiplos sistemas (AMS) e a síndrome corticobasal. Essas condições têm diferentes formas de apresentação clínica, respostas ao tratamento e prognóstico, mas sobreposições clínicas são comuns, especialmente no início do quadro. Para o diagnóstico definitivo, é necessária a confirmação patológica e a acurácia clínica é subótima. Dessa forma, muitos estudos são direcionados para a pesquisa de biomarcadores que aumentem a acurácia diagnóstica *in vivo* para as síndromes parkinsonianas.

A RM do encéfalo é útil para diferenciar as síndromes parkinsonianas degenerativas das formas não-degenerativas acima descritas, incluindo parkinsonismo vascular, tumores tálamo-capsulares, hidrocefalia de pressão normal, distúrbios metabólicos como síndrome urêmica-diabética ou mielinólise extrapontina e doenças inflamatórias⁵². Além disso, pode também mostrar alterações que sejam típicas de outras doenças neurodegenerativas. A aplicação de técnicas avançadas como análises volumétricas, difusão, DTI, tractografia, espectroscopia de prótons e ressonância funcional podem fornecer marcadores quantitativos macro e microestruturais e bioquímicos de neurodegeneração *in vivo*.

3.6 O PAPEL DA NEUROIMAGEM

3.6.1 INTRODUÇÃO

Métodos de neuroimagem estrutural e funcional têm um papel muito importante na avaliação das doenças neurodegenerativas, inclusive na DP e seus diagnósticos diferenciais, no controle da progressão da doença e no suporte para a introdução das drogas modificadoras, melhorando a qualidade de vida dos pacientes.

Apesar da neuroimagem direcionada para avaliação do sistema dopaminérgico ser o biomarcador mais frequentemente utilizado atualmente para o diagnóstico da doença de Parkinson (SPECT - *single-photon emission computed tomography* e PET-18F-FDG - *18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography*), técnicas avançadas de RM têm se mostrado promissoras para detectar alterações patológicas que envolvam a substância negra e o córtex em pacientes pré-clínicos ou pacientes com risco de desenvolver DP, principalmente pela capacidade da RM em estudar a conectividade anatômica e funcional, com melhor resolução espacial e temporal. Dentre essas técnicas avançadas, temos a avaliação estrutural, avaliação da deposição do ferro, difusão / DTI (*diffusion tensor imaging*) e RM funcional.

3.6.2. SUBSTÂNCIA NEGRA

A substância negra é um núcleo alongado de substância cinzenta contendo numerosos neurônios multipolares pigmentados, localizada na base do pedúnculo cerebral, em toda a extensão rostrocaudal do mesencéfalo (Figura 4). Em uma secção transversa, tem formato semilunar e sua concavidade é voltada para o tegmento. Da sua convexidade, prolongamentos se estendem entre as fibras da base do pedúnculo

cerebral. Mais espessa medialmente do que lateralmente, estende-se do sulco oculomotor até o sulco lateral, e desde a superfície superior da protuberância pontina até a região subtalâmica.

A substância negra exerce um importante papel na função cerebral, em particular, no movimento dos olhos, no planejamento motor, na busca de recompensas, no aprendizado e no vício. Muitos dos efeitos da substância negra são mediados pelo estriado. A entrada dopaminérgica para o estriado por meio da via nigrostriatal está intimamente ligada à função do estriado. A co-dependência entre o estriado e a substância negra pode ser vista dessa maneira: quando a substância negra é estimulada eletricamente, não ocorre movimento; no entanto, os sintomas de degeneração nigral devido à doença de Parkinson é um exemplo da influência da substância negra sobre o movimento. Além das funções mediadas pelo estriado, a substância negra também é uma importante fonte de inibição GABAérgica para vários alvos cerebrais⁵⁴.

A SN é dividida em dois componentes, que têm conexões diferentes e neurotransmissores distintos: a parte mais ventral (*"pars reticulada"* - SNpr) e a parte mais dorsal (*"pars compacta"* – SNpc)^{54 57}.

Os neurônios da SNpc utilizam a dopamina como neurotransmissor e se projetam para o estriado. Eles também contêm neuromelanina, um pigmento negro como a dopamina, produzido a partir da tirosina. A função mais importante da *pars compacta* é o controle motor, embora seu papel seja indireto; a estimulação elétrica da substância negra não resulta em movimento, devido à mediação do estriado na influência nigral do movimento. A SNpc envia estímulo excitatório para o estriado, resultando na liberação de GABA no globo pálido para inibir seus efeitos inibitórios no núcleo subtalâmico. Isso faz com que as vias talamocorticais se excitem e transmitem sinais ao neurônio motor do córtex cerebral para permitir o início do movimento, o que

está ausente na doença de Parkinson. Desta forma, a falta de neurônios da *pars compacta* tem uma grande influência no movimento, como evidenciado na doença de Parkinson. A SNpc está fortemente envolvida em respostas aprendidas aos estímulos. Em primatas, a atividade do neurônio dopaminérgico aumenta na via nigrostriatal quando um novo estímulo é apresentado. No entanto, a apresentação de estímulo comportamentalmente significativo (ou seja, recompensas) continua a ativar neurônios dopaminérgicos na SNpc. Projeções dopaminérgicas da área tegmental ventral do mesencefalo ao córtex pré-frontal (via mesocortical) e ao núcleo *accumbens* (via mesolímbica) estão implicados na recompensa, prazer e comportamento viciante. A *pars compacta* também é importante na aprendizagem espacial, nas observações sobre o meio ambiente e a localização no espaço. As lesões na SNpc levam a déficits de aprendizagem na repetição de movimentos idênticos e alguns estudos apontam para o seu envolvimento em um sistema de memória que funciona de forma relativamente independente do hipocampo ^{54 57}.

A SNpr é mais pobre em células e contém ferro e apresenta muita semelhança estrutural e funcional com o globo pálido interno, muitas vezes considerados como a mesma estrutura, apenas separados pela cápsula interna. Seus neurônios se projetam para o tálamo (núcleos ventral anterior, ventral lateral e dorsomedial) e para núcleos do tronco encefálico (colículo superior e núcleo pedunculo pontino). Além disso, esses neurônios formam até cinco colaterais que se ramificam tanto na *pars compacta* quanto na *pars reticulada*, provavelmente modulando a atividade dopaminérgica na SNpc. Essas células utilizam o GABA como neurotransmissor e possuem bastante quantidade da enzima glutamato descarboxilase, necessária para a sua produção⁵⁵. A SNpr recebe vias aferentes diretas e indiretas do estriado, sendo que as vias indiretas também se conectam com a parte externa do globo pálido e com o núcleo subtalâmico. A SNpr é um importante centro de processamento nos núcleos da base. Os neurônios

GABAérgicos da *pars* reticulada transmitem os sinais processados dos da base para o tálamo e para o colículo superior. Além disso, a *pars* reticulada também inibe a atividade dopaminérgica na *pars* compacta por meio de colaterais axônicos, embora a organização funcional dessas conexões não esteja muito clara ⁵⁴.

FIGURA 4: Representação da substância negra por imuno-histoquímica. 1. Pedúnculo cerebral – 2. Crus cerebral – 3. Substância negra – 4. Tegmento – 5. Teto

De acordo com um esquema clássico⁵⁶, dentro da “*pars compacta*” da SN são identificados dois níveis de neurônios pigmentados, nomeadamente os dorsais (“*pars compacta*” *dorsalis*) e ventrais (“*pars compacta*” *ventralis*), orientados anteromedialmente ao longo do mesencéfalo. As camadas anterior e posterior podem ser ainda subdivididas utilizando-se imuno-histoquímica com o marcador calbindina, que revela zonas com baixa calbindina, chamadas nigrossomas, onde residem os neurônios pigmentados e onde começa a degeneração relacionada à DP⁵⁷. O nigrossoma 1 corresponde ao maior e mais denso agregado de células calbindina-negativas dentro da “*pars compacta*” *ventralis* da SN⁵⁷.

3.6.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA ESTRUTURAL

Com imagens estruturais, as pesquisas utilizam dados de RM ponderados em T1 para entender melhor as mudanças estruturais devido à doença (volumetria), especialmente na morfometria do córtex (substância cinzenta), regiões subcorticais (por exemplo, tálamo e núcleos da base) e tronco encefálico (por exemplo, substância negra). A avaliação dos tálamos, corpo estriado e dos hipocampus, por exemplo, podem ser úteis na distinção de doença de Parkinson, doença de Alzheimer e atrofia frontotemporal⁵⁸.

Imagens convencionais de RM podem ser utilizadas para segmentar a substância negra e rastrear alterações volumétricas dentro dela. Entretanto, a segmentação da SN, especialmente da “*pars compacta*”, é um desafio para o desenvolvimento de novas ferramentas, devido a dificuldade em identificar as suas bordas⁵⁵. Diferentes estudos utilizaram diferentes técnicas para segmentar a SNpc e a SNpr.

As imagens sensíveis à neuromelanina são ponderadas em T1 e mostraram intensidade de sinal reduzida no *locus coeruleus* (LC) e na substância negra em pacientes com DP em comparação com controles saudáveis, provavelmente refletindo a perda de neurônios contendo neuromelanina nessa região⁵⁹. A neuromelanina é um subproduto da síntese de neurotransmissores que têm como base as monoaminas (tais como noradrenalina e dopamina). É distribuída principalmente dentro dos neurônios do LC e da SNpc. Durante o envelhecimento, o ferro total, a ferritina-H, a ferritina-L e as concentrações de neuromelanina aumentam na substância negra, enquanto que no *locus cereleus* apenas a neuromelanina aumenta, sendo a ferritinas e o ferro menores do que na SN e permanecem constantes durante toda a vida.

A neuromelanina possui as características da melanina cutânea e pode ter efeito de encurtamento T1 quando combinado com metais como ferro e cobre. Sequências ponderadas em T1 em RM 1,5 T, no entanto, não conseguiram detectar a neuromelanina, presumivelmente pela diferença desprezível do sinal em T1 entre esta e o tecido cerebral normal. Entretanto, um estudo⁵⁹ que utilizou uma sequência T1 *fast spin echo* com RM 3T conseguiu detectar com sucesso a neuromelanina no LC e na SNpc. A maior resolução espacial do campo 3T, a melhor relação sinal / ruído, assim como o prolongamento do tempo de relaxação T1 do tecido cerebral resultaram em um aumento da contraste relacionado à neuromelanina. Além disso, o *spin-eco* rápido tem inerentemente efeitos de transferência de magnetização, que também suprimem o sinal do tecido cerebral. Acreditamos que esses mecanismos atuam sinergicamente para melhorar a visualização da neuromelanina. No entanto, assim como nas demais sequências da RM estrutural, as imagens ponderadas T1 sensíveis a neuromelanina não representam uma ferramenta útil para discriminar entre as diferentes formas de síndromes parkinsonianas.

Outros estudos se baseavam na avaliação do tempo de relaxação T2 ⁶⁰, visto que a deposição do ferro que ocorre na “*pars compacta*” da SN afeta a intensidade de sinal, criando inomogeneidades do campo magnético. Isso resulta em um encurtamento do tempo de relaxação T2 das moléculas de água e queda do sinal dos tecidos afetados. As medições dos tempos de relaxamento T2 podem ser usadas para quantificar o grau de deposição do ferro no cérebro dos pacientes, podendo ser avaliados além da substância negra, o putame, núcleo caudado, globo pálido e núcleo subtalâmico na doença de Parkinson, apesar dos resultados conflitantes. Em contraste com o teor de ferro aumentado da substância negra, os resultados desse estudo⁶⁰ sugerem uma redução na deposição de ferro no putame e globo pálido dos pacientes com DP, que poderia ser por aumento da atividade metabólica nesses núcleos. De

acordo com o modelo etiopatogênico aceito atualmente, há um aumento da atividade das vias GABAérgicas do putame ao globo pálido na DP.

*Ziegler et al*⁶² descreveram um novo método multimodal de RM para visualizar a SNpc. Eles foram capazes de gerar múltiplas médias ponderadas em 4 sequências (multi-echo T1, multi-echo T2, 3D T2 SPACE turbo spin echo e 3D FLAIR). Eles alegaram que seu novo método foi capaz de delinear a SNpc em uma grande amostra de pacientes com DP (29 pacientes com DP e 27 voluntários sadios) e encontraram uma redução significativa no volume da SNpc nos estágios iniciais da doença ⁶².

A morfometria baseada em voxel (VBM) é um método pelo qual cada imagem cerebral é transformada espacialmente em um modelo comum e cada voxel dessas imagens é avaliado para determinar se existem diferenças significativas de intensidade das populações celulares. Na DP, seus resultados foram inconsistentes e pouco convincentes. Um estudo de *Tessa et al*⁶³ não encontrou diferenças nos volumes totais de substância cinzenta e de substância branca entre controles e pacientes com DP (pacientes recém-diagnosticados com DP ou pacientes que não recebem terapia com L-dopa)⁶³. *Lee et al*⁶⁴ descobriram que a fase precoce de DP sem demência está associada à redução volumétrica da substância cinzenta subcortical, mas não houve alterações significativas na substância cinzenta profunda⁶⁴. Pelo contrário, *Jia et al*⁶⁵ relataram um aumento no volume de substância cinzenta do giro orbitofrontal, córtex occipital, límbico / paralímbico e globo pálido interno / putame e uma diminuição no volume de substância cinzenta da rede frontotemporoparietal e das áreas caudadas bilaterais em cérebros DP quando comparados aos de controles saudáveis ⁶⁵.

3.6.4. AVALIAÇÃO DO DEPÓSITO DE FERRO

O ferro acumula no cérebro com o aumento da idade, principalmente em associação com a proteína de armazenamento ferritina. O ferro cerebral é muito baixo no nascimento, aumentando gradualmente até concentrações máximas no início da idade adulta no globo pálido, corpo estriado, substância negra (nigral) e núcleo rubro. Na doença de Parkinson, as medições diretas sugerem um aumento no ferro nigral⁶⁶.

No envelhecimento normal e na DP, a “*pars compacta*” da SN apresenta diminuição da neuromelanina, perda de neurônios dopaminérgicos pigmentados, aumento da ferritina (principalmente nos neurônios dopaminérgicos) e aumento do ferro nas formas de Fe (II) e Fe (III), levando a formação de radicais livres e peroxidação lipídica⁶⁷. Assim, a maioria dos estudos de RM na DP baseou-se nas mudanças na homeostase do ferro na substância negra desses pacientes.

Em 2014, *Cosottini et al* avaliaram a anatomia da SN em indivíduos saudáveis (n=13) e com DP (n=19) por meio de imagens adquiridas em RM 7 Tesla (7T) ⁶⁸. A RM 7T pode ser utilizada para aumentar a resolução espacial, explorando a maior relação sinal-ruído para melhorar a qualidade das imagens. Em particular, o uso de sequências GRE pode melhorar a caracterização dos núcleos que contêm ferro e neuromelanina, envolvidos na DP. Desta forma, por uma sequência de susceptibilidade magnética tridimensional com duração de 242 segundos, orientada no plano perpendicular ao IV ventrículo, 21,6 mm acima da junção pontomesencefálica, foi possível avaliar a SN dos pacientes (Figura 5).

Nível I

Nível II

Nível III

FIGURA 5: Representação da substância negra por RM. *MR Imaging of the Substantia Nigra at 7T Enables Diagnosis of Parkinson Disease. Cosottini M, et al. Radiology 2014* ⁶⁸. A linha superior representa a imagem tridimensional de susceptibilidade magnética da SN de um indivíduo sadio de 64 anos e a linha inferior um paciente com DP de 61 anos. No nível I (terço inferior do núcleo rubro), a SN aparece como uma estrutura homogeneamente hipointensa na parte medial do pedúnculo cerebral e lateralmente possui uma área oval hiperintensa (c1) entre as duas lâminas hipointensas. No nível II (decussação dos pedúnculos cerebelares superiores – e; crus cerebral - a), há uma organização trilaminar da SN, com uma camada central hiperintensa (c) entre duas lâminas de baixo sinal (b e d). No nível III (colículo inferior), observa-se um remanescente da lâmina dorsal hipointensa, enquanto a camada hiperintensa desaparece no pedúnculo cerebral isointenso. A linha inferior demonstra a perda da caracterização da estrutura oval hiperintensa nos níveis I e II.

No estudo de *Cosottini et al*⁶⁸, a SN aparece como uma estrutura homogeneamente hipointensa na parte medial do pedúnculo cerebral (no nível do núcleo rubro) e lateralmente possui uma área oval hiperintensa (c1) entre duas lâminas hipointensas. No nível II (plano da decussação dos pedúnculos cerebelares superiores), há uma organização trilaminar da SN, com uma camada central hiperintensa (c) entre duas lâminas de baixo sinal (b e d). Acredita-se que a camada hipointensa mais anterior (b) corresponderia à “*pars reticulada*” da SN, a camada hipointensa mais posterior corresponderia à porção *dorsalis* da *pars compacta* e a camada hiperintensa à porção *ventralis* da “*pars compacta*”, que corresponde ao nigrossoma 1. No nível III (colículo inferior), observa-se um remanescente da lâmina

dorsal hipointensa enquanto a camada hiperintensa desaparece no pedúnculo cerebral isointenso. A linha inferior (paciente com doença de Parkinson) demonstra a perda da caracterização da estrutura oval hiperintensa nos níveis I e II, que corresponde provavelmente à perda dos neurônios pigmentados do nigrossoma 1 (que já havia sido relatado por *Kwon et al* em 2012 ⁶⁹) ou ao aumento do depósito de ferro, que aumenta o efeito de susceptibilidade magnética ⁶⁸. Na doença de Parkinson, os níveis de depósito de ferro na “*pars compacta*” atingem o nível da “*pars reticulada*”, que geralmente é duas vezes maior. A crítica ao estudo de *Cosottini et al* ⁶⁸ seria o fato de as camadas internas da SN não terem sido correlacionadas com imuno-histoquímica e, portanto, a distribuição do ferro, os neurônios calbindina-negativos e a organização nigrossomal poderiam ser questionadas. Entretanto, no ano anterior de 2013, *Blazejewska et al* haviam correlacionado dados de RM 7T pós-mortem e de imuno-histoquímica em pacientes saudáveis e com DP e confirmado que a região oval hiperintensa na parte *ventralis* da “*pars compacta*” realmente corresponde ao nigrossoma ⁷⁰.

Logo em seguida, também em 2014, *Schwarz et al* ⁷¹ reproduziram os mesmos achados da RM 7T em RT 3T em 114 pacientes, descrevendo como a perda da aparência da “cauda de andorinha” (*swallow tail*) como a não caracterização da área de hipersinal correspondendo ao nigrossoma 1 ⁷¹. Esse achado apresentou uma acurácia diagnóstica de 91%, utilizando o diagnóstico clínico como padrão (Figuras 6 e 7).

Embora a perda do sinal da “cauda da andorinha” seja uma das únicas alterações por imagem que possa ser vista em pacientes com doença de Parkinson, ela definitivamente não é um biomarcador da doença. Esse sinal não é útil para diferenciar a doença de Parkinson com outras síndromes parkinsonianas, não se correlaciona com a gravidade da doença, muito menos apresenta relação com o tratamento da doença. Além disso, essa avaliação é bastante observador dependente,

não tendo boa reprodutibilidade entre os radiologistas e sendo extremamente dependente da qualidade da sequência utilizada.

FIGURA 6: Representação do sinal da “cauda da andorinha”. Adaptado de *The ‘Swallow Tail’ Appearance of the Healthy Nigrosome – A New Accurate Test of Parkinson’s Disease: A Case- Control and Retrospective Cross-Sectional MRI Study at 3T.* Schwarz ST, et al. *Plos One* 2014 ⁷¹. Corte axial de RM 3T no nível do nigrossoma 1. 1 – Núcleo rubro; 2 – tegmento mesencefálico; 3 – aqueduto; 4 – substância cinzenta periaquedutal; 5 – lemnisco medial; 6 – nigrossoma 1; 7 – substância negra; 8 – pedúnculo cerebral; 9 – corpo mamilar; 10 – fossa interpeduncular; 11 – radiação óptica; 12 – III ventrículo; 13 – lobo temporal; 14 – cerebelo; 15 – lobo frontal.

FIGURA 7: Sinal da “cauda da andorinha”. Adaptado de *The ‘Swallow Tail’ Appearance of the Healthy Nigrosome – A New Accurate Test of Parkinson’s Disease: A Case- Control and Retrospective Cross-Sectional MRI Study at 3T.* Schwarz ST, et al. Plos One 2014 ⁷¹. A e B: imagens da esquerda mostram ausência bilateral do sinal da “cauda de andorinha” em paciente com DP e as imagens da direita mostram pacientes sem DP com o sinal da “cauda de andorinha” bilateralmente.

3.6.5. DIFUSÃO / DTI

A difusão é um processo físico que envolve o movimento de translação das moléculas de água por meio de um movimento aleatório acionado termicamente, o chamado movimento browniano ⁷². A difusão é um processo 3D e pode ser isotrópica (onde não há direção preferencial para a difusão) ou anisotrópica (há uma direção preferencial)⁷³.

A imagem de ressonância magnética ponderada por difusão (DWI) é um método de imagem que utiliza a difusão de moléculas de água para gerar contraste em imagens de RM. Permite o mapeamento do processo de difusão de moléculas, principalmente da água, em tecidos *biológicos in vivo*, de maneira não-invasiva. A

difusão molecular nos tecidos não é livre, mas reflete interações com muitos obstáculos, como macromoléculas, fibras e membranas. Os padrões de difusão de moléculas de água podem, portanto, revelar detalhes microscópicos sobre a arquitetura dos tecidos, normais ou lesados¹⁰⁸.

Tradicionalmente, em imagens ponderadas em difusão (DWI), três direções de gradiente são aplicadas, suficientes para estimar o traço do tensor de difusão ou "difusividade média", uma medida representativa de edema¹⁰⁹. Clinicamente, essas imagens provaram ser muito úteis para diagnosticar os ataques vasculares cerebrais, por meio da detecção precoce do edema citotóxico.

A intensidade do sinal em imagens ponderadas em difusão (DWI) é inversamente proporcional à quantidade de difusão, que é conhecida como coeficiente de difusão aparente (ADC), de modo que os tecidos com ADC mais baixo aparecem hiperintensos em imagens de DWI. A difusão do cérebro reflete a integridade dos tratos de substância branca, estimando a difusividade média (DM). O grau de organização dos tecidos é inversamente proporcional à DM, de forma que, quanto maior a organização tecidual, menor será a DM.

Um tipo especial de difusão, difusão tensor imagem (DTI), tem sido amplamente utilizado para mapear a substância branca cerebral¹¹⁰. As varreduras DTI são mais extensas e derivam informação direcional do trato neural a partir dos dados utilizando algoritmos multidimensionais, com base em seis ou mais direções de gradiente, suficientes para calcular o tensor de difusão¹⁰⁹. Enquanto o modelo de difusão é um modelo simples do processo de difusão, assumindo homogeneidade e linearidade da difusão dentro de cada voxel de imagem¹⁰⁹, o maior conteúdo de informação de um voxel de DTI o torna extremamente sensível a doenças sutis no cérebro. Além disso, a informação direcional pode ser explorada em um nível mais alto de estrutura para selecionar e seguir tratos neurais - um processo chamado tratografia.

