UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA CIÊNCIA E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA PARA MAPEAMENTO
DE MEMÓRIA EPISÓDICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE**

Khallil Taverna Chaim

**Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo como parte das exigências para obtenção
do título de Mestre em Ciências.**

**Área de Concentração: Física Aplicada à Medicina e
Biologia, Sub-área: Neurociências.**

Ribeirão Preto – SP
2009

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA CIÊNCIA E LETRAS DE RIBEIRÃO PRETO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA APLICADA À MEDICINA E BIOLOGIA

**IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA PARA MAPEAMENTO
DE MEMÓRIA EPISÓDICA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade
de São Paulo como parte das exigências para obtenção
do título de Mestre em Ciências.**

**Área de Concentração: Física Aplicada à Medicina e
Biologia, Sub-área: Neurociências.**

Aluno: Khallil Taverna Chaim

Orientador: Dráulio Barros de Araújo

Ribeirão Preto – SP
2009

Banca Examinadora

Ribeirão Preto, 24 de Março de 2009

Prof. Dr. Dráulio Barros de Araújo (orientador)
Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de RP - USP

Prof. Dr. Americo Ceiki Sakamoto
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

Prof. Dr. Luiz de Gonzaga Gawryszewski
Instituto de Biofísica - UFRJ

Agradecimentos

Ao conhecer o aluno Dráulio notei por sua energia e simpatia a especial pessoa que é. Com o passar dos anos isso foi refletido em seu trabalho, mas agora como Prof. Dr. Dráulio. Os laços fortalecidos entre ele, meus amigos e eu fizeram com que muita coisa boa, além dessa dissertação, fosse construída. Algo para sempre.

No emaranhado mundo acadêmico conheci pessoas especiais, pessoas que estiveram sempre ao meu lado, ajudando e construindo o trabalho apresentado agora. Foram Professores do Departamento de Física e Matemática, da Faculdade de Medicina e, fundamentalmente, os funcionários e alunos dessas duas unidades, que ao verem esse trabalho se identificarão. É com carinho que agradeço e dedico esse trabalho as pessoas que confiam e confiaram em mim. Foi o trabalho em equipe que permitiu conseguir minha bolsa, minhas imagens, minha papelada burocrática, meus voluntários, meus equipamentos e outras coisas mais. A tudo e a todos agradeço imensamente.

Não menos especiais estão meus irmãos, que fui escolhendo ao longo da vida e que perderam o título de amigo. Irmãos que estudaram comigo, que moraram comigo, que conheci através de outros irmãos. Longe de formar uma igreja, fortaleci importantes amizades à qual sou muito feliz!

O que dizer então da minha família! Meu pais, meus avós, minhas irmãs, tios e tias, primos e primas. Amo todos! É um carinho muito grande que é lembrado todos os dias através de meus gestos, frases e atitudes. Tudo igualzinho! Sou um privilegiado de tê-los como exemplo e não tenho vergonha de repassar aquilo que vocês me ensinam.