A anisotropia fracionada (FA) é um dos índices que podem ser derivados do DTI, indicando o grau de dependência orientacional ou a quantidade de desvio da isotropia das fibras (fornecendo uma medida da integridade das mesmas), onde os valores de FA variam de 0 (difusão isotrópica) a 1 (difusão anisotrópica). Na substância branca normal, as moléculas de água são limitadas nas direções da difusão, resultando em um alto valor de FA⁷⁴. Entretanto, na substância cinzenta, no líquido e na substância branca lesada, a difusão das moléculas de água tem uma direcionalidade bem menor, com menores valores de FA⁷⁴ – Figura 8. A perda de células neuronais resulta em uma perda de barreiras de difusão e de dependência orientacional, assim, em doenças neurodegenerativas, comumente observa-se redução da FA e aumento da DM.

FIGURA 8: Ilustração explicativa da sequência de difusão. A - A orientação das fibras de substância branca dita a direção preferencial da movimentação das moléculas de água. O movimento browniano das moléculas de água tende a ser preferencialmente ao longo da direção das fibras e não cruzando as mesmas. B - O coeficiente de difusão aparente é uma medida da difusão média em todas as direções, enquanto que a anisotropia fracionada (FA) é uma medida do quanto a difusividade difere nas direções. Na forma alongada (substância branca normal), os valores de FA aproximam-se de 1, e no caso esférico (difusividade igual em todas as direções) FA = 0. Portanto, quando as fibras de substância branca são danificadas, o valor de FA diminui.

Um elipsóide de difusão é completamente representado pelo tensor de difusão (Figura 9). A FA é calculada a partir dos autovalores (λ_1 , λ_2 e λ_3) do tensor de difusão, que dão a magnitude do pico naquela direção na qual o elipsóide tem seu maior eixo (autovetores).

Observe que se todos os autovalores são iguais, o que acontece em uma difusão isotrópica (esférica), como na água livre, a FA é 0. A FA pode atingir um valor máximo de 1 (isso raramente acontece em dados reais), caso em que o tensor de difusão tem apenas um autovalor não nulo e o elipsóide se reduz a uma linha na direção desse autovetor. Isto significa que a difusão está confinada somente a essa direção.

A substância branca altamente organizada tem FA elevada porque a difusão molecular da água é fortemente limitada perpendicularmente ao trato da fibra. Na SN, os valores de FA são consideravelmente mais baixos do que na substância branca.

FIGURA 9: Esquema do Tensor de Difusão.

$$FA = \sqrt{\frac{1}{2} \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2 + (\lambda_3 - \lambda_1)^2}}{\sqrt{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}}},$$

Na SN dos pacientes com DP, verificou-se que a redução dos valores de FA foi o achado mais comum em muitos estudos ^{76 77}, indicando uma alteração na propriedade anisotrópica desse tecido. Surpreendentemente, a redução dos valores de FA na SN foi inversamente proporcional à gravidade do quadro clínico. Esses estudos utilizaram pacientes com bastante comprometimento clínico e em uso de dopaminérgicos, além de terem sido realizados em RM 1,5T. Além disso, embora as diferenças entre os grupos tenham sido significativas nos estudos, em uma base individual, as medidas de FA não puderam identificar pacientes com DP de forma consistente.

Em 2009, *Vaillancourt et al* estudaram 28 pacientes (14 em estágio precoce da Doença de Parkinson e 14 voluntários sadios) com protocolo de DTI em RM 3T para avaliar as porções rostral, média e caudal da SN⁷⁸. A FA média foi menor na população com DP do que nos voluntários sadios, com uma sensibilidade e especificidade de 100% para distinguir esses pacientes. Além disso, eles viram que as maiores diferenças entre as FA foram nas porções caudais da SN, consistente com a região da SN onde há a maior perda dos neurônios dopaminérgicos ^{6 17}.

Diversos estudos de DTI avaliaram alterações em outras regiões do SNC na doença de Parkinson. A diminuição dos valores de FA nos lobos frontais, no joelho do corpo caloso e fascículo longitudinal superior foram relatados⁷⁹. Foram encontradas alterações no trato olfatório de pacientes com DP e, pacientes com anosmia, tiveram redução dos valores de FA nos tratos de substância branca próximos ao giro reto, em

comparação com pacientes sem disfunção olfatória, sugerindo que o teste olfatório combinado com DTI poderia ser um biomarcador útil na doença precoce⁸⁰.

Pacientes com doença de Parkinson e depressão têm menores valores de FA no tálamo medial dorsal do que aqueles sem depressão e esses valores estão inversamente correlacionados com a gravidade da depressão⁸¹.

3.6.6. RESSONÂNCIA MAGNÉTICA FUNCIONAL

Estudos de RM funcional (fMRI) investigam a atividade e a conectividade das áreas sensoriomotoras, utilizando, respectivamente, a análise relacionada à tarefa ou ao "estado de repouso – *resting state*", para compreender os mecanismos fisiopatológicos subjacentes às complicações motoras na fase avançada da DP.

A maioria dos estudos funcionais com tarefas mostrou ativação anormal em diferentes áreas das redes motoras em pacientes com DP precoce e tardia. Os achados anormais incluíram hipoativação na região sensoriomotora e hiperativação no cerebelo e outras regiões motoras corticais, como a área pré-motora, área motora primária e córtices parietais, em comparação com controles saudáveis pareados para a idade⁸⁸. As alterações funcionais reveladas pelos estudos com fMRI com tarefas também são úteis para avaliação dos mecanismos compensatórios da doença, porém podem ser confundidas com fato de que pacientes com DP têm dificuldade em realizar tarefas motoras.

Utilizar a fMRI em estado de repouso pode ser uma alternativa quando há dificuldade na realização das tarefas, comorbidades que impeçam o engajamento ativo (como apatia) ou alterações cognitivas. Ela fornece um índice de conectividade de todo

o cérebro. Os estudos demonstram uma integração funcional interrompida nos tratos corticostriatais, com maiores alterações de conectividade em redes ligadas à preparação e iniciação ao invés daqueles envolvidos na execução da atividade motora^{89 90}.

A DP leve a moderada está associada também com comprometimento da conectividade funcional nos circuitos cortico-estriatal-talamocortical e o tratamento crônico com levodopa é capaz de produzir um remapeamento espacial dessas redes⁹¹. Essas alterações podem explicar a melhora clínica associada à terapia dopaminérgica⁹¹. A extensão da atrofia cerebelar correlacionou-se com a diminuição da conectividade entre o cerebelo e as redes corticais em grande escala, mas com maior conectividade entre as redes cerebelíticas e frontoparietal⁹². A gravidade da deficiência motora dos pacientes foi predita por uma combinação de atrofia cerebelar e diminuição da conectividade cerebelar-sensoriomotora. Esses achados demonstram que a atrofia cerebelar está relacionada a ambos os aumentos e diminuições da conectividade cerebelar-cortical na DP, identificando possíveis alterações funcionais cerebelares associadas a déficits sensório-motores⁹².

3.6.7 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PRÓTONS E TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE FÓTON ÚNICO (PET/SPECT)

A imagem de radionuclídeos é utilizada para avaliação da função neuroquímica, incluindo a síntese, armazenamento, liberação e reabsorção de neurotransmissores. Pode também ser usada para avaliar metabolismo alterado e conectividade funcional. Estas propriedades são benéficas para o estudo de condições como a doença de

Parkinson, em que as alterações funcionais são de maior magnitude do que as alterações anatômicas.

A PET é uma tomografia obtida em um aparelho que detecta raios-gama como sinal para a formação das imagens. Os raios-gama são resultado da aniquilação de pósitrons emitidos pelos radioisótopos injetados no paciente. Os emissores de pósitrons mais utilizados são o Carbono-11, Flúor-18, Nitrogênio-13 e Oxigênio-15. O SPECT também é uma tomografia, só que obtida por meio da detecção de raios-gama emitidos diretamente pelos radioisótopos injetados nos pacientes. Em termos práticos, pode-se dizer que a qualidade da imagem é melhor na PET do que na SPECT, devido a melhor resolução espacial do sistema. Entretanto, as funções estudadas dos órgãos e sistemas são diferentes para cada método. Além disso, a disponibilidade dos isótopos emissores de pósitrons é menor por terem uma meia-vida muito curta, devendo ser produzidos próximo ao local de utilização ⁹⁶.

Desta forma, na doença de Parkinson, a PET é uma técnica de imagem nuclear que permite estimativas *in vivo* de importantes parâmetros fisiológicos, como a função terminal pré-sináptica da dopamina, a ligação pós-sináptica ao receptor da dopamina e o metabolismo da glicose, permitindo uma melhor compreensão da fisiopatologia desta desordem ⁹⁶.

Embora a PET seja altamente sensível para biomarcadores *in vivo* ao nível molecular, é incapaz de fornecer informações anatômicas exatas. Assim, as primeiras tentativas foram focadas em combinar a modalidade PET com a tomografia computadorizada (TC) em um scanner (PET-TC), para fornecer dados complementares funcionais e anatômicos. A PET-TC tem sido aplicada com sucesso e os resultados relatados foram superiores aos obtidos usando PET ou à TC sozinha. Entretanto, a TC envolve o uso de radiação ionizante e produz imagens de tecidos moles com menor resolução espacial do que a RM. Desta forma, o recém-emergente PET-RM híbrido

fornece informações anatômicas, funcionais, bioquímicas e metabólicas, mesmo no nível molecular e ajuda no diagnóstico e tratamento de doenças do SNC⁹⁷. Além disso, o coregistro PET-RM é útil na diferenciação clínica entre síndromes parkinsonianas, como a DP, paralisia supranuclear progressiva, atrofia de múltiplos sistemas e degeneração corticobasal (Figura 10). Talvez o aspecto mais inovador dessa modalidade híbrida seja a capacidade de combinar respostas neuroquímicas (PET) com ativação cerebral sob diferentes estímulos detectáveis com a fMRI ou outras medidas baseadas em ressonância magnética, como espectroscopia e conectividade anatômica. Esses instrumentos híbridos permitirão a investigação multidimensional da doença cerebral e levarão a uma compreensão mais precisa e diagnóstico precoce.

FIGURA 10: Ilustração da PET-RM. *PET/MR in Dementia and Other Neurodegenerative Diseases. Barthel H, et al. Seminars in Nuclear Medicine, 2015⁹⁸. Dois pacientes com síndromes parkinsonianas. A coluna da esquerda mostra SPECT com marcador do transportador da dopamina revelando déficits estriatais nos dois casos (A e B). A coluna do meio mostra uma sequência FLAIR revelando atrofia estriatal no primeiro caso, mas não no segundo. A coluna da direita mostra um PET-RM-18F-FDG mostrando déficits no consumo da glicose no corpo estriado e no tálamo no primeiro caso, provável paralisia supranuclear progressiva (A). O paciente B foi diagnosticado com doença de Parkinson.*

A aplicação mais aceita da PET e SPECT na doença de Parkinson é a avaliação da função da dopamina (DA)⁷⁵. A 18F-fluoro-L-dopa (18F-FDOPA) é convertida em 18F-fluorodopamina (18F-DA) pela L-aminoácido-descarboxilase (AAAD) e embalada em vesículas sinápticas. A 11C-di-hidrotetrabenazina (11C-DTBZ) ou seu análogo marcado com 18F marca o transportador de monoamina vesicular tipo 2 (VMAT2), que é responsável pela embalagem das monoaminas em vesículas sinápticas. Várias outras moléculas (principalmente semelhantes a cocaína) marcadas com 11C ou 18F (para PET) ou 123I ou 99mTc (para SPECT) avaliam a ligação do transportador de dopamina de membrana. Os receptores de dopamina podem ser estudados utilizando vários ligantes no PET e SPECT⁷⁵.

O transportador da dopamina (DAT) modula a concentração sináptica de dopamina nos terminais pré-sinápticos dos neurônios dopaminérgicos estriatais por meio de mecanismo elétrico acoplado ao Na⁺ e Cl⁻. Cerca de 70% da dopamina removida da fenda sináptica no corpo estriado ocorre por meio da recaptura pré-sináptica pelo DAT. Os outros 30% são metabolizados pela enzima catecol-O-metil-transferase (COMT). Na DP, há redução na densidade de DAT no corpo estriado devido à perda dos terminais dopaminérgicos. A redução na densidade de DAT ocorre mesmo antes do início dos sintomas da DP, pois evidencia-se redução de 40 a 60% na atividade dopaminérgica quando do aparecimento dos primeiros sintomas e, com a evolução da doença, os níveis de captação diminuem em até 90%⁹⁹. É por este motivo que a concentração de DAT na avaliação da perda de neurônios dopaminérgicos no corpo estriado, mais especificamente no putame, tem-se mostrado um parâmetro útil tanto no diagnóstico precoce da DP quanto no diagnóstico diferencial com outras doenças que induzem sintomas extrapiramidais.

A deficiência subclínica de dopamina também tem sido demonstrada usando imagens do transportador 18F-FDOPA com PET ou da dopamina com SPECT, em

indivíduos assintomáticos expostos à toxina nigral MPTP¹⁰⁰, em gêmeos de pacientes com doença de Parkinson¹⁰¹ e em indivíduos com condições associadas com risco aumentado de doença de Parkinson futuro, como anosmia ou distúrbio do comportamento do sono com movimento rápido dos olhos (REM)¹⁰². O PET também mostra baixa ligação do transportador de dopamina em portadores clinicamente não afetados de mutações em genes como LRRK2 que estão associados à herança dominante da doença de Parkinson¹⁰³.

A partir da década de 90, vários trabalhos com traçadores de DAT começaram a ser desenvolvidos. Estes radiotraçadores, derivados de compostos com afinidade pelo DTA, tais como cocaína e metilfenidato, possibilitam uma avaliação da densidade do DAT *in vivo* em humanos por meio da SPECT ou da PET. Estas técnicas de neuroimagem molecular passaram então a ter papel de grande importância na avaliação da densidade de DAT na DP, com utilidade clínica para o diagnóstico diferencial entre síndromes parkinsonianas, diagnóstico precoce e estadiamento da doença. O TRODAT-1 é um derivado tropano que quando marcado com Tecnécio⁹⁹ metaestável (^{99m}Tc) cruza a barreira hematoencefálica, possui elevada afinidade pelo DAT e é captado pela cintilografia em modo SPECT, produzindo imagem sítio-específica do DAT. Oferece grandes vantagens em relação aos outros traçadores, pois apresenta a mesma eficiência com custo muito menor. Os outros traçadores utilizam isótopos tais como [¹²³I] para SPECT e [¹¹C] e [¹⁸F] para PET, os quais têm pouca disponibilidade no Brasil e custo pelo menos 10 vezes maior quando comparado ao ^{99m}Tc.

Um estudo realizado no Brasil (Neuroimaging of the dopamine transporter in Parkinson's disease: first study using [^{99m}Tc]-TRODAT-1 and SPECT in Brazil²⁹) mostrou correlação negativa entre a densidade de DTA no corpo estriado e a gravidade das manifestações (estadiamento da escala HY), os escores da escala motora

(UPDRS) e o tempo de evolução da doença. Estes achados são compatíveis com os relatados por outros estudos de neuroimagem molecular²¹ e confirmam uma forte associação entre densidade de DAT no corpo estriado e a gravidade da DP. Estudos *post mortem* também confirmam uma diminuição de neurônios dopaminérgicos mais acentuada no putame do que no caudado nos estágios iniciais da DP²², o que parece se tornar mais uniforme em estágios mais avançados da doença²³. Em vista da considerável sensibilidade do método, a avaliação da densidade de DTA no corpo estriado por SPECT cerebral com TRODAT-1 mostra-se potencialmente útil na avaliação de estratégias terapêuticas neuroprotetoras na DP que eventualmente resultem em redução na taxa de perda neuronal. O último consenso para utilização de imagem de DTA sugere que estes métodos devem ser utilizados quando há dúvida diagnóstica e para utilização em pesquisas²⁴. Estes métodos devem ser validados prospectivamente para aplicações na clínica e para o diagnóstico precoce e estadiamento da doença¹⁰. Serviços de saúde particulares no Brasil já fazem uso dessa modalidade de neuroimagem.

As imagens de radionuclídeos também podem ser utilizadas para avaliar o fluxo sanguíneo cerebral (PET ou SPECT) ou o metabolismo da glicose (18F-fluorodeoxiglucose [18F-FDG] -PET). Embora a informação seja menos específica do ponto de vista neuroquímico do que a obtida com a função dopaminérgica, tais estudos podem oferecer informações úteis sobre padrões alterados de conectividade funcional em repouso e mudanças na ativação durante tarefas motoras ou comportamentais. A doença de Parkinson está associada ao aumento do metabolismo da glicose e do fluxo sanguíneo cerebral nos núcleos da base e cerebelo, e, simultaneamente, reduz o metabolismo e o fluxo em várias áreas do córtex cerebral, mesmo em estágios precoces subclínicos¹⁰⁴. Este padrão de covariância espacial é consistente, aumenta com a progressão da doença, diferencia a doença de Parkinson de outras síndromes

acinético-rígidas e responde a terapias incluindo medicação dopaminérgica, estimulação cerebral profunda e terapia genética¹⁰⁵.

Recentemente, foram desenvolvidos marcadores PET que visam sistemas neuroquímicos diferentes da dopamina. Estes podem ser úteis para estudar outras características da doença de Parkinson, particularmente as complicações-não motoras. Finalmente, alguns marcadores podem ajudar na avaliação de processos que contribuem para a fisiopatologia da doença de Parkinson ou suas complicações, como deposição anormal de proteínas ou neuroinflamação⁷⁵.

Apesar da utilidade potencial da imagem funcional como biomarcador na doença de Parkinson, os resultados devem ser interpretados com cautela. Embora haja um amplo consenso entre os vários marcadores da função dopamina e comprometimento da função motora (particularmente a bradicinesia), a maioria dos estudos não mostrou uma clara associação entre a mudança nos marcadores de imagem individuais e a mudança na função motora¹⁰⁶. Devem-se considerar as heterogeneidades de análise estatística, efeitos de confusão de medicação ou compensação, progressão em aspectos não dopaminérgicos da doença de Parkinson ou uma combinação desses fatores. Vários estudos têm relatado achados dispares entre a imagem e os resultados clínicos¹⁰⁷. Além disso, os métodos de imagem da Medicina Nuclear são exames invasivos, que exigem a injeção de radiofármacos, apresentam alto custo e baixa disponibilidade no mercado.

4. MÉTODOS

4.1 DESENHO DO ESTUDO

Esse foi um estudo prospectivo de caso controle, em que foram recrutados prospectivamente de setembro de 2012 a março de 2014, pacientes com doença de Parkinson, Tremor Essencial e voluntários sadios.

A aprovação do Comitê de Ética se deu em fevereiro de 2012.

Os Departamentos participantes foram: Departamentos de Radiologia e Medicina Diagnóstica por Imagem (INRAD – Instituto de Radiologia), Neurologia e Neurocirurgia da Faculdade de Medicina da USP; Departamento de Radiologia e Medicina Diagnóstica por Imagem do Hospital Israelita Albert Einstein e Centro de Matemática, Computação e Cognição (CMCC) da Universidade Federal do ABC.

Com o apoio financeiro da FAPESP (processo: 2011/18747-0), adquirimos uma bobina de 32 canais da Phillips para a aquisição das imagens no INRAD, que foi entregue em setembro de 2012 e cuja instalação levou 45 dias. Após os ajustes técnicos e primeiros testes, o primeiro paciente realizou o exame em fevereiro de 2013.

Os pacientes com doença de Parkinson foram encaminhados do ambulatório de doença de Parkinson do Hospital das Clínicas da FMUSP e da Associação Brasil-Parkinson. Os pacientes com tremor essencial vieram do ambulatório de triagem da neurologia do HC-FMUSP e das Unidades Básicas de Saúde, encaminhados por meio de profissionais da saúde colaboradores. Os voluntários sadios geralmente eram os acompanhantes desses pacientes.

Os pacientes realizaram uma ressonância magnética no Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE) e uma no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HC-FMUSP).

Além das avaliações por RM, também incluímos uma avaliação clínica neurológica e neuropsicológica.

Dentro desse fluxo relativamente complexo, em que os pacientes são avaliados em vários locais e por pessoas diferentes, optamos pela construção de um sistema

eletrônico de coleta de dados. Utilizamos o software *Open Clínica* (www.openclinica.com) que apresenta licença gratuita.

O sistema eletrônico de coleta de dados permite um grande avanço no processo de coleta, armazenamento e interpretação dos dados; validação dos questionários; *backup*; replicação de dados na nuvem e facilidade de gerenciamento, entre outras melhorias.

4.2 CASUÍSTICA

4.2.1 Ética

O estudo foi conduzido de acordo com os requerimentos do Comitê de Ética do HC-FMUSP que avaliou e aprovou o projeto da pesquisa e também seguiu as recomendações estabelecidas na Declaração de Helsinki (1964), revisada sete vezes, sendo sua última em Fortaleza (Ceará-Brasil) em outubro de 2013.

Todos os pacientes tiveram pleno conhecimento dos objetivos e métodos do experimento, assinaram o termo consentimento por escrito (termo de consentimento livre e esclarecido – Anexos 1 e 2) e avisados de que todas as informações fornecidas são estritamente sigilosas. Não houve gratificação para a participação no estudo.

4.2.2 Recrutamento dos pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios

Nosso objetivo inicial seria recrutar os pacientes do ambulatório de distúrbios do movimento do HC-FMUSP. Entretanto, pelo fato da DP ser uma desordem crônica, a grande maioria dos pacientes ambulatoriais em hospitais terciários estão em acompanhamento há muito tempo e já se encontram em estágios avançados da

doença (Hoehn e Yahr III e IV – Anexo 7), além de muitos possuírem comorbidades outras que dificultam a sua avaliação.

Portanto, contamos com a colaboração do Dr. Luciano Magalhães Melo (colaborador do grupo de Distúrbios do Movimento do HC-FMUSP) junto à Associação Brasil-Parkinson (www.parkinson.org.br). A maior parte dos pacientes que participam da associação estão no estágio inicial da doença (definido por meio das escalas de Escala de Hoehn e Yahr ; Anexo 7 e escala Unified Parkinson's Disease; Anexo 8). Esta foi uma forma eficaz de ampliarmos e concluirmos a busca por pacientes.

Pelo fato do tremor essencial ser uma doença “benigna”, poucos pacientes são efetivamente acompanhados no ambulatório de neurologia do HC-FMUSP. Embora esse seja o distúrbio de movimento mais comum, a maioria destes pacientes é encaminhada às Unidades Básicas de Saúde (UBS). Desta forma, conseguimos selecionar os pacientes com tremor essencial no ambulatório de triagem de distúrbios do movimento.

Assim, os pacientes foram prospectivamente recrutados de setembro de 2012 a março de 2014.

4.2.3 Critérios de Seleção

4.2.3.1 Critérios de Inclusão

- Critérios diagnósticos para doença de Parkinson idiopática do Banco de Cérebro da DP do Reino Unido (*UK Parkinson's Disease Brain Bank Criteria*) (Anexo 3)

- Critérios diagnósticos para Tremor Essencial da *Movement Disorders Society* (Anexo 4)
- Voluntários sadios submetidos ao exame neurológico (anamnese e exame físico) sem anormalidades.

4.2.3.2 Critérios de exclusão

- Pontuação no mini exame do estado mental abaixo de 21.
- Qualquer outra doença neurológica ou psiquiátrica concomitante.
- Qualquer contra-indicação ao estudo de ressonância magnética (Anexo 6)
- Doença orgânica grave não controlada que possa interferir na condução do estudo, como neoplasias, cardiopatias, doenças digestivas, diabetes mellitus tipo I ou tipo II.
- Qualquer outra condição que na opinião do investigador responsável torne problemática a inclusão do paciente em um ensaio dessa natureza, assim como pacientes que não aderem ou não cooperam.
- Achado de alteração estrutural nas imagens de ressonância magnética, mesmo que assintomático (meningioma, cisto aracnoide). Não foram excluídos pacientes que apresentavam achados habituais na faixa etária, tais como sinais de redução volumétrica encefálica ou focos inespecíficos de alteração do sinal da substância branca.

4.2.4 Avaliação clínica neurológica

Um neurologista com mais de 5 anos iniciais de experiência, cego para os resultados dos exames de imagem, realizou os exames neurológicos. As avaliações de pacientes com DP, que foram realizadas durante o uso de medicação, incluíram o mini exame do estado mental (Anexo 5), Escala de Hoehn e Yahr (HY – Anexo 7) e a escala Unified Parkinson's Disease (UPDRS – Anexo 8).

4.3 Ressonância Magnética

4.3.1 Equipamentos

Os participantes foram submetidos a dois exames de RM de 3,0T usando equipamentos com bobinas de cabeça de 32 canais, sendo uma Phillips no Hospital das Clínicas da FMUSP e uma Siemens no HIAE.

Os exames foram realizados em locais diferentes e os resultados individuais eram coletados em 2 semanas. Primeiramente, os participantes foram submetidos a um exame em um scanner Siemens Trio com força de gradiente de 45 mT/m. O segundo exame foi realizado no HC-FMUSP, em um scanner Achieva (Philips Medical Systems, Best, Holanda), com uma resistência ao gradiente de 80 mT/m, tendo sido realizado no período de 2 semanas após o primeiro. Para evitar artefatos de movimento, os pacientes com DP foram avaliados em uso de medicações.

4.3.2 Segurança

Todos os pacientes foram entrevistados pelos médicos pesquisadores para avaliação de quaisquer contra-indicações para a realização do exame (Anexo 6).

4.3.3 Posicionamento dos Pacientes

Para o exame de RM, foram adotadas medidas de contenção leve de movimentos para melhor qualidade técnica, de forma a minimizar artefatos decorrentes de movimentação. Tais medidas constam de duas fitas adesivas na fronte e coxins de espuma nas laterais, propiciando boa imobilização do segmento cefálico, sem causar desconforto. Todos os participantes foram orientados a permanecerem imóveis, principalmente no segmento cefálico, durante a aquisição das imagens.

4.3.4 Aquisição do DTI

Para produzirmos os melhores resultados, em ambos os aparelhos de RM, implementamos um protocolo de imagem similar ao utilizado por *Vaillancourt et al*⁷⁸, pois este autor relatou a maior capacidade discriminatória: aquisição axial, tempo de repetição (TR) 4500 ms, tempo de eco 82 ms, valores de b 0 e 1.000 s / mm², 30 direções de gradiente de difusão, campo de visão 20 cm x 20 cm, matriz 128 x 128 (interpolação de espaço k para 256 x 256), número de excitações 4, espessura de corte 4 mm e intervalo de corte 1 mm.

4.3.5 Análise do DTI

Neste estudo, a FA foi calculada utilizando-se a caixa de ferramentas de difusão FMRIB (FDT) no FSL 5.5.0 (um componente da biblioteca de software FMRIB, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>). O pré-processamento do DTI consistiu em correção de

movimento, registro afim e procedimentos para reduzir os efeitos de correntes, seguido pelo cálculo dos mapas paramétricos do tensor de difusão.

4.3.6 Metodologia para desenho dos ROIs

Dois neurorradiologistas com mais de 5 anos de experiência, cegos ao diagnóstico clínico, colocaram manualmente um ROI na porção caudal e dorsal da substância negra de cada lado, reproduzindo a avaliação de *Vaillancourt et al*⁷⁸ e depois foi calculada a média dos dois valores.

A Figura 14 mostra, em A, a imagem B0 (essencialmente uma imagem ponderada em T2) para localização do núcleo rubro e da substância negra. Em B, a imagem B0 em um corte inferior (4 mm). Em C, mapa de FA. Em D, o mapa de cores. A “*pars compacta*” da SN é difícil de ser diferenciada da “*pars reticulada*” usando imagens ponderadas em T2 *in vivo*, e, portanto, as regiões são interpretadas como parte da SN e não apenas na “*pars compacta*”. Além disso, estudos anteriores indicaram que a parte rostral da área hipointensa da SN inclui tanto o pedúnculo cerebral como a SN¹¹. Assim, as diferenças entre os grupos podem ser menores nessa região do que na região caudal, onde a perda de células na DP é mais proeminente⁶.

FIGURA 11: Metodologia para desenho do ROI na substância negra. Em A, a imagem B0 (essencialmente uma imagem ponderada em T2) para localização do núcleo rubro e da substância negra. Em B, a imagem B0 em um corte inferior (4 mm). Em C, mapa de FA e em D, o mapa de cores, utilizados para garantir que o ROI não estivesse no pedúnculo cerebral mais lateralmente. Em E, os ROIS nas posições rostral, média e caudal.

Cada ROI tinha quatro voxels de diâmetro, e cada voxel era de 0,781 mm. Isto proporciona um volume de ROI igual a 30,6 mm³ Primeiramente, na imagem B0, identificamos o núcleo rubro (Figura 11A). Em seguida, movemos um corte inferiormente porque grande parte da SN está abaixo do plano do núcleo rubro. Nesse corte, a substância negra era sempre visível e o núcleo rubro já não era mais visível ou pouco visível (Figura 11B). Logo em seguida, utilizamos o ROI na porção caudal (dorsal) da SN (Figura 11E), evitando as localizações média e rostral utilizadas por *Vaillancourt et al*⁷⁸, de forma a sensibilizar mais o exame, de acordo com os conhecimentos patológicos e resultados de estudos pregressos^{6 78}. Utilizamos o mapa de FA e o mapa de cores (Figura 11, C e D) para garantir que nosso ROI não estivesse no pedúnculo cerebral mais lateralmente.

Da média dos dois ROIs caudais foi extraída a FA (FA-SN, da mesma forma com que *Vaillancourt et al*⁷⁸ fizeram. O valor médio do ROI esquerdo e direito foi utilizado na análise estatística.

O ROI foi selecionado de forma independente pelos dois neurorradiologistas. Ambos os pesquisadores concordaram com o método comum que foi descrito acima.

4.4 Análise Estatística

O software estatístico utilizado foi R (<http://www.R-project.org> - incluindo os pacotes pROC, lme4, mada e metaphor), de acordo com as recomendações da "Quantitative Imaging Biomarker Alliance" (QIBA) ¹¹².

O (QIBA) foi um consórcio multidisciplinar patrocinado pelo RSNA em 2007 que uniu pesquisadores, profissionais de saúde e a indústria para um avanço na imagem quantitativa e na utilização de biomarcadores de imagem em ensaios clínicos e na prática clínica. Essa Sociedade está empenhada em transformar o cuidado dos pacientes, fazendo da radiologia uma ciência mais quantitativa. Desta forma, foram definidos critérios a serem utilizados nos processos que implementam os métodos de imagem quantitativos, para que essas medidas sejam confiáveis e reproduzíveis. Um perfil QIBA inclui fatores como normas técnicas (específicas do produto), atividades do usuário e relações com uma métrica clinicamente significativa. Por meio de um processo de experimentação, revisão de literatura e montagem de opinião de especialistas, as evidências mais fortes foram usadas para definir como implementar melhor cada etapa no processo de aquisição e avaliação da imagem. Esta abordagem sistemática para implementar um biomarcador de imagem quantitativo com especificações padronizadas para aquisição de imagem e pós-processamento resulta em características consistentes de desempenho da medida (por exemplo, viés e variância).

4.4.1 Acurácia Diagnóstica

O diagnóstico clínico de DP e TE foi o padrão de referência. Apesar das imperfeições no diagnóstico clínico, é o melhor método disponível para o diagnóstico de ambas as doenças. As curvas ROC foram calculadas para cada local e radiologista.

O tamanho da amostra foi estimado de acordo com Obuchowski & McClish. Assumimos uma área sob a curva ROC de pelo menos 0,65, um nível de significância de 5% e 80% de poder. Este cálculo estimou uma amostra de 55 indivíduos em cada grupo.

4.4.2 Modelo Linear

Para estimar os efeitos do local/RM, do radiologista, sexo e grupo (DP, TE ou VS) sobre a FA média da SN, utilizou-se um modelo linear de efeitos mistos que incluiu possíveis efeitos de interação local-radiologista e local-sujeito. De acordo com as diretrizes do QIBA, o local, o sujeito e seus efeitos de interação foram modelados como efeitos aleatórios, enquanto gênero, grupo de doenças e radiologista foram modelados como efeitos fixos.

4.4.2.1 Reprodutibilidade

Calculamos o viés e os limites de 95% de concordância (LOA) para os fatores locais e radiologista. Um gráfico de Bland-Altman foi utilizado para avaliar a variância e o viés de concordância.

4.4.3 Meta-análise

Para identificar literatura relevante, foram pesquisados PubMed, Science Direct e EMBASE (Anexo 9). Dois revisores avaliaram todos os achados de pesquisa por meio de uma tela de elegibilidade de títulos e resumos. Um artigo foi considerado potencialmente elegível se medidas de difusão quantitativa foram relatadas no resumo, em uma população de pacientes voluntários sadios e com doença de Parkinson. Foram obtidas versões em texto integral de artigos potencialmente elegíveis para avaliação posterior.

Incluímos todos os estudos revisados em inglês que relataram o valor médio da FA na SN e sua variabilidade em pacientes com DP e voluntários sadios (VS). Foram excluídos os artigos que utilizaram comparações baseadas em voxel, modelos animais e aqueles sem um grupo de voluntários sadios. Se os valores de FA só estivessem disponíveis na forma de uma figura, os valores foram extraídos por meio de medição manual. Para os estudos que relataram diferentes regiões da SN, foram incluídos os resultados para a região SN mais próxima da SN caudal / dorsal, uma vez que esta região foi avaliada em nossa amostra e foi relatada como a mais precisa para distinguir pacientes com DP de VS. Usando um formulário estruturado, extraímos os seguintes dados dos artigos: primeiro autor, data de publicação, revista, campo do magneto e fabricante, número de direções de gradiente de codificação de difusão, intensidade de campo principal, valores de b , software usado para estimar parâmetros de DTI, média e variabilidade da FA-SN, número de pacientes com DP e VS, distribuição de idade e sexo, escore UPDRS, escore HY e duração da doença. Estes dados são apresentados em tabelas. A primeira medida foi considerada em estudos que realizaram seguimento no mesmo grupo de pacientes. Os critérios QUADAS 2¹¹³ foram empregados para avaliar a qualidade de cada estudo (Anexo 10).

Para cada estudo, realizamos uma análise de curva de características de operação de receptor (ROC) binormal para estimar a curva ROC e atribuir valores ótimos para especificidade e sensibilidade. Para resumir os resultados de acurácia diagnóstica dos estudos selecionados, aplicamos um modelo bivariado¹¹⁴. Testes de igualdade, de sensibilidades e especificidades foram realizados para determinar a heterogeneidade geral no desempenho diagnóstico.

Além disso, estimamos a média da FA-SN dos pacientes com DP e VS e a diferença entre esses dois valores. Um diagrama de funil (*funnel plot*) e um teste de regressão linear (*linear regression test*) para assimetria foram usados para abordar o viés de publicação. Determinamos a heterogeneidade entre os estudos utilizando a estatística I^2 , que representa a porcentagem da variabilidade total resultante da heterogeneidade do estudo. A análise de sensibilidade (“deixar um fora”) foi realizada para avaliar a robustez dos achados.

5. RESULTADOS

5.1 ESTUDO DE CASO-CONTROLE

5.1.1 RESULTADOS DEMOGRÁFICOS

Foram recrutados prospectivamente 143 pacientes de setembro de 2012 a março de 2014, sendo que 06 pacientes não conseguiram completar o fluxograma das avaliações clínicas e dos exames de imagens. Três pacientes realizaram apenas a primeira ressonância magnética e alegaram que não conseguiriam retornar ao hospital para realizar o outro exame de imagem e as consultas clínicas. Três pacientes foram excluídos por intensos artefatos de movimentação na aquisição das imagens.

Nossa amostra de conveniência consistiu de 135 indivíduos: 72 pacientes com DP idiopática (DP), 21 pacientes com tremor essencial (TE) e 42 voluntários sadios (VS). A Tabela 2 mostra as características clínicas e demográficas dos pacientes da nossa amostra.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E DEMOGRÁFICAS			
	Pacientes com doença de Parkinson	Pacientes com tremor essencial	Voluntários sadios
Sujeitos	72	21	42
Idade (anos)	62,6 (11,2)	68,4 (6,3)	64,3 (11,5)
Educação	9,3	9,5	10,0
Sexo *	73,6 %	28,5 %	26,19 %
Escore HY	I – 7 II – 65	–	–
Escore UPDRS	28,7 (14,11)	–	–
LED (mg)	706 (404)	–	–
Duração da doença (anos)	5,7	–	–

*TABELA 2: Características clínicas e demográficas da população do estudo de caso-controle. *Sexo: percentagem de homens; HY: Escala de Hoehn and Yahr; UPDRS: Escala Unified Parkinson's Disease Rating; LED: dose equivalente de levodopa (mg); duração da doença: tempo desde o diagnóstico em anos.*

A natureza de conveniência de nossa amostra resultou em um desequilíbrio no gênero entre os grupos. Esta variável foi incluída como covariável na análise estatística. Durante a coleta de dados, não foram relatados efeitos adversos ou acidentes.

5.1.2 ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DA FA NA SUBSTÂNCIA NEGRA

Na nossa amostra, a FA-SN não foi suficiente para distinguir os grupos (a área sob a curva ROC não foi significativamente diferente de 0,5).

5.1.2.1 Modelo linear

O valor médio estimado de FA-SN foi de 0,40. A análise de efeitos fixos mostrou que o sexo masculino aumentou a média de FA-SN em 0,017 (p-value: 0,05). Não houve efeito significativo da doença ou do radiologista. O desvio padrão estimado da interação sítio-sujeito foi 0,0439 (IC: 0,036 - 0,052) (Tabela 3). Os resultados do diagnóstico não mostraram nenhuma evidência de violação dos pressupostos do modelo.

Resultados Modelo Linear					
	Coeficiente Estimado	Intervalo de Confiança 95 %		t-value	p-value
	(Desvio padrão)	Limite Inferior	Limite superior		
Variáveis Efeito-Fixo					
Intercepto	0,400 (0,010)	0,379	0,420	38,47	<0,01
Masculino**	0,017 (0,008)	0,001	0,035	1,91	0,05
Doença de Parkinson	0,006 (0,009)	-0,010	0,025	0,65	0,25
Tremor Essencial	-0,017 (0,012)	-0,045	0,003	-1,66	0,09
Variáveis Efeito-Aleatório					
	DP estimado				
Sujeito	0,0235	0,000	0,034		
Local	0,0090	0,000	0,015		
Radiologista	0,0000	0,000	0,010		
Interação local-sujeito **	0,0439	0,036	0,052		
Interação local-radiologista	0,0088	0,000	0,014		
Resíduos	0,0553	0,053	0,058		

TABELA 3: Resultados do modelo linear. O sexo apresentou um efeito significativo estatístico sobre a FA. O efeito da doença de Parkinson não foi significativo. Os pacientes com tremor essencial apresentaram tendência a redução da FA em relação aos controles saudáveis. O componente mais importante da variância foi a interação sítio-sujeito.

5.1.2.2 Reprodutibilidade

Entre os locais, o viés estimado foi de 0,01 e os LOA de 95% foram 0,18 e 0,21. Não observamos viés significativo entre radiologistas, com estimativa de 95% de LOA de -0,15 e 0,15 – Gráfico 1.

CONCORDÂNCIA ENTRE RADIOLOGISTAS

A Média da anisotropia fracionada (FA) na substância negra (SN)

CONCORDÂNCIA ENTRE LOCAIS

B Média da anisotropia fracionada (FA) na substância negra (SN)

GRÁFICO 1: A: Gráfico de Bland-Altman mostrando o grau de concordância entre radiologistas (concordância inter-observador). Nenhum viés significativo foi encontrado. Os intervalos de confiança estimados de 95% variaram de -0,15 a 0,15. B: Gráfico de Bland-Altman mostrando o grau de acordo entre os locais. O viés foi estimado em 0,01. Os intervalos de confiança estimados de 95% variaram de -0,18 a 0,21.

5.2 Meta-análise

De acordo com as diretrizes do PRISMA, a Figura 15 relata um fluxograma do protocolo de seleção do estudo. Nosso conjunto final (última pesquisa realizada em setembro de 2016), incluiu 22 artigos publicados entre 2007 e 2016 e os nossos próprios dados. Desta forma, nossa população estudada constitui-se de 1549 indivíduos compostos de 896 pacientes com DP e 653 VS.

Os dados clínicos e demográficos dos estudos abordados em nossa revisão sistemática estão na Tabela 4.

FIGURA 12: Fluxograma do protocolo de seleção dos estudos – diretrizes PRISMA

Estudo		Características Clínicas e Demográficas										Média e Desvio Padrão da FN-SN	
Primeiro Autor	Ano	Pacientes com Doença de Parkinson (DP)					Controles Sadios (VS)					DP	VS
		Tamanho da Amostra	Idade	Masc %	UPDRS III	HY	LED	Anos de doença	Tamanho da Amostra	Idade	Masc %		
Chan	2007	73	63.6 (9.8)	56 %	—	2.4	398.8 (175.2)	5.0 (4.1)	78	61.9 (9.3)	51.3 %	0.40 (0.04)	0.41 (0.04)
Vaillancourt	2009	14	57.2 (9.6)	57 %	18 (8.1)	1.7	—	1.3 (0.9)	14	58 (—)	—	0.42 (0.05)	0.57 (0.05)
Menk	2009	10	63.7 (6.7)	70 %	—	2.3	—	6.1 (4.4)	10	64.4 (9.9)	70 %	0.35 (0.07)	0.37 (0.07)
Peran	2010	30	61.9 (11.1)	66 %	12 (6)	1.6	886.8 (399.5)	4.5 (2.5)	22	57.4 (9.7)	50 %	0.42 (0.03)	0.46 (0.03)
Rolheiser	2011	14	56.0 (4.8)	57 %	—	1.3	—	2.5 (1.5)	14	55.2 (6.2)	57 %	0.42 (0.02)	0.45 (0.02)
Wang	2011	30	64.5 (3.4)	63 %	33.6 (14.1)	2	—	5.2 (2.0)	30	65.0 (5.1)	60 %	0.45 (0.06)	0.43 (0.06)
Zhan	2012	12	67.4 (8.0)	100 %	26.3 (12.2)	—	—	—	20	67.2 (8.0)	100 %	0.36 (0.05)	0.49 (0.06)
Prakash	2012	11	60.4 (9.3)	36 %	23.5 (9.5)	2.1	—	5.7 (4.2)	12	60.8 (8.5)	50 %	0.42 (0.04)	0.43 (0.03)
Du	2012	40	60.8 (8.2)	57 %	23.5 (15.1)	1.7	528 (401)	4.2 (4.7)	28	59.8 (7.0)	46 %	0.48 (0.05)	0.51 (0.05)
Skorpil	2012	14	64 (—)*	57 %	32.1 (6.0)	1.75	669 (318)	—	15	60 (—)*	60 %	0.37 (0.05)	0.41 (0.05)
Schwarz	2013	32	64.8 (11.8)	50 %	26.1 (13.9)	1.7	—	—	27	59.9 (10.5)	40 %	0.44 (0.05)	0.45 (0.05)
Scherfler	2013	16	68.1 (6.1)	37 %	20 (10.3)	2.3	—	3.7 (3.7)	14	67.3 (3.7)	42 %	0.53 (0.07)	0.59 (0.09)
Perea	2013	12	67.5 (4.0)	41 %	19.5 (7.1)	—	—	6.38 (4.19)	13	71.5 (7.45)	46 %	0.52 (0.05)	0.59 (0.04)
Chan	2014	21	72.0 (4.8)	80 %	—	2.2	—	—	19	71.5 (5.0)	84 %	0.51 (0.10)	0.53 (0.05)
Lenfeldt	2015	122	70.3 (9.7)	61 %	26.1 (10.6)	2.2	—	2.1 (2.0)	34	68.9 (6.1)	47 %	0.44 (0.07)	0.39 (0.07)
Jiang	2015	31	69.4 (8.0)	52 %	—	—	—	4.4	34	69.3 (8.0)	—	0.54 (0.06)	0.58 (0.08)
Schuff	2015	153	61.0 (10)	63 %	36.0 (14.0)	1.6 (0.5)	—	—	67	60. (—)	66 %	0.50 (0.07)	—
Zang	2015	72	66.8 (5.4)	36 %	14.94 (3.6)	1.6 (1.2)	—	1.1	73	66.0 (6.7)	38 %	0.33 (0.02)	0.41 (0.03)
Langley	2016	20	60.3 (8.4)	—	23.2 (9.3)	—	—	—	17	70.8 (5.1)	—	0.36 (0.03)	0.37 (0.03)
Nagae	2016	21	61.1 (7.7)	55 %	—	2.2 (0.7)	505.4 (366.7)	5.5 (3.4)	20	61.1 (9.0)	55 %	0.62 (0.06)	0.65 (0.06)
Loane	2016	18	56.8 (6.8)	67 %	26.2 (9.2)	—	471.1 (251.4)	3.9 (2.2)	14	56.32 (6.45)	71 %	0.48 (0.04)	0.47 (0.03)
Kamagata	2016	58	68.8 (7.5)	55 %	18.0 (8.5)	2.5 (0.7)	—	7.3	36	70.8 (8.4)	50 %	0.44 (0.04)	0.47 (0.04)
(This study)	2016	72	62.6 (11.2)	73 %	28.7 (14.1)	1.9	706 (404)	5.7 (5.5)	42	64.3 (11.5)	26 %	0.42 (0.06)	0.41 (0.05)

TABELA 4: Detalhamento das características clínicas e demográficas de cada estudo incluído na revisão sistemática. UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale; HY: Hoeh and Yahr; LED: dose equivalente de levodopa

Usando um modelo de efeitos aleatórios para considerar a variabilidade do estudo, a média da FA-SN dos pacientes com DP foi de 0,44 (IC: 0,41-0,46), mas observou-se heterogeneidade de estudo muito grande ($I^2 = 96\%$). Um resultado semelhante foi encontrado nos VS: a média da FA-SN foi de 0,47 (IC: 0,44 - 0,50) e grande heterogeneidade do estudo ($I^2 = 98\%$) foi observada (Gráfico 2).

FA DA SUBSTÂNCIA NEGRA DOS PACIENTES SADIOS

GRÁFICO 2: Forest Plots para voluntários sadios. A média de FA-SN em voluntários sadios com FA-SN de 0,47 (IC: 0,44 - 0,50) com grande heterogeneidade de estudo ($I^2 = 99,1\%$).