Resumo

O lobo temporal mesial (LTM) é essencial para tarefas de memória e possui muitas conexões com diferentes áreas do cérebro. Pacientes com epilepsia do LTM, refratários ao tratamento medicamentoso, são candidatos à cirurgia para remoção do foco das crises. Portanto, antes da cirurgia, é essencial avaliar eventuais riscos de declínio das funções de memória, por meio de uma série de testes clínicos. Recentemente, abriu-se a possibilidade de estudar certos aspectos do funcionamento cerebral, de modo não invasivo, utilizando Imagens funcionais por Ressonância Magnética (fMRI). O objetivo deste trabalho foi desenvolver métodos que possibilitem a aplicação de protocolos de memória em estudos de fMRI, com vistas a pacientes com epilepsia. Para a manutenção da atenção durante os estudos de fMRI foi confeccionado um dispositivo infravermelho para registrar as respostas obtidas. Além disso, foi desenvolvido um programa (*VOI Analyser*) para a otimização das análises dos exames de fMRI. Tanto o dispositivo infravermelho como o programa foram amplamente utilizados em vários projetos de pesquisa permitindo o estudo de tarefas complexas. Neste estudo, a tarefa visava identificar as redes funcionais que participam do processo de codificação e recuperação de memória episódica utilizando tarefas visuais de identificação de cenas complexas. Foram estudados nesse estudo 12 voluntários assintomáticos e 7 pacientes com epilepsia do LTM. O estudo de grupo evidenciou o envolvimento de estruturas do LTM. A tarefa demonstrou ter um nível de dificuldade alta, em especial para pacientes, baseando-se na avaliação do tempo de resposta e nível de acertos. Além do estudo dos grupos, foi realizada uma análise por região de interesse (ROI), com ênfase no complexo amígdala-hipocampo. Em seguida, o foco do estudo foi voltado para a assimetria hemisférica funcional, por meio do cálculo do índice de lateralização (IL). Além de rever os resultados obtidos pelo IL convencional, resultados preliminares levaram à proposta de um segundo índice corrigido, considerando a quantidade de voxels e a assimetria das ROI. A utilização do índice corrigido tornou a análise mais estável por diminuir a dependência do limiar estatístico considerado. A seguir, foi realizada uma subdivisão do hipocampo em porção anterior, central e posterior a qual indicou uma maior participação da região posterior na tarefa de codificação e da anterior na tarefa de recuperação, tanto entre os voluntários como em pacientes.

Abstract

Medial temporal lobe (MTL) is essential for memory tasks and has many connections with different areas of the brain. Patients with MTL epilepsy refractory to medical treatment are candidates for surgery to remove the epileptiform tissue. Therefore, before surgery, it is essential to assess the risk of memory function decrease caused by the procedure, through a series of clinical trials. Recently, there is the possibility of studying certain aspects of brain functioning by using a non-invasive technique: functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI). The aim of this work was to implement memory protocols in fMRI studies of epilepsy patients. For attention maintenance during the fMRI study an infrared device was built, in order to record the response times. In addition, a software was developed (VOI Analyser) to optimize the analysis of the fMRI examinations. Both have been widely used in several research projects enabling the study of complex tasks. In this study, the task was intended to identify the functional networks involved in the process of encoding and retrieving of episodic memory using a visual task involving complex scenes. 19 subjects were studied: 12 controls and 7 patients with refractory epilepsy. Group study showed the involvement of structures in MTL. The task has demonstrated a high level of difficulty, especially for patients, based on the analysis of response times and correct hits. In addition to the study of groups, an individual analysis was performed by region of interest (ROI), with emphasis on amigdala-hippocampus complex. Then, functional hemispheric asymmetry was studied, by means of the lateralization index (LI). In addition to the computation of conventional LI, an alternative LI was proposed, which considers voxels occupancy and ROI asymmetry. The use of such modified index tuned the analysis more stable by decreasing the dependence on considered statistical threshold. Moreover, LI was also computed on 3 portions of the hippocampus: anterior, middle and posterior. The results indicated a greater involvement of the posterior portion on the encoding task and anterior one in the recovery task, both for volunteers and patients.

Lista de Figuras

Capítulo 1

Figura 1:	Anúncio publicado nos jornais de 1936 sobre a cura da epilepsia	5
Figura 2:	Classificação das crises epiléticas	7
Figura 3:	Esquema adaptado do diagrama teórico para epilepsia	9
Figura 4:	Divisão básica cerebral	10
Figura 5:	Memória de longo prazo	12
Figura 6:	Localização do hipocampo	13
Figura 7:	BOLD	15
Figura 8:	Exemplo de uma seqüência EPI	16
Figura 9:	Estudo fMRI	17
Figura 10:	Desenho experimental	18
Figura 11:	Correção temporal entre fatias EPI	19
Figura 12:	Filtro Espacial	20
Figura 13:	Artefato de movimento	21
Figura 14:	Correção de movimento	22
Figura 15:	GLM	23
Figura 16:	Mapa estatístico	25
Figura 17:	Co-registro	26
Figura 18:	Normalização	27
Figura 19:	Índice de lateralização	29
Figura 20:	Combinação de imagem funcional com tractografia	30