FA DA SUBSTÂNCIA NEGRA DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON

GRÁFICO 3: Forest Plots para pacientes com doença de Parkinson. A média de FA-SN na DP foi de 0,44 (IC: 0,41-0,47), mas observou-se heterogeneidade de estudo muito grande ($I^2 = 98,8\%$).

Além disso, houve uma diferença pequena, mas significativa, na média FA-SN entre os grupos. Os pacientes com DP apresentaram uma diminuição da FA-SN de 0,03 (CI: 0,01 - 0,06) em relação aos VS (Gráfico 3). Houve grande heterogeneidade entre os resultados do estudo ($I^2 = 92\%$). Um gráfico em funil e um teste de regressão linear para assimetria não mostraram evidências de viés de publicação (p -value: 0,27).

DIFERENÇA DA FA MÉDIA DA SUBSTÂNCIA NEGRA DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON E VOLUNTÁRIOS SADIOS

GRÁFICO 4: Diferença das anisotropias fracionadas na substância negra dos pacientes com DP e VS – Raw Mean Difference Forest Plot (IC 95%). Usando um modelo de efeito aleatório para explicar a variabilidade do estudo, nossa meta-análise mostrou uma pequena, mas significativa, diferença média entre os grupos. Incluímos então 22 estudos, resumindo uma população de 1549 indivíduos compostos de 896 pacientes com DP e 653 VS. O grupo com DP mostrou uma diminuição de 0,03 na FA-SN (intervalo de confiança: 0,01 a 0,05), entretanto, houve uma grande heterogeneidade entre os resultados do estudo ($I^2 = 91,9\%$).

Para abordar as causas potenciais deste altíssimo nível de variabilidade, realizou-se uma meta-regressão exploratória utilizando as seguintes variáveis explicativas: intensidade de campo, número de direções de difusão de codificação e valor b (Tabela 5). Nenhum desses fatores contribuiu significativamente para a diferença média entre os grupos.

Estudo		Parâmetros Técnicos							
Primeiro Autor	Ano	Aparelho	Campo	Número de direções	Tamanho do voxel (mm ³)	Matriz	Valor b	ROI	Software
Chan ¹⁵⁰	2007	Siemens	1.5	12	1,2 x 1,2 x 4,0	192 x 192	800	Manual	Not Reported
		Signa HDx GE	3	27	0,8 x 0,8 x 4,0	256 x 256	1000	Manual	DTIStudio
Vaillancourt ⁷⁸	2009	Siemens	3	60	2,0 x 2,0 x 2,0	---	1000	Semi-manual	FSL 4.1
Menke ¹²⁷	2010	Siemens Allegra	3	30	1,8 x 1,8 x 1,8	128 x 128	1000	Manual	FSL 4.1
Peran ¹²⁶	2010	GE	1.5	31	2,0 x 2,0 x 3,0	128 x 128	900	Semi-manual	FSL 4.1
Rolheiser ¹³⁸	2011	Siemens Trio	3	64	2,0 x 2,0 x 4,0	128 x 128	1000	Manual	Matlab 7.8
Wang ¹⁰⁹	2011	Siemens	4	6	2,0 x 2,0 x 3,0	128 x 128	1000	Manual	FSL 4.1
Zhan ¹³⁹	2012	Phillips	3	16	0,9 x 0,9 x 3,0	256 x 256	800	Manual	DTIStudio
Prakash ¹⁴⁰	2012	Siemens	3	42	2,0 x 2,0 x 2,0	128 x 128	1000	Manual	DTIprep
Du ¹⁴¹	2012	Phillips Gyroscan Intera	1.5	32	1,8 x 1,8 x 3,0	128 x 128*	900	Manual	FSL
Skorpil ¹⁴²	2012	Phillips Achieva	3	32	2,0 x 2,0 x 2,0	112 x 112	1000	Manual	FSL 4.1
Schwarz ⁷¹	2013	Siemens	1.5	12	1,8 x 1,8 x 3,0	128 x 128*	1000	Semi-manual	
Scherfler ¹⁴³	2013	Allegra	3	36	2,3 x 2,3 x 2,0	128 x 128	800	Manual	Multiple Software (includingSPM)
Perea ¹⁴⁴	2013	Siemens	3	30	1,9 x 1,9 x 2,0	128 x 128	800	Manual	FSL 4.1.9
Chan ¹⁴⁵	2014	Phillips	3	16	1,8 x 1,8 x 3,0	96 x 96*	1100	Manual	Syngo (Siemens)
Lenfeldt ¹⁴⁶	2015	GE	3	30	1,8 x 1,8 x 5,0	130 x 128	1000	Manual	FSL
Jiang ¹⁴⁷	2015	Siemens	3	64	2,0 x 2,0 x 2,0	128 x 128	1000	Manual	FSL
Schuff ¹⁴⁸	2015	GE	3	25	-	128 x 128	1000	Manual	ADW 4.5 Functool
Zhang ¹³³	2015	Siemens	3	64	2,0 x 2,0 x 2,0	106 x 106	1000	Manual	MATLAB / FSL
Langley ¹³⁴	2016	GE	3	32	-	128 x 128	1000	Semi-manual	FSL
Nagae ¹³⁵	2016	Siemens	3	64	1,8 x 1,8 x 1,9	128 x 128	1000	Manual	Matlab
Loane ¹³⁶	2016	Phillips	3	32	-	112 x 112	1000	Manual	
Kamagata ¹³⁷	2016	Siemens and Phillips	3	30	0,8 x 0,8 x 4,0	128 x 128*	1000	Manual	FSL
(Esse estudo)	2016								

TABELA 5: Parâmetros técnicos para cada estudo incluído nesta meta-análise. Quando imagens adicionais foram usadas (usando análise automatizada) para colocar manualmente o ROI (região de interesse), consideramos o método como semi-manual. (*Interpolação do espaço k 256 x 256).

Dados de literatura indicam que pelo menos 20 direções de codificação de difusão são necessárias para uma estimativa robusta de anisotropia, mas que pelo menos 30 são necessários para uma estimativa robusta de orientação de tensor e difusividade média¹¹⁵. Exploramos o subconjunto de estudos que examinaram mais de 30 direções de codificação de difusão (15 estudos). Nesse subconjunto, os pacientes com DP apresentaram uma diminuição estatisticamente significativa na SN-FA de 0,02 (CI: 0,039 - 0,006) em relação aos VS. Consequentemente, a heterogeneidade foi menor, mas permaneceu grande ($I^2 = 72,5\%$) – Gráfico 4.

ESTUDOS COM MAIS DE 30 DIREÇÕES

GRÁFICO 5: Anisotropia Fracionada na Substância Negra – Raw Mean Difference (D) Forest Plot em estudos com mais de 30 direções. Neste subconjunto, houve uma pequena, mas significativa, diferença na média FA-SN entre os grupos. Os pacientes com DP apresentaram uma diminuição da SN-FA de 0,021 (IC: 0,033-0,010) em relação aos VS. Esse subconjunto incluiu 14 estudos e nossos próprios dados e observou-se uma diminuição significativa na heterogeneidade do estudo em comparação com o estudo completo, embora a heterogeneidade permanecesse alta ($I^2 = 67,1\%$).

Para a precisão diagnóstica (utilizando a hipótese de curva ROC binural), a sensibilidade e a especificidade combinadas foram 0,70 (IC: 0,65 - 0,74) e 0,63 (IC: 0,57 - 0,69), respectivamente (Gráfico 5). Verificou-se heterogeneidade não estatisticamente significativa nas sensibilidades (p-valor = 0,48), mas tendência de heterogeneidade significativa nas especificidades (p-valor = 0,06). A área estimada sob a curva (AUC) usando interpolação foi de 0,72. A correlação entre a sensibilidade e a taxa de falsos positivos foi estimada em -0,457 (IC: -0,777 - 0,050).

CURVA ROC – ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DA ANISOTROPIA FRACIONADA NA SUBSTÂNCIA NEGRA DOS PACIENTES COM DOENÇA DE PARKINSON

GRÁFICO 6: Curva de características operacionais (ROC) - Utilizando a abordagem do modelo bivariado, estimamos a sensibilidade e a especificidade combinadas usando 23 estudos. A sensibilidade e a especificidade estimadas foram respectivamente de 72% (IC: 68 - 75) e 63% (IC: 58 - 70). A área estimada sob a curva (AUC) usando interpolação foi 0,73. A correlação entre sensibilidades e taxas de falsos positivos foi estimada em -0,37 (IC: -0,69; 0,04).

6. DISCUSSÃO

Um biomarcador é considerado adequado para o diagnóstico de uma condição quando é reprodutível em vários centros e por diversos profissionais, por exemplo, radiologistas. Ele deve permitir o diagnóstico correto, com alta especificidade, distinguindo aquela condição de seus diagnósticos diferenciais. O biomarcador de uma doença também deve ser correlacionado diretamente com a progressão dos sintomas e com o tratamento dessa condição.

Existe um interesse crescente no desenvolvimento de um biomarcador seguro e acessível da doença de Parkinson para o diagnóstico precoce dos pacientes, visto que quando esses começam a apresentar sintomatologia motora, pelo menos 30% dos neurônios dopaminérgicos da substância negra já morreram. Além disso, um biomarcador seria útil para excluir outras doenças que muitas vezes são bastante semelhantes clinicamente à DP, mas refratárias ao tratamento convencional com levodopa, e também para facilitar ensaios sobre fatores modificadores da doença e possíveis profilaxias da doença.

As principais alterações anatômicas e funcionais induzidas pela doença de Parkinson podem ser representadas como um sistema em três níveis: mesencefálico (perda neuronal dopaminérgica), núcleos da base (denervação dopaminérgica) e cortical (reorganização funcional, também devido a perda das vias aferentes estriatais).

Trabalhos publicados recentemente afirmaram que mudanças na SN podem ser detectadas por meio de RM *ultra-high-field* 7T^{68 70}. Usando imagens de susceptibilidade magnética (GRE-SWI), os autores foram capazes de visualizar subpopulações de neurônios contendo dopamina dentro da SNpc. O maior grupo de células - nigrossoma 1 - foi claramente identificado no voluntário sadio como a área de alto sinal na SN caudal e lateral, devido ao baixo teor de ferro nessa região. Como resultado da deposição de ferro em pacientes com DP, o nigrossoma 1 não foi

identificado na ressonância magnética, permitindo o diagnóstico correto da doença. Estes resultados foram reproduzidos utilizando-se aparelhos 3T⁷¹. Essa característica também foi descrita em pacientes com outras síndromes parkinsonianas ¹³², sendo a sua contribuição mais importante a capacidade de distinguir pacientes com DP de voluntários sadios. Desta forma, esses dados não podem ser utilizados como biomarcadores da doença de Parkinson, visto que não são capazes de diferenciar essa doença de outras síndromes parkinsonianas secundárias, não têm relação direta com a gravidade da doença e não são capazes de fazer o diagnóstico precoce desses pacientes.

As medidas de difusão por RM avaliam o movimento aleatório de prótons de água em termos de extensão global (difusividade média, DM) e dependência orientacional (anisotropia fracionada, FA). A perda de células nos processos neurodegenerativos remove as barreiras de difusão e sua dependência orientacional, o que resulta em maior difusividade e anisotropia reduzida.

Muitos fatores podem levar a FA menor na substância negra como: menor densidade celular, maior diâmetro axonal, cruzamento de fibras¹²³ e até artefatos de movimento¹¹⁸. A deposição de ferro na SN dos pacientes com doença de Parkinson¹²⁴ dificulta ainda mais a interpretação da FA média menor nesses pacientes, visto que o ferro depositado interage com o campo magnético local e aumenta a FA, levando a viés nos resultados¹²⁵. O efeito do aumento do ferro nas medidas de DTI, como FA, é pouco compreendido, contudo, a maior deposição relacionada à idade foi também correlacionada significativamente com o aumento de FA na mesma região. Desta forma, a interação de muitos fatores como densidade celular, deposição de ferro e gliose alteram o ambiente microestrutural da SN em pacientes com DP, resultando em alterações nas medidas de difusão.

As análises histoquímicas de um modelo animal da doença de Parkinson

mostraram que o DTI pode ser utilizado para avaliar a degeneração nigroestriatal, medindo a redução da anisotropia fracionada na substância negra¹¹⁶. Vários outros estudos relataram alterações da FA nigral, DM ou do coeficiente aparente de difusão (ADC), usando delineação da substância negra manual ou semi-manual. Acurácia diagnóstica notável foi relatada no estudo que avaliou a sub-região laterodorsal da SN (*Vaillancourt et al*⁷⁸). Esse estudo demonstrou que a FA média foi menor na população com DP do que nos voluntários sadios, com sensibilidade e especificidade de 100% para distinguir esses pacientes. Eles viram que as maiores diferenças entre as FA foram nas porções caudais da SN, consistente com a região da SN onde há a maior perda dos neurônios dopaminérgicos.^{6 17} Esse trabalho foi publicado na revista *Neurology* em 2009 (fator de impacto: 8,3) e foi citado 372 vezes, considerado, na época, grande divisor de águas no diagnóstico da doença de Parkinson.

Desta forma, reproduzimos e estendemos o trabalho de *Vaillancourt et al*⁷⁸ em um estudo prospectivo e multicêntrico, em população brasileira, sendo avaliada a anisotropia fracionada na substância negra de pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios, por dois neurorradiologistas com mais de 5 anos de experiência. Em nossa população estudada, não observamos redução da FA-SN induzida pela doença de Parkinson e a FA-SN não foi suficiente para distinguir os três grupos. A média de diferença entre FA-SN entre grupos foi pelo menos 5 vezes menor que a LOA entre radiologistas (-0,15, 0,15) ou entre sítios (-0,18, 0,21).

Esta observação está bem de acordo com outros relatos que mostraram pequena ou nenhuma diminuição de FA nigral nesses pacientes^{76 130 118}. Um único estudo até mesmo relatou aumento da FA nigral em pacientes com DP¹¹⁹. Curiosamente, em modelos animais de DP, os achados também variam de aumento¹²⁰ a redução da FA nigral¹¹³.

Assim, para avaliarmos se os resultados até agora publicados estavam de acordo

com o trabalho de *Vaillancourt et al*⁷⁸, realizamos também uma meta-análise com 23 estudos que utilizaram valores quantitativos do DTI (especificamente a FA) na substância negra de pacientes com doença de Parkinson e controles sadios. Nenhum dos trabalhos incluía uma subpopulação de pacientes com tremor essencial. Essa meta-análise indicou que a medida da FA-SN isoladamente não pode ser usada como biomarcador diagnóstico da doença de Parkinson. A meta-análise estimou pequena diminuição na média da FA-SN em pacientes com DP (0,03 menor nos pacientes com DP (IC: 0,01 - 0,06)). Apesar desta diferença de médias, a capacidade discriminatória da FA-SN para estabelecer o diagnóstico de DP foi baixa. A sensibilidade e a especificidade combinadas foram 70% (IC: 65-74) e 63% (IC: 57-69), respectivamente.

Esses dados são congruentes com a meta-análise realizada por *Scharwz et al*¹²¹ que avaliou 11 estudos a respeito das alterações nigrais da anisotropia fracionada (268 controles sadios e 279 DP), revelando redução significativa da FA nos pacientes com DP, porém com variação muito grande entre os estudos ($I^2 = 86\%$). Após a exclusão de cinco estudos com altos valores anormais da FA nigral no grupo controle (baseados no valor normativo de atlas padrão de referência de DTI realizado em 24 adultos saudáveis¹²²), uma heterogeneidade aceitável foi atingida, porém não houve significância estatística dessa medida ($p = 0,22$, $I^2 = 28\%$).

Os clínicos devem considerar que a presença de diferença de médias estatisticamente significativa não implica que necessariamente aquela medida seja bom biomarcador diagnóstico. A capacidade de classificar corretamente os indivíduos depende não apenas da diferença entre os valores médios, mas também da variabilidade dentro de cada grupo. Embora a média da FA-SN tenha sido menor em pacientes com DP, a capacidade da FA-SN em diagnosticar corretamente os indivíduos é pobre. Esta má interpretação leva à reivindicação comumente exagerada do biomarcador quando as diferenças entre as médias são observadas. Nossa abordagem

é diferente de meta-análises anteriores, que se concentraram apenas nas diferenças médias entre os grupos.

O estudo longitudinal recente de *Loane et al*¹³⁶ é um exemplo, visto que eles estudaram pacientes com DP em estágio precoce por meio de sequências de DTI (com a mensuração de DM e FA na substância negra e no putame) e realizaram o *follow-up* com média de 19 meses de intervalo. Apesar de eles não terem conseguido diferenciar inicialmente o grupo controle e o grupo doente com as medidas quantitativas do DTI, eles referem que no *follow-up* houve redução significativa da FA e aumento significativo da DM apenas na substância negra no grupo com doença de Parkinson. Entretanto, os valores finais não têm poder discriminatório significativo para diferenciar os grupos, não tendo boa acurácia diagnóstica.

Alguns fatores podem contribuir para a dificuldade técnica em avaliar a anisotropia fracionada na substância negra em estudos de ressonância magnética. O desenho dos ROIs e o cálculo de suas médias apresentam limitações técnicas, visto que em alguns estudos a SN foi subdividida em pequenas regiões de interesse, tendo sido calculada a média desses valores. Além disso, o posicionamento do ROI mais lateralizado aumenta a possibilidade de inclusão de tratos de fibras brancas perinigrais do pedúnculo cerebral, especialmente em estudos com cortes grossos (mais de 4 mm). As modernas bobinas de matriz em fase têm tipicamente a relação sinal / ruído mais baixa (RSR) no centro do volume de enchimento, o que coincide com a posição do tronco cerebral no cérebro. Além disso, esta região contém tipicamente artefatos de susceptibilidade devido ao seio esfenoidal e artefatos de pulsatilidade devido à sua proximidade com a artéria basilar. Esses artefatos são exacerbados em campos magnéticos mais fortes e também podem contribuir para a variabilidade na FA.

Um grande desafio para a aplicação da FA-SN no diagnóstico de DP na nossa meta-análise foi a variabilidade muito alta observada, com $I^2 = 92\%$ entre os estudos.

Nem a intensidade do campo magnético nem o número de direções contribuíram para a grande heterogeneidade observada, com base na análise utilizando modelo de meta-regressão. O fator potencial que pode ter contribuído para essa variabilidade seriam os aspectos técnicos de aquisição de imagem e controle de qualidade. Estudos têm relatado diferenças na FA entre varreduras de ressonância magnética utilizando campo magnético de 1,5 e 3 T, entre o número de direções¹²⁸, entre os valores *b* utilizados¹²⁹, e entre as RSR¹³⁰. O subconjunto de 15 estudos que examinaram mais de 30 direções de difusão mostrou heterogeneidade menor ($I^2 = 72\%$) do que o conjunto total do estudo. Em nossa amostra, utilizando o protocolo de imagem idêntico em dois locais diferentes, o componente mais importante da variabilidade FA-SN foi a interação sítio-sujeito. Os resultados de um grande estudo multicêntrico sugerem que phantom físico fantasma deva ser utilizado em ensaios de diagnóstico multicêntricos que usem DTI, tanto para detectar fontes potenciais de viés quanto para estimar de forma confiável o tamanho do efeito. Esta sugestão destaca a importância de padronizar, não apenas protocolos de imagem, mas também o controle da qualidade e da análise, para permitir o estabelecimento de biomarcadores reprodutíveis. Os resultados de nosso estudo mostram que a variação na FA-SN é suficientemente alta para impedir o seu uso como biomarcador isolado para diagnosticar a DP.

Outra limitação da nossa meta-análise de acurácia diagnóstica é a suposição de uma distribuição binormal da curva ROC para cada estudo. Como a maioria dos estudos não relatou sensibilidade e especificidade, tivemos que estimar essas medidas selecionando os limiares ótimos para cada estudo. Essa abordagem, embora frequentemente utilizada, pode levar a um aumento artificial dos índices de desempenho diagnóstico. Além disso, com base nos critérios QUADAS¹¹³, todos os estudos mostraram uma alta probabilidade de aumento das estimativas de sensibilidade e especificidade. Apesar disso, o poder discriminativo da FA-SN foi baixo.

Embora a FA-SN não possa discriminar os pacientes com DP e VS como medida isolada, classificadores estatísticos avançados podem ser usados para combinar a FA-SN com outras variáveis para estabelecer o diagnóstico de DP. Dois estudos combinaram FA-SN com outras medidas para gerar desempenho discriminativo muito maior^{126 127}.

*Peran et al*¹²⁶ tentando a abordagem de parâmetros sensíveis às características teciduais da doença (por exemplo, redução de volume, deposição de ferro e danos microestruturais), mediram volume, FA e taxas de relaxamento T2 * em seis estruturas profundas (tálamo, putamen, caudado, globo pálido, substância negra e núcleo rubro), em 30 pacientes com DP moderada e 22 controles sadios, encontrando boa acurácia global (AUC: 95%). *Menke et al*¹²⁷ adquiriram dados quantitativos de T1 e DTI / tratografia em 10 indivíduos saudáveis e 10 pacientes com DP, utilizando perfil de conectividade diferencial, conseguindo distinguir a SNpc e SNpr. Desta forma, eles mostraram que a região interna apresentava maior conectividade com o corpo estriado posterior, globo pálido e núcleos talâmicos anteriores, bem como com o córtex pré-frontal, correspondendo provavelmente à “*pars compacta*”. A região externa apresentou maior conectividade com o núcleo ventral talâmico e com córtex motor, correspondendo à “*pars reticulada*”. Ambos utilizaram estudos de caso-controle e, consequentemente, as estimativas de desempenho diagnóstico podem ter viés aumentado. Estas abordagens devem ser reproduzidas em outros estudos antes da sua implementação na prática clínica.

*Kamagata et al*¹³⁷ estudaram o uso da sequência chamada NODDI (dispersão de orientação de neurite e imagem de densidade) para avaliar alterações nigroestriatais em suas características microestruturais, como a densidade de neurônios e sua estrutura dendrítica na DP. Nessa sequência, que assume o modelo de três compartimentos (intracelular, tecido biofísico extracelular e líquido cefalorraquidiano)

para cada voxel, seria possível fornecer dados sobre alterações neuronais mais específicas do que os fornecidos pelos índices de DTI. Entretanto, o dado que conseguiu maior acurácia diagnóstica (fração de volume intracelular) mostrou um desempenho insuficiente para ser considerado biomarcador, com 88% de sensibilidade e 83% de especificidade para diferenciar os pacientes com doença de Parkinson e voluntários sadios.

Desta forma, o estabelecimento de biomarcador diagnóstico por RM, que seja confiável e reprodutível para o diagnóstico de DP, ainda permanece um desafio aberto.

7. CONCLUSÃO

1. Dois neurorradiologistas com mais de cinco anos de experiência avaliaram a medida da anisotropia fracionada na substância negra de uma amostra brasileira de pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e voluntários sadios, em estudo prospectivo e multicêntrico.
2. Em nossa população estudada, não observamos redução da FA-SN induzida pela doença de Parkinson e a FA-SN não foi suficiente para distinguir os três grupos.
3. Realizamos meta-análise com 23 estudos que utilizaram valores quantitativos do DTI (especificamente a FA) na substância negra de pacientes com doença de Parkinson e controles sadios. Essa meta-análise indicou que a medida da FA-SN isoladamente não pode ser usada como biomarcador diagnóstico da doença de Parkinson. Apesar de pequena diferença entre as médias dos dois grupos, a capacidade discriminatória da FA-SN para estabelecer o diagnóstico de DP foi baixa. A sensibilidade e a especificidade combinadas foram 70% (IC: 65-74) e 63% (IC: 57-69), respectivamente.
4. A medida da anisotropia fracionada na substância negra dos pacientes com doença de Parkinson não é biomarcador da doença, visto que não preenche

um dos principais requisitos de biomarcador, que seria a capacidade de diferenciar os pacientes doentes de saudáveis e de portadores de outras doenças com apresentação clínica similar.

8. ANEXOS

ANEXOS 1 e 2 - Termo de Consentimento livre e esclarecido pós- informado dos pacientes com Doença de Parkinson, Tremor Essencial ou Voluntário Sadio

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DA

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE:.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº:

SEXO : MF

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO

Nº APTO:

BAIRRO:

CIDADE

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE :

SEXO: M/F

DATA NASCIMENTO.:

ENDEREÇO:

.....

CIDADE:

CEP:.....

TELEFONE: DDD (.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “ Papel do DTI por RM na Doença de Parkinson e no Tremor Essencial”
2. PESQUISADORES: Dr. Ellison Fernando Cardoso e Fabiana de Campos Cordeiro Hirata
3. CARGO/FUNÇÃO: médico assistente do departamento de Radiologia do HC-FMUSP e residente do departamento de Radiologia do HC-FMUSP
4. UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia.
5. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA: (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo) – SEM RISCO

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

5. Justificativa e os objetivos da pesquisa:

O senhor está sendo convidado para participar de uma pesquisa sobre o diagnóstico da doença de Parkinson e Tremor Essencial. Esse diagnóstico atualmente é feito apenas com critérios clínicos, de acordo com a sintomatologia e os sinais que o paciente apresenta. Estamos investigando se seria possível diagnosticarmos essa doença com a ressonância magnética, o que permitiria que os pacientes fossem diagnosticados de forma mais precoce e segura.

O senhor será submetido a dois exames de ressonância magnética, um no Hospital Israelita Albert Einstein e outro no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP. No dia deste exame, o senhor vai ser colocado dentro do aparelho de ressonância magnética, que é um grande imã com um túnel. Durante o exame, o senhor irá ouvir um som relativamente alto. Porém, seus ouvidos serão protegidos com fones. Então serão realizadas imagens do cérebro. O senhor ficará cerca de 40 minutos no equipamento em cada exame.

6. Procedimentos que serão utilizados e propósitos, incluindo a identificação dos procedimentos que são experimentais:

Como explicado acima, o senhor foi escolhido para que possamos comparar pacientes com doença de Parkinson, tremor essencial e pacientes da mesma idade sem problemas de saúde. O senhor será submetido a questionários e será examinado por um médico para avaliação da doença de Parkinson.

O senhor continuará tomando as medicações que usualmente toma para a doença de Parkinson durante a realização do estudo.

7. Desconfortos e riscos esperados:

O exame de Ressonância Magnética não causa nenhum mal a saúde. O médico estará o tempo todo observando o exame e pode se comunicar com a pessoa dentro do aparelho. A qualquer momento o senhor poderá apertar um botão para parar o exame. O túnel é iluminado e tem um ventilador, mas algumas pessoas se sentem mal em lugares pequenos. Se este for o caso, basta pedir e a pessoa será retirada prontamente. Caso isso aconteça o aparelho possui diversos microfones e o senhor deverá dizer o que está sentindo e prontamente será atendido, e caso necessário será retirado do aparelho.

8. Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo:

Não há outras maneiras alternativas de obter as mesmas informações com a mesma precisão e características que a ressonância magnética.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA:

1. Direito, em qualquer momento, a ter informações sobre a forma da pesquisa e os seus riscos e vantagens, inclusive para esclarecer as dúvidas do paciente.
2. Em qualquer momento, o paciente poderá desistir do estudo e isto NÃO irá causar nenhum problema ao tratamento futuro do paciente no Hospital das Clínicas.
3. É garantido ao paciente que todas as informações da pesquisa serão confidenciais (secretas).
4. Se ocorrer qualquer problema de saúde com o paciente por causa da pesquisa, o paciente terá o direito a ter tratamento específico no Hospital das Clínicas da FMUSP.
5. Se houver qualquer problema de saúde ao paciente devido a pesquisa, este terá direito a receber uma recompensa (indenização).

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

Dra. Fabiana de Campos Cordeiro Hirata Fone (11) 987218808

Dr. Ellison F. Cardoso Fone: (11) 9291-9111 ou (11) 3082-3720

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES:

Não há.

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, ____ de _____ de 200 ____.

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal assinatura do pesquisador

(carimbo ou nome Legível)

ANEXO 3 – Critérios Clínicos para o Diagnóstico de Doença de Parkinson do Banco de Cérebros do Reino Unido – (*UK Parkinson's Disease Brain Bank Criteria*)

1º passo: Diagnóstico de Síndrome Parkinsoniana

- Bradicinesia (lentidão da iniciação de movimentos voluntários com a progressiva redução na velocidade e amplitude em ações repetitivas)
- Pelo menos um dos seguintes:
 - Rigidez muscular
 - Tremor de repouso de 4-6Hz
 - Instabilidade postural não causada por disfunção: visual primária, vestibular, cerebelar ou propriocepção.

2º passo: Critérios de exclusão para doença de Parkinson

- História de AVC de repetição com progressão em degraus das características parkinsonianas
- História de TCE de repetição
- História de encefalite
- Crises oculogíricas
- Tratamento com neurolépticos no início dos sintomas
- Mais de um parente afetado
- Sintomas exclusivamente unilaterais após 3 anos de doenças
- Paralisia supranuclear do olhar
- Sinais cerebelares
- Envolvimento autonômico grave
- Demência grave com distúrbios de memória, linguagem e praxia
- Sinal de Babinski positivo

- Presença de tumor cerebral ou hidrocefalia comunicante na TC de crânio
- Resposta negativa a grandes doses de levodopa (se a foi excluída mal absorção)

3º passo: Critérios prospectivos de suporte para doença de Parkinson

(três ou mais são requeridos para o diagnóstico definitivo de doença de Parkinson)

- Início unilateral
- Tremor de repouso presente
- Desordem progressiva
- Assimetria persistente afetando o lado de início mais freqüentemente
- Resposta excelente a levodopa (70-100%)
- Coréia grave induzida por levodopa
- Reposta a levodopa por 5 ou mais anos
- Curso clínico de 10 anos ou mais

ANEXO 4 – CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DE TREMOR ESSENCIAL PELA SOCIEDADE DE DESORDENS DO MOVIMENTO (MOVEMENT DISORDER SOCIETY)

✓ Critérios de Inclusão

- Tremor postural bilateral com ou sem tremor cinético, envolvendo braços e antebraços que é visível e persistente (tremor de outras partes do corpo deve estar presente em associação com o tremor dos membros superiores; tremor bilateral tem que ser assimétrico; tremor relatado pelos pacientes como persistente mas com amplitude variada; tremor pode ou não produzir disfuncionalidade).
- Duração superior a 5 anos

✓ Critérios de Exclusão

- Sinal ou sinais neurológicos adicionais (exceto sinal de Froment).
- Causas conhecidas de agravamento do tremor fisiológico.
- Uso atual ou recente de drogas geradoras de tremor ou que estejam na sua fase de desmame.
- Trauma direto ou indireto no SNC nos últimos 3 meses antes do começo do tremor.
- História ou evidência clínica de origem psicogênica do tremor.
- Evidência convincente e de início súbito ou evidência de deterioração gradual.

ANEXO 5 - Mini Exame do Estado Mental – MEEM

Orientação

1. Em que dia da semana estamos? (1 ponto)
2. Em que dia do mês estamos? (1 ponto)
3. Em que mês estamos? (1 ponto)
4. Em qual estação do ano estamos? (1 ponto)
5. Em que ano estamos? (1 ponto)
6. Onde estamos aqui? Que hospital? (1 ponto)
7. Em que andar estamos? (1 ponto)
8. Em que cidade estamos? (1 ponto)
9. Em que estado? (1 ponto)
10. Em qual país? (1 ponto)

Registro de dados

Repita as palavras (1 ponto)

Repetir três vezes as palavras (2 pontos)

Atenção e Cálculo

Subtraia 7 de 100 (1 ponto)

Do resultado, subtraia 7 de novo e assim por diante quatro vezes (4 pontos)

Memória

Você se lembra das três palavras que falamos ainda há pouco? (3 pontos, sendo 1 para cada uma)

Linguagem

O que é isso? Mostrar um lápis (1 ponto)

O que é isso? Mostrar um relógio (1 ponto)

Repita “nem sim, nem e, nem mas” (1 ponto)

Realize as três ordens: tome esta folha de papel, dobre-a e coloque-a no chão (3 pontos, um por comando realizado corretamente)

Leia e faça o que está escrito “Feche os olhos” (1 ponto)

Escreva uma frase nesta folha de papel (1 ponto)

Atividade Motora (desenhar):

ANEXO 6 - Questionário de Segurança para Ressonância Magnética

Data: ____/____/____ Data do Nascimento: ____/____/____

Peso: _____ Altura: _____

1. Você já foi submetido à alguma cirurgia ? () Não () Sim Qual ?

2. Usa Marca passo ou algum tipo de prótese (ouvido, dentes, etc) ? () Não () Sim Local:

3. Possui algum clip de metal no corpo ? ? () Não () Sim Local:

4. Já sofreu algum ferimento com serra ou farpas metálicas ? Com estilhaço ou arma de fogo ? ()
Não () Sim Local:

5. Tem claustrofobia ? () Não () Sim _____

6. É hipertenso ? () Não () Sim _____

7. É diabético ? () Não () Sim _____

8. É cardiopata ? () Não () Sim _____

9. É nefropata ? () Não () Sim _____

10. Tem problemas respiratórios ? () Não () Sim _____

11. É alérgico ? () Não () Sim _____

12. Já utilizou contraste iodado ? () Não () Sim _____

13. Região a ser estudada: CRANIO

14. Diagnóstico clínico: Doença de Parkinson _____

15. Prescrição do Contraste

Dosagem

Médico

Administrado

Enfermagem

ANEXO 7 - Hoehn and Yahr Staging of Parkinson's Disease

1. Estagio I

1. Sinais e sintomas em um lado do corpo
2. Sintomas leves
3. Sintomas inconvenientes, mas não debilitantes
4. Geralmente, apresenta com tremor de um membro
5. Amigos notaram mudanças na postura, locomoção e expressão facial

2. Estagio II

1. Sintomas são bilaterais
2. Mínima debilidade
3. Postura e marcha estão afetados

3. Estagio III

1. Diminuição dos movimentos do corpo significantes
2. Prejuízo no equilíbrio no início da marcha ou em posição ortostática
3. Disfunção generalizada que é moderadamente severa

4. Estagio IV

1. Sintomas severos
2. Consegue andar em um espaço limitado
3. Rigidez e bradicinesia
4. Não consegue mais viver sozinho
5. Tremor tende a ser menor que nos estágios iniciais

5. Estagio V

1. Estagio caquético
2. Invalidez completa
3. Não consegue andar ou ficar de pé
4. Necessita de cuidados de cuidador constante

ANEXO 8 - Escala unificada da doença de Parkinson (Unified Parkinson Disease Rating Scale - UPDRS)

I. ESTADO MENTAL/COMPORTAMENTO/ESTADO EMOCIONAL

1. comportamento intelectual
0= NENHUM

1= MÍNIMO. Esquecimento consistente com lembrança parcial de eventos, sem outras dificuldades

2= MODERADO. Perda moderada da memória, com desorientação. Dificuldade moderada para resolver problemas complexos. Mínimo, mas definitivo comprometimento das atividades em casa, com necessidade de ajuda ocasional.

3= GRAVE. Perda grave de memória com desorientação temporal e, freqüentemente de lugar. Grande dificuldade de resolver problemas.

4= GRAVE. Perda grave da memória com orientação preservada apenas para sua pessoa. Incapaz de fazer julgamentos ou resolver problemas. Necessita de muita ajuda para cuidados pessoais. Não pode ficar sozinho em nenhuma situação.

2. desordem do pensamento (devido à demência ou intoxicação por drogas)
0= nenhum

1= sonhos vívidos

2= alucinações “benignas” com julgamento (insight) mantido

3= ocasionais a freqüentes alucinações sem julgamento, podendo interferir com as atividades diárias.

4= alucinações freqüentes ou psicose evidente. Incapaz de cuidar-se.

3. depressão
1= ausente

2= períodos de tristeza ou culpa acima do normal. Nunca permanece por dias ou semanas.

3= depressão permanente com sintomas vegetativos (insônia, anorexia, perda de peso, desinteresse).

4= depressão permanente com sintomas vegetativos. Pensamento ou tentativa de suicídio.

4. motivação/iniciativa
0= normal

1= mais passivo, menos interessado que o habitual

2= perda da iniciativa ou desinteresse por atividades fora do dia-a-dia

II. ATIVIDADES DA VIDA DIÁRIA

5. fala

0= normal

1= comprometimento superficial. Nenhuma dificuldade em ser entendido.

2= comprometimento moderado. Solicitado a repetir frases, às vezes.

3= comprometimento grave. Solicitado freqüentemente a repetir frases.

4= retraído, perda completa da motivação.

6. salivação

0= normal

1= excesso mínimo de saliva, mas perceptível. Pode babar à noite.

2= excesso moderado de saliva. Pode apresentar alguma baba (drooling).

3= excesso acentuado de saliva. Baba freqüentemente.

4= baba continuamente. Precisa de lenço constantemente.

7. deglutição

0= normal

1= engasgos raros

2= engasgos ocasionais

3= deglute apenas alimentos moles.

4= necessita de sonda nasogástrica ou gastrostomia.

8. escrita

0= normal

1= um pouco lenta ou pequena.

2= menor e mais lenta, mas as palavras são legíveis.

3= gravemente comprometida. Nem todas as palavras são comprometidas.

4= a maioria das palavras não são legíveis.

9. cortar alimentos ou manipular

0= normal

1= lento e desajeitado, mas não precisa de ajuda.

2= capaz de cortar os alimentos, embora desajeitado e lento. Pode precisar de ajuda.

3= alimento cortado por outros, ainda pode alimentar-se, embora lentamente.

4= precisa ser alimentado por outros.

10. vestir

0= normal.

1= lento mas não precisa de ajuda.

2= necessita de ajuda para abotoar e colocar os braços em mangas de camisa.

3= necessita de bastante ajuda, mas consegue fazer algumas coisas sozinho.

4= não consegue vestir-se (nenhuma peça) sem ajuda.

11. higiene

0= normal.

1= lento mas não precisa de ajuda.

2= precisa de ajuda no chuveiro ou banheira, ou muito lento nos cuidados de higiene.

3= necessita de assistência para se lavar, escovar os dentes, pentear-se, ir ao banheiro.

4= sonda vesical ou outra ajuda mecânica.

12. girar no leito e colocar roupas de cama.

0= normal.

1= lento e desajeitado mas não precisa de ajuda.

2= pode girar sozinho na cama ou colocar os lençóis, mas com grande dificuldade.

3= pode iniciar, mas não consegue rolar na cama ou colocar lençóis.

4= não consegue fazer nada.

13. quedas (não relacionadas ao freezing)

0= nenhuma

1= quedas raras.

2= cai ocasionalmente, menos de uma vez por dia.

3= cai, em média, uma vez por dia.

4= cai mais de uma vez por dia.

14. freezing quando anda

0= nenhum

1= raro freezing quando anda, pode ter hesitação no início da marcha.

2= freezing ocasional, enquanto anda.

3= freezing freqüente, pode cair devido ao freezing.

4= quedas freqüentes devido ao freezing.

15. marcha

0= normal.

1= pequena dificuldade. Pode não balançar os braços ou tende a arrastar as pernas.

2= dificuldade moderada, mas necessita de pouca ajuda ou nenhuma.

3= dificuldade grave na marcha, necessita de assistência.

4= não consegue andar, mesmo com ajuda.

16. tremor

0= ausente.

1= presente, mas infrequente.

2= moderado, mas incomoda o paciente.

3= grave, interfere com muitas atividades.

4= marcante, interfere na maioria das atividades.

17. queixas sensitivas relacionadas ao parkinsonismo

0= nenhuma.

1= dormência e formigamento ocasional, alguma dor.

2= dormência, formigamento e dor freqüente, mas suportável.

3= sensações dolorosas freqüentes.

4= dor insuportável.

III. **EXAME MOTOR**

18. fala

0= normal.

1= perda discreta da expressão, volume ou dicção.

2= comprometimento moderado. Arrastado, monótono mas compreensível.

3= comprometimento grave, difícil de ser entendido.

4= incompreensível.

19. expressão facial

0= normal.

1= hipomímia mínima.

2= diminuição pequena, mas anormal, da expressão facial.

3= hipomímia moderada, lábios caídos/afastados por algum tempo.

4= fácies em máscara ou fixa, com perda grave ou total da expressão facial. Lábios afastados ¼ de polegada ou mais.

20. tremor de repouso

0= ausente.

1= presente mas infrequente ou leve.

2= persistente mas de pouca amplitude, ou moderado em amplitude mas presente de maneira intermitente.

3= moderado em amplitude mas presente a maior parte do tempo.

4= com grande amplitude e presente a maior parte do tempo.

21. tremor postural ou de ação nas mãos

0= ausente

1= leve, presente com a ação.

2= moderado em amplitude, presente com a ação.

3= moderado em amplitude tanto na ação quanto mantendo a postura.

4= grande amplitude, interferindo com a alimentação.

22. rigidez (movimento passivo das grandes articulações, com paciente sentado e relaxado, ignorar roda dentada)

0= ausente

1= pequena ou detectável somente quando ativado por movimentos em espelho de outros.

2= leve e moderado.

3= marcante, mas pode realizar o movimento completo da articulação.

4= grave e o movimento completo da articulação só ocorre com grande dificuldade.

23. bater dedos continuamente – polegar no indicador em seqüências rápidas com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez.

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

24. movimentos das mãos (abrir e fechar as mãos em movimentos rápidos e sucessivos e com a maior amplitude possível, uma mão de cada vez).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

25. movimentos rápidos alternados das mãos (pronação e supinação das mãos, horizontal ou verticalmente, com a maior amplitude possível, as duas mãos simultaneamente).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

26. agilidade da perna (bater o calcanhar no chão em sucessões rápidas, levantando toda a perna, a amplitude do movimento deve ser de cerca de 3 polegadas/ $\pm 7,5$ cm).

0= normal

1= leve lentidão e/ou redução da amplitude.

2= comprometimento moderado. Fadiga precoce e bem clara. Pode apresentar parada ocasional durante o movimento.

3= comprometimento grave. Hesitação freqüente para iniciar o movimento ou paradas durante o movimento que está realizando.

4= realiza o teste com grande dificuldade, quase não conseguindo.

27. levantar da cadeira (de espaldo reto, madeira ou ferro, com braços cruzados em frente ao peito).

0= normal

1= lento ou pode precisar de mais de uma tentativa

2= levanta-se apoiando nos braços da cadeira.

3= tende a cair para trás, pode tentar se levantar mais de uma vez, mas consegue levantar

4= incapaz de levantar-se sem ajuda.

28. postura

0= normal em posição ereta.

1= não bem ereto, levemente curvado para frente, pode ser normal para pessoas mais velhas.

2= moderadamente curvado para frente, definitivamente anormal, pode inclinar-se um pouco para os lados.

3= acentuadamente curvado para frente com cifose, inclinação moderada para um dos lados.

4= bem fletido com anormalidade acentuada da postura.

29. marcha

0= normal

1= anda lentamente, pode arrastar os pés com pequenas passadas, mas não há festinação ou propulsão.

2= anda com dificuldade, mas precisa de pouca ajuda ou nenhuma, pode apresentar alguma festinação, passos curtos, ou propulsão.

3= comprometimento grave da marcha, necessitando de ajuda.

4= não consegue andar sozinho, mesmo com ajuda.

30. estabilidade postural (respostas ao deslocamento súbito para trás, puxando os ombros, com paciente ereto, de olhos abertos, pés separados, informado a respeito do teste)

0= normal

1= retropulsão, mas se recupera sem ajuda.

2= ausência de respostas posturais, cairia se não fosse auxiliado pelo examinador.

3= muito instável, perde o equilíbrio espontaneamente.

4= incapaz de ficar ereto sem ajuda.

31. bradicinesia e hipocinesia corporal (combinação de hesitação, diminuição do balançar dos braços, pobreza e pequena amplitude de movimentos em geral)
0= nenhum.

1= lentidão mínima. Podia ser normal em algumas pessoas. Possível redução na amplitude.

2= movimento definitivamente anormal. Pobreza de movimento e um certo grau de lentidão.

3= lentidão moderada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

4= lentidão acentuada. Pobreza de movimento ou com pequena amplitude.

IV. COMPLICAÇÕES DA TERAPIA (NA SEMANA QUE PASSOU)

A . DISCINESIAS

32. duração. Que percentual do dia acordado apresenta discinesias?
0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 - 50% do dia.

3= 51 – 75% do dia.

4= 76 – 100% do dia.

33. incapacidade. Quão incapacitante é a discinesia?
0= não incapacitante.

1= incapacidade leve.

2= incapacidade moderada.

3= incapacidade grave.

4= completamente incapaz.

34. discinesias dolorosas. Quão dolorosas são as discinesias?
0= não dolorosas.

1= leve.

2= moderada.

3= grave.

4= extrema.

35. presença de distonia ao amanhecer.

0= não

1= sim

B. FLUTUAÇÕES CLÍNICAS

36. algum período off previsível em relação ao tempo após a dose do medicamento?

0= não

1= sim

37. algum período off imprevisível em relação ao tempo após a dose do medicamento?

0= não

1= sim

38. algum período off se instala subitamente? Em poucos segundos?

0= não

1= sim

39. qual o percentual de tempo acordado, em um dia, o paciente está em off, em média?

0= nenhum

1= 25% do dia.

2= 26 - 50% do dia.

3= 51 – 75% do dia.

4= 76 – 100% do dia.

C. OUTRAS COMPLICAÇÕES

40. o paciente apresenta anorexia, náusea ou vômito?

0= não

1= sim

41. o paciente apresenta algum distúrbio do sono? Insônia ou hipersonolência.

0= não

1= sim

42. o paciente apresenta hipotensão ortostática sintomática?

0= não

1= sim.

ANEXO 9 - CRITÉRIOS DE BUSCA PARA CADA BANCO DE DADOS

Science Direct:

((TITLE(parkinson) AND diffusion) AND FRACTIONAL ANISOTROPY) AND LIMIT-TO(contenttype, "1,2","Journal")

EMBASE:

'parkinson disease'/exp/mj AND 'fractional anisotropy' AND ([english]/lim OR [portuguese]/lim) AND ([article]/lim OR [conference paper]/lim) AND [humans]/lim OR (diffusion AND tensor AND imaging AND 'parkinson disease'/exp/mj AND ([article]/lim OR [conference paper]/lim) AND [humans]/lim)

PubMed:

((("parkinson disease"[MeSH Terms] OR ("parkinson"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "parkinson disease"[All Fields] OR "parkinson's"[All Fields]) OR ("parkinson disease"[MeSH Terms] OR ("parkinson"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "parkinson disease"[All Fields] OR "parkinsons"[All Fields]) OR ("parkinson disease"[MeSH Terms] OR ("parkinson"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "parkinson disease"[All Fields] OR "parkinsons"[All Fields])) AND ("diffusion"[MeSH Terms] OR "diffusion"[All Fields]) OR diffusivity [All Fields] OR (fractional[All Fields] AND ("anisotropy"[MeSH Terms] OR "anisotropy"[All Fields]))) AND nigra[All Fields]

ANEXO 10 - QUADAS 2¹¹³

Risco de viés

1. Seleção de Paciente:

Todos os estudos desta metanálise usaram estudos caso-controle. Esse recurso pode resultar em uma superestimação da precisão diagnóstica.

2. Teste do índice:

Todos os estudos não pré-especificam os limiares utilizados. De fato, a maioria dos estudos apenas relatou a diferença média da FA na SN entre pacientes com DP e VS. Aplicamos uma suposição binormal às curvas ROC e selecionamos o limite ótimo para cada estudo. Esta abordagem também pode resultar em superestimação da precisão diagnóstica.

3. Padrão de referência:

Todos os estudos consideraram o diagnóstico clínico de DP como padrão de referência / gold standart. Os resultados do exame clínico foram interpretados sem conhecimento dos resultados do teste índice. A maioria dos estudos (14/22) utilizou o United Kingdom Parkinson's Disease Society Brain Bank Critérios; 4 artigos relataram o uso de outros critérios diagnósticos, e 4 destes artigos relataram apenas "diagnóstico clínico". Este padrão de referência não tem 100% de sensibilidade e especificidade, embora o exame patológico não seja viável em um ambiente clínico. Portanto, há um risco de viés, embora tenhamos estimado o risco de viés ser médio / baixo neste domínio específico.

4. Fluxo e Tempo:

O diagnóstico clínico foi considerado o padrão de referência em todos os estudos, sendo este critério utilizado em um tempo adequado e aplicado a todos os pacientes (apesar de pequenas variações nos critérios aplicados). Alguns estudos relataram a exclusão de alguns sujeitos devido a artefatos de movimento. O risco de viés foi baixo neste domínio específico.

Aplicabilidade

1. Seleção do Paciente:

Todos os pacientes incluídos em cada estudo preencheram os critérios diagnósticos clínicos para DP. Em um cenário clínico, exame de ressonância magnética também seria realizada em pacientes com outras doenças. Este viés potencial limita a aplicabilidade dos resultados destes estudos ao contexto clínico.

2. Teste do índice:

Variações na implementação do protocolo (parâmetros técnicos) e controle de qualidade levam a variações no SN-FA. Esta relação limita a aplicabilidade da SN-FA como medida de diagnóstico.

3. Padrão de referência:

A condição alvo, especificada na pergunta de revisão (diagnóstico DP), não diferiu de acordo com o padrão de referência.

ANEXO 11 – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO EM PERIÓDICO

[European Radiology](#)

June 2017, Volume 27, [Issue 6](#), pp 2640–2648 | [Cite as](#)

Substantia nigra fractional anisotropy is not a diagnostic biomarker of Parkinson's disease: A diagnostic performance study and meta-analysis

Authors

[Authors and affiliations](#)

Fabiana C. C. Hirata, João R. Sato, Gilson Vieira, Leandro T. Lucato, Claudia C. Leite, Edson Bor-Seng-Shu, Bruno F. Pastorello, Maria C. G. Otaduy, Khalil T. Chaim, Kenia R. Campanholo, Natalia P. Novaes, Luciano Magalhães Melo, Márcia R. Gonçalves, Felipe Barjud Pereira do Nascimento, Manoel Jacobsen Teixeira, [show 3 more](#)

Neuro

First Online: 05 October 2016

412

3

Downloads Citations

Abstract

Objectives

Our goal was to estimate the diagnostic accuracy of substantia nigra fractional anisotropy (SN-FA) for Parkinson's disease (PD) diagnosis in a sample similar to the clinical setting, including patients with essential tremor (ET) and healthy controls (HC). We also performed a systematic review and meta-analysis to estimate mean change in SN-FA induced by PD and its diagnostic accuracy.

EDITORIAL CERTIFICATE

This document certifies that the manuscript listed below was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts.

Manuscript title:

Substantia Nigra Fractional Anisotropy is not a diagnostic biomarker of Parkinson's disease A diagnostic performance study and Meta-Analysis

Authors:

Fabiana C. C. Hirata, João R. Sato, Gilson Vieira, Leandro T. Lucato, Claudia C. Leite, Edson Bor-Seng-Shu, Bruno F. Pastorello, Maria C. G. Otaduy, Khalil T. Chaim, Kenia R. Campanholo, Natalia P.P. Novaes, Luciano M. Melo, Márcia R. Gonçalves, Felipe Barjud Pereira do Nascimento, Manoel Jacobsen Teixeira, Egberto Reis Barbosa, Edson Amaro Jr, Ellison F. Cardoso

Date Issued:

May 20, 2016

Certificate Verification Key:

97CF-C064-1616-3910-42B3

This certificate may be verified at www.aje.com/certificate. This document certifies that the manuscript listed above was edited for proper English language, grammar, punctuation, spelling, and overall style by one or more of the highly qualified native English speaking editors at American Journal Experts. Neither the research content nor the authors' intentions were altered in any way during the editing process. Documents receiving this certification should be English-ready for publication; however, the author has the ability to accept or reject our suggestions and changes. To verify the final AJE edited version, please visit our verification page. If you have any questions or concerns about this edited document, please contact American Journal Experts at support@aje.com.

American Journal Experts provides a range of editing, translation and manuscript services for researchers and publishers around the world. Our top-quality PhD editors are all native English speakers from America's top universities. Our editors come from nearly every research field and possess the highest qualifications to edit research manuscripts written by non-native English speakers. For more information about our company, services and partner discounts, please visit www.aje.com.

Substantia nigra fractional anisotropy is not a diagnostic biomarker of Parkinson's disease: A diagnostic performance study and meta-analysis

Fabiana C. C. Hirata¹ · João R. Sato^{1,2} · Gilson Vieira¹ · Leandro T. Lucato¹ ·
Claudia C. Leite¹ · Edson Bor-Seng-Shu^{3,4} · Bruno F. Pastorello¹ ·
Maria C. G. Otaduy¹ · Khalil T. Chaim¹ · Kenia R. Campanholo¹ ·
Natalia P. Novaes^{3,4} · Luciano Magalhães Melo⁴ · Márcia R. Gonçalves⁴ ·
Felipe Barjud Pereira do Nascimento^{1,3} · Manoel Jacobsen Teixeira⁵ ·
Egberto Reis Barbosa⁴ · Edson Amaro Jr^{1,3} · Ellison Fernando Cardoso^{1,3,6}

Received: 13 June 2016 / Revised: 31 August 2016 / Accepted: 15 September 2016
© European Society of Radiology 2016

Abstract

Objectives Our goal was to estimate the diagnostic accuracy of substantia nigra fractional anisotropy (SN-FA) for Parkinson's disease (PD) diagnosis in a sample similar to the clinical setting, including patients with essential tremor (ET) and healthy controls (HC). We also performed a systematic review and meta-analysis to estimate mean change in SN-FA induced by PD and its diagnostic accuracy.

Methods Our sample consisted of 135 subjects: 72 PD, 21 ET and 42 HC. To address inter-scanner variability, two 3.0-T MRI scans were performed. MRI results of this sample were pooled into a meta-analysis that included 1,432 subjects (806

PD and 626 HC). A bivariate model was used to evaluate diagnostic accuracy measures.

Results In our sample, we did not observe a significant effect of disease on SN-FA and it was uninformative for diagnosis. The results of the meta-analysis estimated a 0.03 decrease in mean SN-FA in PD relative to HC (CI: 0.01–0.05). However, the discriminatory capability of SN-FA to diagnose PD was low: pooled sensitivity and specificity were 72 % (CI: 68–75) and 63 % (CI: 58–70), respectively. There was high heterogeneity between studies ($I^2 = 91.9\%$).

Conclusions SN-FA cannot be used as an isolated measure to diagnose PD.

Key Points

- SN-FA appears insufficiently sensitive and specific to diagnose PD.
- Radiologists must be careful when translating mean group results to clinical practice.
- Imaging protocol and analysis standardization is necessary for developing reproducible quantitative biomarkers.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00330-016-4611-0) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Ellison Fernando Cardoso
lim@usp.br

¹ LIM-44, Department of Radiology, University of São Paulo, Rua Oscar Freire, 1967, Apto. 43A, Cerqueira César, São Paulo, SP, Brazil

² Center of Mathematics, Computation and Cognition, Universidade Federal do ABC, Santo André, Brazil

³ Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brazil

⁴ Department of Neurology, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁵ Department of Neurosurgery, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁶ Institute of Mathematics and Statistics University of São Paulo (IME-USP), São Paulo, Brazil

Keywords Parkinson's disease/Parkinsonism · Essential tremor · Magnetic resonance imaging (MRI) · Diffusion-weighted imaging (DWI) · Sensitivity and specificity

Introduction

Currently, diagnosis of Parkinson's disease (PD) relies on clinical signs. In early stages, establishing a PD diagnosis can be very challenging, as PD symptoms often overlap with those of other movement disorders, such as essential tremor (ET),

supranuclear palsy, multiple system atrophy and other parkinsonian syndromes. The establishment of an imaging biomarker of PD is highly desirable to support clinical diagnosis. This is a current challenge in neuroradiology [1].

Many radiological signs have been described to distinguish PD from other parkinsonian syndromes, and these differences enable the robust classification of disease by automated computer programs. However, the accuracy of MRI in distinguishing PD patients from healthy volunteers and ET patients remains very poor [2]. Although dopamine transporter imaging (DAT) can be used for this purpose [3], the availability of DAT tests is limited, and MRI alternatives are needed.

According to recent reports, fractional anisotropy in the caudal and lateral substantia nigra (SN; SN-FA) may be a diagnostic MRI biomarker of PD [4]. This region is of interest because it is one of the main sites of dopaminergic neuron loss, which is correlated with the motor symptoms of PD. Despite this evidence, two recent meta-analyses have reported conflicting conclusions: one emphasizes the importance of SN-FA as a promising biomarker, and one questions the reliability and utility of this method [5, 6].

The purpose of the present study was to estimate the diagnostic accuracy and reproducibility of SN-FA for PD diagnosis in a sample similar to the clinical setting, in which a challenging cohort for differential diagnosis consisting of patients with PD or ET and healthy controls (HC) was examined. To gain a deeper understanding of our findings, we also performed a systematic literature review and meta-analysis to estimate the mean change in SN-FA induced by PD and to determine the diagnostic accuracy of this measure.

Materials and methods

Study sample

Patients were prospectively recruited from the Movement Disorders Clinics of *Hospital das Clínicas* – University of São Paulo and Brazil-Parkinson Association (São Paulo – Brazil) from June 2011 to March 2014. The PD and ET patients who were included in this study fulfilled the diagnostic criteria established by the UK-PD Brain Bank and the ET Movement Disorders Society, respectively. HC were recruited by phone and accompanied the patients during the examinations. The HC underwent a physical neurological examination and were excluded if any abnormality was found. Subjects were excluded if they had a contraindication to MR scanning, previous brain surgeries or concomitant neurological pathologies. All participants provided written informed consent. Local ethics committees approved this HIPAA-compliant study.

One neurologist with more than 5 years' experience who was blinded to the examination results performed the neurological examinations and assessments. The PD patient

evaluations, which were conducted during the ON state, included the Hoehn and Yahr scale (HY), the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) and the Schwab and England Activities of Daily Living index (ADL).

Sample size was estimated according to Obuchowski and McClish [7]. As we aimed to include a clinical scenario (where the controls do not consist solely of healthy subjects), we assumed two populations: controls (composed of healthy subjects and ET patients) and disease (PD) patients. We assumed an area under the ROC curve of at least 0.65, a 5 % significance level and 80 % power. This calculation estimated a sample of 55 individuals in each group. Additional subjects, using the same selection criteria, were recruited to account for missing data.

Diffusion tensor imaging (DTI) acquisition

The participants underwent two 3.0-T MRI exams using an MR scanner equipped with a 32-channel head coil (Phillips and Siemens). Scans were performed at different locations, and the results were collected within 2 weeks. First, the participants underwent examination in a Siemens Trio scanner with a 45 mT/m gradient strength, and they received a clinical examination on the same day. The second examination in an Achieva scanner (Philips Medical Systems, Best, The Netherlands) with an 80 mT/m gradient strength was performed within 2 weeks after the first examination. To avoid motion artifacts, the PD patients were scanned during the ON state.

To produce optimal classification results, for both MR scanners, we implemented an imaging protocol similar to that used by Vaillancourt [4], as this author has reported the highest discriminatory capability: repetition time (TR) 4,500 ms, echo time (TE) 82 ms, b-values 0 and 1,000 s/mm², diffusion gradient directions 30, field of view 20 cm x 20 cm, matrix 128 x 128 (k-space interpolation to 256 x 256), number of excitations 4, slice thickness 4 mm and slice interval 1 mm.

DTI analysis

FMRIB's Diffusion Toolbox (FDT) in FSL 5.5.0 (a component of the FMRIB software library, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>) was used to process images. DTI pre-processing consisted of motion correction, affine registration and procedures to reduce the effects of eddy currents, followed by calculation of the diffusion tensor parametric maps. Two neuroradiologists with more than 5 years' experience who were blinded to clinical diagnosis manually placed a region of interest (ROI) using anatomical landmarks to sample the caudal SN [4].

Statistical analysis

The statistical software used was R (<http://www.R-project.org/>) including the packages pROC, lme4, mada and

Table 1 Detailed clinical and demographic characteristics of each study included in the quantitative analysis

Study	Clinical and demographic characteristics										Mean and standard deviation of SNrFA			
	First author	Year	Parkinson's disease patients					Healthy controls						
			Sample size	Age	Male %	UPDRS III	HY	LED	Years of disease	Sample size	Age	Male %		
Chen [11]		2007	73	63.6 (9.8)	56 %	—	2.4	398.8 (175.2)	5.0 (4.1)	78	61.9 (9.3)	51.3 %	0.40 (0.04)	0.41 (0.04)
Vallaracourt [4]		2009	14	57.2 (9.6)	57 %	18 (8.1)	1.7	—	1.3 (0.9)	14	58 (—)	—	0.42 (0.05)	0.57 (0.05)
Menke [12]		2009	10	63.7 (6.7)	70 %	—	2.3	—	6.1 (4.4)	10	64.4 (9.9)	70 %	0.35 (0.07)	0.37 (0.07)
Peran [13]		2010	30	61.9 (11.1)	66 %	12 (6)	1.6	886.8 (399.5)	4.5 (2.5)	22	57.4 (9.7)	50 %	0.42 (0.03)	0.46 (0.03)
Rehbein [14]		2011	14	56.0 (4.8)	57 %	—	1.3	—	2.5 (1.5)	14	55.2 (6.2)	57 %	0.42 (0.02)	0.45 (0.02)
Wang [15]		2011	30	64.5 (3.4)	63 %	33.6 (14.1)	2	—	5.2 (2.0)	30	65.0 (5.1)	60 %	0.45 (0.06)	0.43 (0.06)
Zhan [16]		2012	12	67.4 (8.0)	100 %	26.3 (12.2)	—	—	—	20	67.2 (8.0)	100 %	0.36 (0.05)	0.49 (0.06)
Parkash [17]		2012	11	60.4 (9.3)	36 %	23.5 (9.5)	2.1	—	5.7 (4.2)	12	60.8 (8.5)	50 %	0.42 (0.04)	0.43 (0.03)
Du [18]		2012	40	60.8 (8.2)	57 %	23.5 (15.1)	1.7	528 (40.1)	4.2 (4.7)	28	59.8 (7.0)	46 %	0.48 (0.05)	0.51 (0.05)
Skorpi [19]		2012	14	64 (—)*	57 %	32.1 (6.0)	1.75	669 (31.8)	—	15	60 (—)*	60 %	0.37 (0.05)	0.41 (0.05)
Schwarz [5]		2013	32	64.8 (11.8)	50 %	26.1 (13.9)	1.7	—	—	27	59.9 (10.5)	40 %	0.44 (0.05)	0.45 (0.05)
Scherfler [20]		2013	16	68.1 (6.1)	37 %	20 (10.3)	2.3	—	3.7 (3.7)	14	67.3 (3.7)	42 %	0.53 (0.07)	0.59 (0.09)
Perez [21]		2013	12	67.5 (4.0)	41 %	19.5 (7.1)	—	—	6.38 (4.19)	13	71.5 (7.45)	46 %	0.52 (0.05)	0.59 (0.04)
Chen [22]		2014	21	72.0 (4.8)	80 %	—	2.2	—	—	19	71.5 (5.0)	84 %	0.51 (0.10)	0.53 (0.05)
Lenfeldt [23]		2015	122	70.3 (9.7)	61 %	26.1 (10.6)	2.2	—	2.1 (2.0)	34	68.9 (6.1)	47 %	0.44 (0.07)	0.39 (0.07)
Jiang [24]		2015	31	69.4 (8.0)	52 %	—	—	—	4.4	34	69.3 (8.0)	—	0.54 (0.06)	0.58 (0.08)
Schuff [25]		2015	153	61.0 (10)	63 %	36.0 (14.0)	1.6 (0.5)	—	—	67	60 (11.0)	66 %	0.31 (0.05)	0.32 (0.05)
Zhang [26]		2015	72	66.8 (5.4)	36 %	14.94 (3.8)	1.6 (1.2)	—	1.1	73	66.0 (6.7)	38 %	0.33 (0.02)	0.41 (0.03)
Langley [27]		2016	20	60.3 (8.4)	—	23.2 (9.3)	—	—	—	17	70.8 (5.1)	—	0.36 (0.03)	0.37 (0.03)
Nague [28]		2016	21	61.1 (7.7)	55 %	—	2.2 (0.7)	505.4 (366.7)	5.5 (3.4)	20	61.1 (9.0)	55 %	0.62 (0.06)	0.65 (0.06)
Loane [29]		2016	18	56.8 (6.8)	67 %	26.2 (9.2)	—	471.1 (251.4)	3.9 (2.2)	14	56.32 (6.45)	71 %	0.48 (0.04)	0.47 (0.03)
Kamagata [30]		2016	58	68.8 (7.5)	55 %	18.0 (8.5)	2.5 (0.7)	—	7.3	36	70.8 (8.4)	50 %	0.44 (0.04)	0.47 (0.04)
This study		2016	72	62.6 (11.2)	73 %	28.7 (14.1)	1.9	706 (40.4)	5.7 (5.5)	42	64.3 (11.5)	26 %	0.42 (0.06)	0.41 (0.05)

SNrFA substantia nigra fractional anisotropy; UPDRS Uni Bed Parkinson's disease rating scale; HY Hoehn and Yahr; LED levodopa equivalent dose

* Range reported Parkinson's disease: 43–73; healthy controls: 44–72

disease or radiologist. The estimated standard deviation of the site-subject interaction was 0.0439 (confidence interval (CI): 0.036–0.052) (Table e2 – Supplemental Data). The diagnostic results did not show any evidence of violation of the model assumptions.

Reproducibility

Between sites, the estimated bias was 0.01 and the 95 % limits of agreement (LOA) were –0.18 and 0.21. We did not observe significant bias between radiologists, with estimated 95 % LOA of –0.15 and 0.15. The relevant Bland-Altman plots are presented in the Supplemental Material.

Meta-analysis

In accordance with the PRISMA guidelines, Fig. 1 shows a flow diagram of the study selection protocol. Our final set included 22 studies published between 2007 and 2016 and our own data reported in this paper, consisting of a population of 1,432 subjects composed of 806 PD patients and 626 HC.

Using a random-effects model to account for study variability, the mean SN-FA of the PD patients was 0.44 (CI: 0.41–0.47), but very large study heterogeneity was observed ($I^2 = 98.8\%$). Similar results were found for the HC: the mean SN-FA was 0.47 (CI: 0.44–0.50), and large study heterogeneity ($I^2 = 99.1\%$) was observed (Fig. 2).

In addition, there was a small but significant difference in mean SN-FA between the groups. The PD patients showed a decrease in SN-FA of 0.03 (CI: 0.01–0.04; p -value: 0.0006)

relative to the HC (Fig. 3). There was large heterogeneity between the study results ($I^2 = 91.9\%$). A funnel plot and linear regression test for asymmetry did not show evidence of publication bias (p -value: 0.28). Sensitivity analysis confirmed the robustness of the findings.

To address potential causes of this very high level of variability, we performed an exploratory meta-regression using the following explanatory variables: field strength, number of encoding diffusion directions and b-value (Table e3 – Supplemental Data). None of these factors was a significant contributor to the mean difference between groups.

Previous literature data indicated that at least 20 diffusion-encoding directions are necessary for a robust estimation of anisotropy but that at least 30 are required for a robust estimation of tensor orientation and mean diffusivity [31]. We explored the subset of studies that examined more than 30 diffusion-encoding directions (16 studies). In this subset, the PD patients showed a statistically significant decrease in SN-FA of 0.021 (CI: 0.033–0.010) compared with the HC. Consequently, heterogeneity was smaller but remained large ($I^2 = 67.1\%$) (Fig. e1 – Supplemental Data).

With regard to diagnostic accuracy (using the binomial ROC curve assumption), the pooled sensitivity and specificity were 72 % (CI: 68–75) and 63 % (CI: 57–70), respectively (see Fig. 4). We found non-statistically significant heterogeneity in sensitivities (p -value = 0.21) but a significant heterogeneity in specificities (p -value < 0.01). The estimated area under the curve (AUC) using interpolation was 0.73, and the partial AUC (restricted to observe false-positive rates and normalized) was 0.69.

Fig. 1 Study selection. The most recent search of articles to be included in this meta-analysis was performed on 18 August 2016. FA fractional anisotropy

* Search criteria for each database can be found on Supplemental Material.

Fig. 2 Separated forest plots for Parkinson's disease (PD) patients and healthy controls (HC). The mean substantia nigra fractional anisotropy (SN-FA) in PD patients was 0.44 (CI: 0.41–0.47), but very high study

heterogeneity was observed ($I^2 = 98.8\%$). Similar results were found in the HC, for which a mean SN-FA of 0.47 (CI: 0.44–0.50) and high study heterogeneity ($I^2 = 99.1\%$) was found

Discussion

Our results indicate that SN-FA alone cannot be used as a diagnostic biomarker of Parkinson's disease. Meta-analysis estimated a small decrease in the mean SN-FA in PD patients (0.03 (CI: 0.01–0.05)). Despite this difference, the discriminatory capability of SN-FA for establishing a diagnosis of PD was low. The pooled sensitivity and specificity were 72 % (CI: 68–75) and 63 % (CI: 57–70), respectively. The mean difference in SN-FA between groups was at least fivefold smaller than the LOA between radiologists (−0.15, 0.15) or between sites (−0.18, 0.21) observed in our data.

Clinicians should consider that the presence of a statistically significant mean difference does not necessarily imply a good diagnostic biomarker. The ability to correctly classify individuals depends on not only the difference between the mean values but also the variability within each group. Although the mean SN-FA was smaller in PD patients, the ability of SN-FA to correctly diagnose individuals is poor. This misinterpretation leads to the commonly overstated claim of a biomarker when differences between means are observed. Our approach is different

from that of previous meta-analyses, which have focused on only the mean differences between groups.

The biological interpretation of a lower mean SN-FA in PD patients is not straightforward and should be based on histological findings. Many factors might lead to a smaller FA, such as a lower cell density, a greater axonal diameter, crossing of fibres [32] and motion artifacts [33]. The increased iron deposition in the SN of PD patients [34] further hinders the interpretation of a lower mean FA in these patients. Deposited iron interacts with the local magnetic field and increases FA, thus leading to bias in the results [35]. The interaction of many factors such as cell density, iron deposition and gliosis alters the microstructural environment of the SN in PD patients, resulting in changes in mean diffusion measures.

Modern phased array coils typically have the lowest signal-to-noise ratio (SNR) at the centre of the filling volume, which coincides with the brainstem position in the brain. Moreover, this region typically contains susceptibility artefacts due to its proximity to the sphenoidal sinus and pulsatility artefacts due to its proximity to the basilar artery. These artefacts are exacerbated in stronger magnetic fields. In addition, possible partial volume effects due to the low volume of the SN can

Fig. 3 Substantia nigra fractional anisotropy (SN-FA) – raw mean difference (D) forest plot. Using a random-effects model to account for study variability, our meta-analysis showed a small but significant mean difference between groups. Parkinson's disease (PD) patients showed a decrease of 0.03 in SN-FA relative to healthy controls (HC) (CI: 0.01–0.05). The meta-analysis included 23 studies and a total population of 1,432 subjects composed of 806 PD patients and 626 HC. There was high heterogeneity among study results ($I^2 = 91.9\%$)

decrease the disease effects. All of these factors might contribute to the variability in FA.

Although SN-FA cannot discriminate PD patients from HC as an isolated measure, advanced statistical classifiers may be used to combine SN-FA with other variables to establish a PD diagnosis. Two studies combined SN-FA with another measures to generate much greater discriminative performance [12, 13]. Both studies used a case-control design, and, consequently, the estimates of diagnostic performance might have increased bias. These approaches must be reproduced in other studies before their implementation in clinical practice. However, the greatest challenge to the application of SN-FA to PD diagnosis is the very high variability observed in this meta-analysis.

Including the most recent data in this meta-analysis resulted in an increase in between-study variability ($I^2 = 92\%$, compared with 9.5 and 86 % as previously reported). Neither field strength nor the number of directions contributed to the large heterogeneity observed based on analysis using a meta-regression model. As this model might be underpowered, one potential factor contributing to variability might be technical aspects of imaging acquisition and quality control. Studies have reported differences in FA between MRI scans using 1.5- and 3.0-T magnetization, between the number of gradient-encoding directions [36], between the b-values used [37] and between SNRs [38]. The subset of 15 studies that examined more than 30 diffusion directions showed smaller heterogeneity ($I^2 = 63.2\%$) than the total study set. In our sample, using the identical imaging protocol at two different sites, the most important component of SN-FA variability was the site-subject interaction. The results of one large multicentre study suggest that a physical

phantom should be used in multicentre diagnostic trials using DTI to detect potential sources of bias and to reliably estimate the effect size [39]. This suggestion highlights the importance of standardizing not only imaging protocols but also quality control and analysis to enable the establishment of reproducible biomarkers. The results of our study show that the variation in SN-FA is sufficiently high to preclude the use of SN-FA as an isolated biomarker to diagnose PD.

One limitation of a meta-analysis of diagnostic accuracy is the assumption of a binomial distribution of the ROC curve for each study. As most studies did not report sensitivity and specificity, we had to estimate these measurements by selecting the optimal thresholds for each study. This approach, although frequently used, might lead to an artificial increase in diagnostic performance indexes [40]. In addition, based on the QUADAS criteria, all studies displayed a high likelihood of increased estimates of sensitivity and specificity. Despite these results, the discriminative power of SN-FA was low.

Recently published papers have reported that distinctive changes in the SN can be detected via ultra-high-field 7-T MRI [41, 42]. Using gradient echo three-dimensional susceptibility-weighted imaging (GRE-SWI), the authors were able to visualize subpopulations of dopamine-containing neurons within the SN *pars compacta*. The largest group – nigrosome 1 – was clearly identified in the HC as an area of high signal in the caudal and lateral SN due to the low iron content of this region. As a result of the deposition of iron in PD patients, nigrosome 1 was not identified on MRI, enabling correct diagnosis. These results were reproduced using 3-T MR scanners [43]. This characteristic was also described in patients with other parkinsonian syndromes [44], and the most important contribution of

under the curve (AUC) using interpolation was 0.73, and the partial AUC (restricted to observed false-positive rates and normalized) was 0.69. The correlation between sensitivity and false-positive rate was estimated as -0.37 (CI: -0.68 – 0.04).

consent was obtained from all subjects in this study. Methodology: prospective, diagnostic study, multicentre study.

References

1. Hughes AJ, Daniel SE, Ben-Shlomo Y, Lees AJ (2002) The accuracy of diagnosis of parkinsonian syndromes in a specialist movement disorder service. *Brain* 125:861–870.
2. Marquand AF, Filippone M, Ashburner J et al (2013) Automated, high accuracy classification of parkinsonian disorders: a pattern recognition approach. *PLoS ONE* 8:e69237.
3. Shih MC, Amaro E, Ferraz HB et al (2006) Neuroimaging of the dopamine transporter in Parkinson's disease: first study using [99mTc]-TRODAT-1 and SPECT in Brazil. *Arq Neuropsiquiatr* 64:628–634.
4. Vaillancourt DE, Spraker MB, Prodoehl J et al (2009) High-resolution diffusion tensor imaging in the substantia nigra of de novo Parkinson disease. *Neurology* 72:1378–1384.
5. Schwarz ST, Abaei M, Genta V, Morgan PS, Bajaj N, Auer DP (2013) Diffusion tensor imaging of nigral degeneration in Parkinson's disease: a region-of-interest and voxel-based study at 3 T and systematic review with meta-analysis. *NeuroImage Clin* 3:481–488.

Springer

6. Cochrane CJ, Ebrahimi KP (2013) Diffusion tensor imaging in parkinsonian syndromes: a systematic review and meta-analysis. *Neurology* 80:857–864
7. Obuchowski NA, McClish DK (1997) Sample size determination for diagnostic accuracy studies involving binormal ROC curve indices. *Stat Med* 16:1529–1542
8. Raunig DL, McShane LM, Pennello G et al (2015) Quantitative imaging biomarkers: a review of statistical methods for technical performance assessment. *Stat Methods Med Res* 24:27–67
9. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME et al (2011) QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med* 155:529–536
10. Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AW, Scholten RJ, Bossuyt PM, Zwinderman AH (2005) Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. *J Clin Epidemiol* 58:982–990
11. Chan LL, Rumpel H, Yap K et al (2007) Case control study of diffusion tensor imaging in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78:1383–1386
12. Menke RA, Jbabdi S, Miller KL, Matthews PM, Zarei M (2010) Connectivity-based segmentation of the substantia nigra in human and its implications in Parkinson's disease. *NeuroImage* 52:1175–1180
13. Pèran P, Cherubini A, Assogna F et al (2010) Magnetic resonance imaging markers of Parkinson's disease nigrostriatal signature. *Brain* 133:3423–3433
14. Rolheiser TM, Fulton HG, Good KP et al (2011) Diffusion tensor imaging and olfactory identification testing in early-stage Parkinson's disease. *J Neurol* 258:1254–1260
15. Wang JJ, Lin WY, Lu CS et al (2011) Parkinson disease: diagnostic utility of diffusion kurtosis imaging. *Radiology* 261:210–217
16. Zhan W, Kang GA, Glass GA et al (2012) Regional alterations of brain microstructure in Parkinson's disease using diffusion tensor imaging. *Mov Disord* 27:90–97
17. Prakash BD, Sitoh Y-Y, Tan LC, Au WL (2012) Asymmetrical diffusion tensor imaging indices of the rostral substantia nigra in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 18:1029–1033
18. Du G, Lewis MM, Styner M et al (2011) Combined R2* and diffusion tensor imaging changes in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Mov Disord* 26:1627–1632
19. Skorpil M, Söderlund V, Sundin A, Svenningsson P (2012) MRI diffusion in Parkinson's disease: using the technique's inherent directional information to study the olfactory bulb and substantia nigra. *J Parkinsons Dis* 2:171–180
20. Scherfner C, Esterhammer R, Nocker M et al (2013) Correlation of dopaminergic terminal dysfunction and microstructural abnormalities of the basal ganglia and the olfactory tract in Parkinson's disease. *Brain* 136:3028–3037
21. Perea RD, Rada RC, Wilson J et al (2013) A comparative white matter study with Parkinson's disease, Parkinson's disease with dementia and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* Parkinsonism 3:123
22. Chan L-L, Ng K-M, Rumpel H, Fook-Chong S, Li HH, Tan EK (2014) Transcallosal diffusion tensor abnormalities in predominant gait disorder parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord* 20:53–59
23. Lenfeldt N, Larsson A, Nyberg L, Birgander R, Forsgren L (2015) Fractional anisotropy in the substantia nigra in Parkinson's disease: a complex picture. *Eur J Neurol* 22:1408–1414
24. Jiang M-F, Shi F, Niu G-M, Xie SH, Yu SY (2015) A novel method for evaluating brain function and microstructural changes in Parkinson's disease. *Neural Regen Res* 10:2025–2028
25. Schuff N, Wu I-W, Buckley S et al (2015) Diffusion imaging of nigral alterations in early Parkinson's disease with dopaminergic deficits. *Mov Disord* 30:1885–1892
26. Zhang G, Zhang Y, Zhang C et al. Research article diffusion kurtosis imaging of substantia nigra is a sensitive method for early diagnosis and disease evaluation in Parkinson's disease. *Parkinson's disease*. Hindawi Publishing Corporation. 2015; Article ID 207624: 1–5 doi: 10.1155/2015/207624
27. Langley J, Huddleston DE, Merritt M et al (2016) Diffusion tensor imaging of the substantia nigra in Parkinson's disease revisited. *Hum Brain Mapp* 37:2547–2556
28. Nagae LM, Honce JM, Tanabe J, Shelton E, Sillau SH, Berman BD (2016) Microstructural changes within the basal ganglia differ between Parkinson disease subtypes. *Front Neuroanat* 10:17
29. Loane C, Politis M, Kefalopoulou Z et al (2016) Aberrant nigral diffusion in Parkinson's disease: a longitudinal diffusion tensor imaging study. *Mov Disord* 31:1020–1026
30. Kamagata K, Hatano T, Okuzumi A et al (2016) Neurite orientation dispersion and density imaging in the substantia nigra in idiopathic Parkinson disease. *Eur Radiol* 26:2567–2577
31. Jones DK (2004) The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI: a Monte Carlo study. *Magn Reson Med* 51:807–815
32. Jones DK, Knösche TR, Turner R (2013) White matter integrity, fiber count, and other fallacies: the do's and don'ts of diffusion MRI. *NeuroImage* 73:239–254
33. Yendiki A, Koldewyn K, Kakunoori S, Kanwisher N, Fischl B (2014) Spurious group differences due to head motion in a diffusion MRI study. *NeuroImage* 88:79–90
34. Jellinger KA, Kienzl E, Rumpelmaier G, Riederer P, Stachelberger H, Ben-Shachar D, Youdim MB (1992) Iron-melanin complex in substantia nigra of parkinsonian brains: an x-ray microanalysis. *J Neurochem* 59:1168–1171
35. Zhang J, Tao R, Liu C et al (2013) Possible effects of iron deposition on the measurement of DTI metrics in deep gray matter nuclei: an in vitro and in vivo study. *Neurosci Lett* 551:47–52
36. Landman BA, Farrell JA, Jones CK, Smith SA, Prince JL, Mori S (2007) Effects of diffusion weighting schemes on the reproducibility of DTI-derived fractional anisotropy, mean diffusivity, and principal eigenvector measurements at 1.5T. *NeuroImage* 36:1123–1138
37. Bisdas S, Bohning DE, Besenski N, Nicholas JS, Rumboldt Z (2008) Reproducibility, interrater agreement, and age-related changes of fractional anisotropy measures at 3T in healthy subjects: effect of the applied b-value. *AJNR Am J Neuroradiol* 29:1128–1133
38. Jones DK, Basser PJ (2004) "Squashing peanuts and smashing pumpkins": how noise distorts diffusion-weighted MR data. *Magn Reson Med* 52:979–993
39. Teipel SJ, Reuter S, Stieltjes B et al (2011) Multicenter stability of diffusion tensor imaging measures: a European clinical and physical phantom study. *Psychiatry Res* 194:363–371
40. Pepe MS (2003) The statistical evaluation of medical tests for classification and prediction. Oxford University Press, Oxford
41. Cosottini M, Frosini D, Pesaresi I et al (2014) MR imaging of the Substantia Nigra at 7 T enables diagnosis of Parkinson disease. *Radiology* 271:831–838
42. Blazejewska AI, Schwarz ST, Pitiot A et al (2013) Visualization of nigrosome 1 and its loss in PD: pathoanatomical correlation and in vivo 7 T MRI. *Neurology* 81:534–540
43. Schwarz ST, Afzal M, Morgan PS, Bajaj N, Gowland PA, Auer DP (2014) The "swallow tail" appearance of the healthy Nigrosome – A new accurate test of Parkinson's disease: a case-control and retrospective cross-sectional MRI Study at 3T. *PLoS One* 9:e93814
44. Kim J-M, Jeong H-J, Bae YJ et al (2016) Loss of substantia nigra hyperintensity on 7 Tesla MRI of Parkinson's disease, multiple system atrophy, and progressive supranuclear palsy. *Parkinsonism Relat Disord* 26:47–54

ANEXO 12 – AUTORIZAÇÃO PARA UTILIZAÇÃO DE IMAGENS DA LITERATURA

Universidade de Sao Paulo - Pdh Study

Entrada x

Fabiana Hirata 24 de jul ☆
Hello! My name is Fabiana Hirata, I am a neuroradiologist and a PhD student a...

Barthel, Henryk 06:01 (Há 11 horas) ☆
para mim, Ellison ▾
Dear Fabiana,

this is fine with me.

Good luck!

Best, Henryk

Prof. Dr. med. Henryk Barthel
Oberarzt Neuro-PET und PET-MRT
Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
Universitätsklinikum Leipzig A.ö.R.
Liebigstr. 18
04103 Leipzig

Henryk Barthel, MD, PhD
Assistant Medical Director Neuro-PET and PET-MRI
Department of Nuclear Medicine
University Hospital Leipzig
Liebigstr. 18
04103 Leipzig, Germany

<mailto:henryk.barthel@medizin.uni-leipzig.de>
<http://nuklmed.medicin.uni-leipzig.de/>
Phone +49 (0)341 9718082 o. 18000
FAX +49 (0)341 9718069

Aufsichtsratsvorsitzender: Prof. Dr. Knut Löschke
Medizinischer Vorstand und Sprecher des Vorstandes: Prof. Dr. med. Wolfgang E. Fleig
Kaufmännischer Vorstand: Marya Verdel
[Liebigstraße 18](#) Steuernummer: 23114604074 Bankverbindung: Deutsche Bank
04103 Leipzig IK: 261401052 BLZ: 860 700 00 Kto: 1247 998
Telefon 0341 97 109 Internet: www.uniklinik-leipzig.de Swift-Code: DEUTDE33 IBAN: DE 27 860 700000 12 47 99 800
Diese E-Mail enthält vertrauliche und / oder rechtlich geschützte Informationen. Sollten Sie nicht der richtige Empfänger sein oder haben Sie diese E-Mail irrtümlich erhalten, informieren Sie uns bitte sofort und vernichten diese E-Mail. Das unerlaubte Kopieren sowie die unbefugte Weitergabe dieser E-Mail und der darin enthaltenen Informationen sind nicht gestattet.

Universidade de Sao Paulo - Phd study

Entrada x

Fabiana Hirata 24 de jul ☆
Hello, my name is Fabiana Hirata, I am a neuroradiologist and a PhD student a...

Fabiana Hirata 24 de jul ☆
Hello! My name is Fabiana Hirata, I am a neuroradiologist and a PhD student a...

Fabiana Hirata 24 de jul ☆
Hello! My name is Fabiana Hirata, I am a neuroradiologist and a PhD student a...

Stefan Schwarz 2 de ago (Há 11 dias) ☆
para mim, Ellison ▾
Hello Fabiana,

Thanks for your email. Feel free to use/adapt the swallow tail figure. The publication is under a CC licence so as long as you cite the source you should be fine.

I like the subject of your PhD. When I started in PD research I wasted a lot of time trying to reproduce Vaillancourts SN DTI findings. Struggling with it - my supervisor had the idea of publishing our results together with a SN DTI meta-analysis (see attachment). For us FA didn't work either.

We were lucky finding that nigrosome imaging (swallow tail) seems to work.

Good luck in your studies,

Stefan Schwarz

9. REFERÊNCIAS

1. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. First of two parts. N Engl J Med. 1998;339:1044–1053.
2. Lang AE, Lozano AM. Parkinson's disease. Second of two parts. N Engl J Med. 1998;339:1130–1143.
3. MD LVK, MD DAEL. Seminar Parkinson's disease. The Lancet. Elsevier Ltd; Epub 2015 Apr 16.:1–17.
4. Algarni MA, Stoessl AJ. The role of biomarkers and imaging in Parkinson's disease. Expert Review of Neurotherapeutics. 2016;16:187–203.
5. Arizona Parkinson's Disease Consortium, Beach TG, Adler CH, et al. Multi-organ distribution of phosphorylated α -synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders. Acta Neuropathol. 2010;119:689–702.
6. Fearnley JM, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. Brain. 1991;114 (Pt 5):2283–2301.
7. Hirtz D, Thurman DJ, Gwinn-Hardy K, Mohamed M, Chaudhuri AR, Zalutsky R. How common are the “common” neurologic disorders? Neurology. 2007;68:326–337.
8. Elbaz A, Bower JH, Maraganore DM. Risk tables for parkinsonism and Parkinson's disease. Journal of Clinical Epidemiology. 2002;55:25–31.
9. Morgan JC, Currie LJ, Harrison MB, Bennett JP, Trugman JM, Wooten GF. Mortality in levodopa-treated Parkinson's disease. Parkinson's Disease. Hindawi Publishing Corporation; 2014;2014:426976–426978.
10. Okubadejo NU, Bower JH, Rocca WA, Maraganore DM. Parkinson's disease in Africa: A systematic review of epidemiologic and genetic studies. Mov Disord. 2006;21:2150–2156.
11. Horsfall L, Petersen I, Walters K, Schrag A. Time trends in incidence of Parkinson's disease diagnosis in UK primary care. J Neurol. 2012;260:1351–1357.
12. MD PAA, MD PMAS. Review The epidemiology of Parkinson's disease: risk factors and prevention. The Lancet Neurology. Elsevier Ltd; 2016;15:1257–1272.
13. Bower JH, Maraganore DM, McDonnell SK, Rocca WA. Influence of strict, intermediate, and broad diagnostic criteria on the age- and sex-specific incidence of Parkinson's disease. Mov Disord. John

Wiley & Sons, Inc; 2000;15:819–825.

14. Noyce AJ, Bestwick JP, Silveira-Moriyama L, et al. Meta-analysis of early nonmotor features and risk factors for Parkinson disease. *Ann Neurol*. 2012;72:893–901.
15. Sellbach AN, Boyle RS, Silburn PA, Mellick GD. Parkinson's disease and family history. *Parkinsonism Relat Disord*. 2006;12:399–409.
16. Corti O, Lesage S, Brice A. What Genetics Tells us About the Causes and Mechanisms of Parkinson's Disease. *Physiological Reviews*. 2011;91:1161–1218.
17. Braak H, Del Tredici K, Rüb U, de Vos R. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*. 2003;24:197–211.
18. Kordower JH, Olanow CW, Dodiya HB, et al. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain*. 2013;136:2419–2431.
19. Perez RG, Waymire JC, Lin E, Liu JJ, Guo F, Zigmond MJ. A role for alpha-synuclein in the regulation of dopamine biosynthesis. *J Neurosci*. 2002;22:3090–3099.
20. Visanji NP, Brooks PL, Hazrati L-N, Lang AE. The prion hypothesis in Parkinson's disease: Braak to the future. 2013;1:1–1.
21. Irwin DJ, White MT, Toledo JB, et al. Neuropathologic substrates of Parkinson disease dementia. *Ann Neurol*. 2012;72:587–598.
22. Tansey MG, Goldberg MS. Neuroinflammation in Parkinson's disease: Its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiology of Disease*. Elsevier Inc; 2010;37:510–518.
23. McCoy MK, Cookson MR. Mitochondrial Quality Control and Dynamics in Parkinson's Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2012;16:869–882.
24. Shimura H. Ubiquitination of a New Form of alpha -Synuclein by Parkin from Human Brain: Implications for Parkinson's Disease. *Science*. 2001;293:263–269.
25. Elsworth JD, Roth RH. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*. 1997;144:4–9.
26. Buhmann C. Pharmacologically modulated fMRI---cortical responsiveness to levodopa in drug-naïve hemiparkinsonian patients. *Brain*. 2003;126:451–461.
27. Turner RS, Grafton ST, McIntosh AR, DeLong MR, Hoffman JM. The

- functional anatomy of parkinsonian bradykinesia. *NeuroImage*. 2003;19:163–179.
28. Meltzer PC, Madras BK. Imaging of dopamine transporters in humans with technetium-99m TRODAT-1. *Eur J Nucl Med*. 1997;24:462–463.
 29. Shih MC, Amaro E Jr, Ferraz HB, et al. Neuroimagem do transportador de dopamina na doença de Parkinson: primeiro estudo com [99mTc]-TRODAT-1 e SPECT no Brasil. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*. Associação Arquivos de Neuro-Psiquiatria; 2006;64:628–634.
 30. Shih MC, Franco de Andrade LA, Amaro E, et al. Higher nigrostriatal dopamine neuron loss in early than late onset Parkinson's disease?—A [99mTc]-TRODAT-1 SPECT study. *Mov Disord*. 2007;22:863–866.
 31. Wise RA. Brain Reward Circuitry. *Neuron*. Elsevier; 2002;36:229–240.
 32. Ikemoto S, Witkin BM, Morales M. Rewarding injections of the cholinergic agonist carbachol into the ventral tegmental area induce locomotion and c-Fos expression in the retrosplenial area and supramammillary nucleus. *Brain Research*. 2003;969:78–87.
 33. AlDakheel A, Kalia LV, Lang AE. Pathogenesis-Targeted, Disease-Modifying Therapies in Parkinson Disease. *Neurotherapeutics*. 2013;11:6–23.
 34. Sandyk R, Iacono RP, Bamford CR. The hypothalamus in Parkinson disease. *Ital J Neurol Sci*. 1987;8:227–234.
 35. Marras C, Lang A. Parkinson's disease subtypes: lost in translation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013;84:409–415.
 36. Postuma RB, Aarsland D, Barone P, et al. Identifying prodromal Parkinson's disease: Pre-Motor disorders in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2012;27:617–626.
 37. Gibb WR, Lees AJ. The relevance of the Lewy body to the pathogenesis of idiopathic Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. BMJ Publishing Group Ltd; 1988;51:745–752.
 38. Hughes AJ, Daniel SE, Kilford L, Lees AJ. Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992;55:181–184.
 39. Hughes AJ, Daniel SE, Lees AJ. Improved accuracy of clinical diagnosis of Lewy body Parkinson's disease. *Neurology*. 2001;57:1497–1499.
 40. Hely MA, Reid WGJ, Adena MA, Halliday GM, Morris JGL. The Sydney multicenter study of Parkinson's disease: The inevitability of dementia at 20 years. *Mov Disord*. 2008;23:837–844.
 41. Ure RJ, Dhanju S, Lang AE, Fasano A. Unusual tremor syndromes:

- know in order to recognise. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2016;87:1191–1203.
42. Chouinard S, Louis ED, Fahn S. Agreement among movement disorder specialists on the clinical diagnosis of essential tremor. *Mov Disord*. 1997;12:973–976.
 43. Bain PG, Findley LJ, Thompson PD, et al. A study of hereditary essential tremor. *Brain*. 1994;117 (Pt 4):805–824.
 44. Shill HA, Adler CH, Sabbagh MN, et al. Pathologic findings in prospectively ascertained essential tremor subjects. *Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2008;70:1452–1455.
 45. Louis ED, Honig LS, Vonsattel JPG, Maraganore DM, Borden S, Moskowitz CB. Essential tremor associated with focal nonnigral Lewy bodies: a clinicopathologic study. *Arch Neurol*. 2005;62:1004–1007.
 46. Shin DH, Han BS, Kim HS, Lee PH. Diffusion Tensor Imaging in Patients With Essential Tremor. *American Journal of Neuroradiology*. 2008;29:151–153.
 47. Deng H, Le W, Jankovic J. Genetics of essential tremor. *Brain*. 2007;130:1456–1464.
 48. Deuschl G, Bain P, Brin M. Consensus statement of the Movement Disorder Society on Tremor. Ad Hoc Scientific Committee. *Mov Disord*. 1998;13 Suppl 3:2–23.
 49. Louis ED. Treatment of essential tremor: are there issues we are overlooking? *Epub* 2012 Jan 12.:1–9.
 50. Rocca WA, Bower JH, Ahlskog JE, et al. Increased risk of essential tremor in first-degree relatives of patients with Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2007;22:1607–1614.
 51. Gironell A, Kulisevsky J. Diagnosis and management of essential tremor and dystonic tremor. *Ther Adv Neurol Disord*. SAGE Publications; 2009;2:215–222.
 52. Mascalchi M, Vella A, Ceravolo R. Movement disorders: role of imaging in diagnosis. *J Magn Reson Imaging*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2012;35:239–256.
 53. Fox SH, Katzenschlager R, Lim S-Y, et al. The Movement Disorder Society Evidence-Based Medicine Review Update: Treatments for the motor symptoms of Parkinson's disease. Fox SH, Seppi K, Sampaio C, editors. *Mov Disord*. 2011;26:S2–S41.
 54. Yarnall A, Rochester L, Burn DJ. The interplay of cholinergic function, attention, and falls in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2011;26:2496–2503.

55. Al-Radaideh AM, Rababah EM. The Role of Magnetic Resonance Imaging in the Diagnosis of Parkinson's Disease: A review. *Journal of Clinical Imaging*. Elsevier B.V; Epub 2016 May 25.:1–43.
56. FEARNLEY JM, Lees AJ. AGEING AND PARKINSON'S DISEASE: SUBSTANTIA NIGRA REGIONAL SELECTIVITY. *Brain*. Oxford University Press; 1991;114:2283–2301.
57. Damier P, Hirsch EC, Agid Y, Graybiel AM. The substantia nigra of the human brain. *Brain*. Oxford University Press; 1999;122:1421–1436.
58. Apostolova LG, Beyer M, Green AE, et al. Hippocampal, caudate, and ventricular changes in Parkinson's disease with and without dementia. *Mov Disord*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2010;25:687–695.
59. Sasaki M, Shibata E, Tohyama K, et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson's disease. *NeuroReport*. 2006;17:1215–1218.
60. Kosta P, Argyropoulou MI, Markoula S, Konitsiotis S. MRI evaluation of the basal ganglia size and iron content in patients with Parkinson's disease. *J Neurol*. 2005;253:26–32.
61. Minati L, Grisoli M, Carella F, De Simone T, Bruzzone MG, Savoiardo M. Imaging degeneration of the substantia nigra in Parkinson disease with inversion-recovery MR imaging. *American Journal of Neuroradiology*. 2007;28:309–313.
62. Ziegler DA, Wonderlick JS, Ashourian P, et al. Substantia nigra volume loss before basal forebrain degeneration in early Parkinson disease. *JAMA Neurol*. 2013;70:241–247.
63. Tessa C, Giannelli M, Nave Della R, et al. A whole-brain analysis in de novo Parkinson disease. *American Journal of Neuroradiology*. 2008;29:674–680.
64. Lee HM, Kwon K-Y, Kim M-J, et al. Subcortical grey matter changes in untreated, early stage Parkinson's disease without dementia. *Parkinsonism Relat Disord*. Elsevier; 2012;20:–.
65. Jia X, Liang P, Li Y, Shi L, Wang D, Li K. Longitudinal Study of Gray Matter Changes in Parkinson Disease. *American Journal of Neuroradiology*. 2015;36:2219–2226.
66. Dexter DT, Wells FR, Lee AJ, et al. Increased Nigral Iron Content and Alterations in Other Metal Ions Occurring in Brain in Parkinson's Disease. *Journal of Neurochemistry*. Blackwell Publishing Ltd; 1989;52:1830–1836.
67. Oakley AE, Collingwood JF, Dobson J, et al. Individual dopaminergic neurons show raised iron levels in Parkinson disease. *Neurology*.

2007;68:1820–1825.

68. Cosottini M, Frosini D, Pesaresi I, et al. MR Imaging of the Substantia Nigra at 7 T Enables Diagnosis of Parkinson Disease. *Radiology*. 2014;271:831–838.
69. Kwon D-H, Kim J-M, Oh S-H, et al. Seven-Tesla magnetic resonance images of the substantia nigra in Parkinson disease. *Ann Neurol*. 2012;71:267–277.
70. Blazejewska AI, Schwarz ST, Pitiot A, et al. Visualization of nigrosome 1 and its loss in PD: pathoanatomical correlation and in vivo 7 T MRI. *Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2013;81:534–540.
71. Schwarz ST, Afzal M, Morgan PS, Bajaj N, Gowland PA, Auer DP. The “Swallow Tail” Appearance of the Healthy Nigrosome – A New Accurate Test of Parkinson's Disease: A Case-Control and Retrospective Cross-Sectional MRI Study at 3T. Bush AI, editor. *PLOS ONE*. Public Library of Science; 2014;9:e93814.
72. Beaulieu C. The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed*. 2002;15:435–455.
73. Le Bihan D, van Zijl P. From the diffusion coefficient to the diffusion tensor. *NMR Biomed*. John Wiley & Sons, Ltd; 2002;15:431–434.
74. Bassar PJ, Mattiello J, LeBihan D. MR diffusion tensor spectroscopy and imaging. *Biophysical Journal*. Elsevier; 1994;66:259–267.
75. MD PAJS, MD PWWM, MD PMJM, PhD PVS. Advances in imaging in Parkinson's disease. *The Lancet Neurology*. Elsevier Ltd; 2011;10:987–1001.
76. Chan L-L, Rumpel H, Yap K, et al. Case control study of diffusion tensor imaging in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. BMJ Publishing Group Ltd; 2007;78:1383–1386.
77. Yoshikawa K, Nakata Y, Yamada K, Nakagawa M. Early pathological changes in the parkinsonian brain demonstrated by diffusion tensor MRI. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. BMJ Publishing Group Ltd; 2004;75:481–484.
78. Vaillancourt DE, Spraker MB, Prodoehl J, et al. High-resolution diffusion tensor imaging in the substantia nigra of de novo Parkinson disease. *Neurology*. 2009;72:1378–1384.
79. Gattellaro G, Minati L, Grisoli M, et al. White matter involvement in idiopathic Parkinson disease: a diffusion tensor imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol*. American Society of Neuroradiology; 2009;30:1222–1226.
80. Ibarretxe-Bilbao N, Junque C, Marti M-J, et al. Olfactory impairment in

Parkinson's disease and white matter abnormalities in central olfactory areas: A voxel-based diffusion tensor imaging study. *Mov Disord.* 2010;25:1888–1894.

81. Li W, Liu J, Skidmore F, Liu Y, Tian J, Li K. White matter microstructure changes in the thalamus in Parkinson disease with depression: A diffusion tensor MR imaging study. *AJNR Am J Neuroradiol.* American Society of Neuroradiology; 2010;31:1861–1866.
82. Boska MD, Lewis TB, Destache CJ, et al. Quantitative 1H magnetic resonance spectroscopic imaging determines therapeutic immunization efficacy in an animal model of Parkinson's disease. *J Neurosci.* Society for Neuroscience; 2005;25:1691–1700.
83. O'Neill J, Schuff N, Marks WJ, Feiwell R, Aminoff MJ, Weiner MW. Quantitative 1H magnetic resonance spectroscopy and MRI of Parkinson's disease. *Mov Disord.* Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2002;17:917–927.
84. Camicioli RM, Hanstock CC, Bouchard TP, Gee M, Fisher NJ, Martin WRW. Magnetic resonance spectroscopic evidence for presupplementary motor area neuronal dysfunction in Parkinson's disease. *Mov Disord.* Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2007;22:382–386.
85. Gröger A, Chadzynski G, Godau J, Berg D, Klose U. Three-dimensional magnetic resonance spectroscopic imaging in the substantia nigra of healthy controls and patients with Parkinson's disease. *Eur Radiol.* Springer-Verlag; 2011;21:1962–1969.
86. Guevara CA, Blain CR, Stahl D, Lythgoe DJ, Leigh PN, Barker GJ. Quantitative magnetic resonance spectroscopic imaging in Parkinson's disease, progressive supranuclear palsy and multiple system atrophy. *European Journal of Neurology.* Blackwell Publishing Ltd; 2010;17:1193–1202.
87. Öz G. Proton MRS of the unilateral substantia nigra in the human brain at 4 tesla: Detection of high GABA concentrations. *Magn Reson Med.* Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2006;55:296–301.
88. Wu T. A functional MRI study of automatic movements in patients with Parkinson's disease. *Brain.* 2005;128:2250–2259.
89. Hacker CD, Perlmuter JS, Criswell SR, Ances BM, Snyder AZ. Resting state functional connectivity of the striatum in Parkinson's disease. *Brain.* 2012;135:3699–3711.
90. Helmich RC, Derikx LC, Bakker M, Scheeringa R, Bloem BR, Toni I. Spatial Remapping of Cortico-striatal Connectivity in Parkinson's Disease. *Cerebral Cortex.* 2010;20:1175–1186.
91. Kwak Y. L-DOPA changes spontaneous low-frequency BOLD signal

- oscillations in Parkinson's disease: a resting state fMRI study. Epub 2012 Sep 18.:1–15.
92. O'Callaghan C, Hornberger M, Balsters JH, Halliday GM, Lewis SJG, Shine JM. Cerebellar atrophy in Parkinson's disease and its implication for network connectivity. *Brain*. Oxford University Press; 2016;139:845–855.
 93. Detre JA, Rao H, Wang DJJ, Chen YF, Wang Z. Applications of arterial spin labeled MRI in the brain. *J Magn Reson Imaging*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2012;35:1026–1037.
 94. Melzer TR, Watts R, MacAskill MR, et al. Arterial spin labelling reveals an abnormal cerebral perfusion pattern in Parkinson's disease. *Brain*. Oxford University Press; 2011;134:845–855.
 95. Pyatigorskaya N, Gallea C, Garcia-Lorenzo D, Vidailhet M, Lehericy S. A review of the use of magnetic resonance imaging in Parkinson's disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2014;7:206–220.
 96. dwang. Review Article Positron emission tomography neuroimaging in Parkinson's disease. Epub 2011 Aug 6.:1–19.
 97. Yang ZL, Zhang LJ. PET/MRI of central nervous system: current status and future perspective. *Eur Radiol*. Springer Berlin Heidelberg; 2016;26:3534–3541.
 98. Barthel H, Schroeter ML, Hoffmann K-T, Sabri O. PET/MR in Dementia and Other Neurodegenerative Diseases. *Seminars in Nuclear Medicine*. Elsevier; 2015;45:224–233.
 99. Vingerhoets FJG, Schulzer M, Calne DB, Snow BJ. Which clinical sign of Parkinson's disease best reflects the nigrostriatal lesion? *Ann Neurol*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 1997;41:58–64.
 100. Calne DB, Langston JW, Martin WR, et al. Positron emission tomography after MPTP: observations relating to the cause of Parkinson's disease. *Nature*. 1985;317:246–248.
 101. Piccini P, Burn DJ, Ceravolo R, Maraganore D, Brooks DJ. The role of inheritance in sporadic Parkinson's disease: Evidence from a longitudinal study of dopaminergic function in twins. *Ann Neurol*. John Wiley & Sons, Inc; 1999;45:577–582.
 102. Sommer U, Hummel T, Cormann K, et al. Detection of presymptomatic Parkinson's disease: Combining smell tests, transcranial sonography, and SPECT. *Mov Disord*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2004;19:1196–1202.
 103. Nandhagopal R, Mak E, Schulzer M, et al. Progression of dopaminergic dysfunction in a LRRK2 kindred: a multitracers PET study. *Neurology*.

- Lippincott Williams & Wilkins; 2008;71:1790–1795.
104. Tang CC, Poston KL, Eckert T, et al. Articles Differential diagnosis of parkinsonism: a metabolic imaging study using pattern analysis. *The Lancet Neurology*. Elsevier Ltd; 2010;9:149–158.
 105. Asanuma K, Tang C, Ma Y, et al. Network modulation in the treatment of Parkinson's disease. *Brain*. Oxford University Press; 2006;129:2667–2678.
 106. Nurmi E, Ruottinen HM, Bergman JR, et al. Rate of progression in Parkinson's disease: A 6-[18F]fluoro-L-dopa PET study. *Mov Disord*. John Wiley & Sons, Inc; 2001;16:608–615.
 107. Parkinson Study Group. Dopamine transporter brain imaging to assess the effects of pramipexole vs levodopa on Parkinson disease progression. *JAMA*. 2002;287:1653–1661.
 108. Taylor DG, Bushell MC. The spatial mapping of translational diffusion coefficients by the NMR imaging technique. *Phys Med Biol*. IOP Publishing; 1985;30:345–349.
 109. Zhang Y, Wang S, Wu L, Huo Y. Multi-channel Diffusion Tensor Image Registration via adaptive chaotic PSO. *JCP*. 2011;6:1–5.
 110. Filler A. MAGNETIC RESONANCE NEUROGRAPHY AND DIFFUSION TENSOR IMAGING. *Neurosurgery*. 2009;65:A29–A43.
 111. Oikawa H, Sasaki M, Tamakawa Y, Ehara S, Tohyama K. The substantia nigra in Parkinson disease: proton density-weighted spin-echo and fast short inversion time inversion-recovery MR findings. *American Journal of Neuroradiology*. 2002;23:1747–1756.
 112. Raunig DL, McShane LM, Pennello G, et al. Quantitative imaging biomarkers: a review of statistical methods for technical performance assessment. *Statistical Methods in Medical Research*. SAGE Publications; 2015;24:27–67.
 113. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med*. American College of Physicians; 2011;155:529–536.
 114. Reitsma JB, Glas AS, Rutjes AWS, Scholten RJPM, Bossuyt PM, Zwinderman AH. Bivariate analysis of sensitivity and specificity produces informative summary measures in diagnostic reviews. *Journal of Clinical Epidemiology*. Elsevier; 2005;58:982–990.
 115. Jones DK. The effect of gradient sampling schemes on measures derived from diffusion tensor MRI: A Monte Carlo study. *Magn Reson Med*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2004;51:807–815.

116. Boska MD, Hasan KM, Kibuule D, et al. Quantitative diffusion tensor imaging detects dopaminergic neuronal degeneration in a murine model of Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*. 2007;26:590–596.
117. Focke NK, Helms G, Pantel PM, et al. Differentiation of typical and atypical Parkinson syndromes by quantitative MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. American Society of Neuroradiology; 2011;32:2087–2092.
118. Yendiki A, Koldewyn K, Kakunoori S, Kanwisher N, Fischl B. Spurious group differences due to head motion in a diffusion MRI study. *NeuroImage*. Elsevier B.V; Epub 2013 Nov 24.:1–12.
119. Wang JJ, Lin WY, Lu CS, Weng YH, Ng SH, Wang CH. Parkinson disease: diagnostic utility of diffusion kurtosis imaging. *Radiology*. Epub 2011.
120. Van Camp N, Blockx I, Verhoye M, et al. Diffusion tensor imaging in a rat model of Parkinson's disease after lesioning of the nigrostriatal tract. *NMR Biomed*. John Wiley & Sons, Ltd; 2009;22:697–706.
121. Schwarz ST, Abaei M, Gontu V, Morgan PS, Bajaj N, Auer DP. Diffusion tensor imaging of nigral degeneration in Parkinson's disease: A region-of-interest and voxel-based study at 3T and systematic review with meta-analysis. *YNICL*. The Authors; 2013;3:481–488.
122. Rohlfing T, Zahr NM, Sullivan EV, Pfefferbaum A. The SRI24 multichannel atlas of normal adult human brain structure. *Hum Brain Mapp*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2010;31:798–819.
123. Jones DK, Knösche TR, Turner R. White matter integrity, fiber count, and other fallacies: The do's and don'ts of diffusion MRI. *NeuroImage*. Elsevier Inc; 2013;73:239–254.
124. Jellinger K, Kienzl E, Rumpelmair G, et al. Iron-Melanin Complex in Substantia Nigra of Parkinsonian Brains: An X-Ray Microanalysis. *Journal of Neurochemistry*. Blackwell Publishing Ltd; 1992;59:1168–1171.
125. Zhang J, Tao R, Liu C, et al. Possible effects of iron deposition on the measurement of DTI metrics in deep gray matter nuclei: An in vitro and in vivo study. *Neuroscience Letters*. Elsevier Ireland Ltd; 2013;551:47–52.
126. Peran P, Cherubini A, Assogna F, et al. Magnetic resonance imaging markers of Parkinson's disease nigrostriatal signature. *Brain*. Oxford University Press; 2010;133:3423–3433.
127. Menke RA, Jbabdi S, Miller KL, Matthews PM, Zarei M. Connectivity-based segmentation of the substantia nigra in human and its implications in Parkinson's disease. *NeuroImage*. Elsevier Inc; 2010;52:1175–1180.

128. Landman BA, Farrell JAD, Jones CK, Smith SA, Prince JL, Mori S. Effects of diffusion weighting schemes on the reproducibility of DTI-derived fractional anisotropy, mean diffusivity, and principal eigenvector measurements at 1.5T. *NeuroImage*. 2007;36:1123–1138.
129. Bisdas S, Bohning DE, Besenski N, Nicholas JS, Rumboldt Z. Reproducibility, interrater agreement, and age-related changes of fractional anisotropy measures at 3T in healthy subjects: effect of the applied b-value. *AJNR Am J Neuroradiol*. American Society of Neuroradiology; 2008;29:1128–1133.
130. Jones DK, Basser PJ. ?Squashing peanuts and smashing pumpkins?: How noise distorts diffusion-weighted MR data. *Magn Reson Med*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2004;52:979–993.
131. Teipel SJ, Reuter S, Stieltjes B, et al. Multicenter stability of diffusion tensor imaging measures: A European clinical and physical phantom study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*. Elsevier Ireland Ltd; 2011;194:363–371.
132. Kim J-M, Jeong H-J, Bae YJ, et al. Loss of substantia nigra hyperintensity on 7 Tesla MRI of Parkinson's disease, multiple system atrophy, and progressive supranuclear palsy. *Parkinsonism Relat Disord*. Elsevier Ltd; Epub 2016 Feb 28.:1–8.
133. Zhang G, Zhang Y, Zhang C, et al. Research Article Diffusion Kurtosis Imaging of Substantia Nigra Is a Sensitive Method for Early Diagnosis and Disease Evaluation in Parkinson's Disease. *Parkinson's Disease*. Hindawi Publishing Corporation; Epub 2015 Dec 3.:1–5.
134. Langley J, Huddleston DE, Merritt M, et al. Diffusion tensor imaging of the substantia nigra in Parkinson's disease revisited. *Hum Brain Mapp*. 2016;37:2547–2556.
135. Nagae LM, Honce JM, Tanabe J, Shelton E, Sillau SH, Berman BD. Microstructural Changes within the Basal Ganglia Differ between Parkinson Disease Subtypes. *Front Neuroanat*. 2016;10:590–599.
136. Loane C, Politis M, Kefalopoulou Z, et al. Aberrant nigral diffusion in Parkinson's disease: A longitudinal diffusion tensor imaging study. *Mov Disord*. 2016;31:1020–1026.
137. Kamagata K, Hatano T, Okuzumi A, et al. Neurite orientation dispersion and density imaging in the substantia nigra in idiopathic Parkinson disease. *Eur Radiol*. 2015;26:2567–2577.
138. Rolheiser, TM; Fulton HG; Good KP, Fish JD. Diffusion tensor imaging and olfactory identification testing in early-stage Parkinson's Disease. *J Neurol*. 2011; 258(7); 1254-60.
139. Zhan W, Kang GA, Glass GA et al. Regional alterations of brain microstructure in Parkinson's Disease using diffusion tensor imaging.

Mov Disord. 2012. 27:90-97.

140. Prakash BD, Sitoh Y-Y, Tan LC, Au WL. Asymmetrical diffusion tensor imaging indices of the rostral substantia nigra in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord*, 2012. 18:1029–1033
141. Du G, Lewis MM, Styner M et al. Combined R2* and diffusion tensor imaging changes in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Mov Disord*, 2012. 26:1627–1632
142. Skorpil M, Söderlund V, Sundin A, Svenningsson P. MRI diffusion in Parkinson's disease: using the technique's inherent directional information to study the olfactory bulb and substantia nigra. *J Parkinsons Dis* 2012. 2:171–180
143. Scherfler C, Esterhammer R, Nocker M et al. Correlation of dopaminergic terminal dysfunction and microstructural abnormalities of the basal ganglia and the olfactory tract in Parkinson's disease 2013. *Brain* 136:3028–3037
144. Perea RD, Rada RC, Wilson J et al (2013) A comparative white matter study with Parkinson's disease, Parkinson's disease with dementia and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* 3:123
145. Chan L-L, Ng K-M, Rumpel H, Fook-Chong S, Li HH, Tan EK. Transcallosal diffusion tensor abnormalities in predominant gait disorder parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord* 2014. 20:53–59
146. Lenfeldt N, Larsson A, Nyberg L, Birgander R, Forsgren L. Fractional anisotropy in the substantia nigra in Parkinson's disease: a complex picture. *Eur J Neurol* 2015. 22:1408–1414
147. Jiang M-F, Shi F, Niu G-M, Xie SH, Yu SY (2015) A novel method for evaluating brain function and microstructural changes in Parkinson's disease. *Neural Regen Res* 10:2025–2028
148. Schuff N, Wu I-W, Buckley S et al (2015) Diffusion imaging of nigral alterations in early Parkinson's disease with dopaminergic deficits. *Mov Disord* 30:1885–1892
149. Kamagata K, Hatano T, Okuzumi A et al (2016) Neurite orientation dispersion and density imaging in the substantia nigra in idiopathic Parkinson disease. *Eur Radiol* 26:2567–2577
150. Chan LL, Rumpel H, Yap K et al (2007) Case control study of diffusion tensor imaging in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78:1383–1386