Capítulo 3

Figura 21:	Paradigma em bloco utilizado nos estudos fMRI em memória	40
Figura 22:	Imagem dos botões utilizados pelos sujeitos	42
Figura 23:	Visualização da base emissora	43
Figura 24:	Receptor infravermelho	44
Figura 25:	Esquema de operação do dispositivo infravermelho	44
Figura 26:	Primeira versão do programa <i>FiltrarClusters</i>	46
Figura 27:	Ambiente gráfico atual do programa <i>VOI Analyser</i>	47
Figura 28:	Ambiente gráfico atual do programa <i>VOI Analyser</i>	48
Figura 29:	Planilha de saída do programa <i>VOI Analyser</i>	49
Figura 30:	<i>VOI Analyser</i> : criação de ROI retangular	49

Capítulo 4

Figura 31:	Segmentação manual do complexo amígdala-hipocampo	57
Figura 32:	Diferença entre ROI no espaço Talairach	58
Figura 33:	ROI para determinação dos índices de lateralização	59
Figura 34:	Análise de grupo dos 12 voluntários	60
Figura 35:	Comparação dos índices de lateralização do estudo em grupo	62

Figura 36:	Índice de lateralização para os voxels dos hemisférios	64
Figura 37:	Variação do índice de lateralização com a variação do $q(FDR)$	65
Figura 38:	Comparação dos desvios padrão nas duas tarefas	66
Figura 39:	IL', nas duas tarefas, para os 12 voluntários utilizando as ROI	68
Figura 40:	Porcentagem de voxels significativo para os 12 voluntários	70
Figura 41:	IL' para os 7 pacientes através da análise pelo atlas Talairach	73
Figura 42:	IL' para os 7 pacientes utilizando as ROI segmentadas	74
Figura 43:	Porcentagem de voxels significativos para os 7 pacientes	75
Figura 44:	Tempos de resposta, porcentagem de acertos e quantidade e erros	78
Figura 45:	Mapas estatísticos da voluntária CFK – preditor baseado nas respostas	80
Figura 46:	Mapas estatísticos da voluntária JCCM – preditor baseado nas respostas	80
Figura 47:	Mapas estatísticos da paciente RNO – preditor baseado nas respostas	81
Figura 48:	Comparação do IL' dos voluntários para dois preditores	82
Figura 49:	IL' dos voluntários para 2 preditores – codificação – ROI sub-regiões	83
Figura 50:	IL' dos voluntários para 2 preditores – recuperação – ROI sub-regiões	84
Figura 51:	Porcentagem de voxels para dois preditores – ROI sub-regiões	85
Figura 52:	Comparação do IL' dos pacientes para dois preditores	86
Figura 53:	IL' dos pacientes para dois preditores – duas tarefas – ROI sub-regiões	86
Figura 54:	Porcentagem de voxels para dois preditores – ROI sub-regiões	87

Anexo A

Figura 55:	Variação da intensidade do brilho com o aumento do valor do fator b	120
Figura 56:	Imagens EPI com base na difusão	121
Figura 57:	Anisotropia com base nos tensores de difusão	123
Figura 58:	Tractografia baseada nas informações de anisotropia	124
Figura 59:	Mapa MD e FA para as imagens do banco de dados	126
Figura 60:	Mapa MD e FA para as imagens de um paciente	126
Figura 61:	Mapa de cores indicando a direção dos tensores	127
Figura 62:	Exemplos de situações em medidas DTI	127
Figura 63:	Tractografia e combinação com fMRI	128

Lista de Tabelas

Tabela 4.1:	Casuística dos Voluntários e Pacientes	56
Tabela 4.2:	Índices de lateralização com base no atlas Talairach, para as duas tarefas	61
Tabela 4.3:	Índices de lateralização, IL e IL', para as 4 ROI do estudo em grupo	62
Tabela 4.4:	Análise ROI-GLM para os voluntários	71
Tabela 4.5:	Análise ROI-GLM para os pacientes	76
Tabela 4.6:	Avaliação de Lateralização de Memória através do IL'	77

Lista de Abreviaturas

3D	3 Dimensões
a.C.	Antes de Cristo
AC-PC	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Anterior Commissure and Posterior Commissure</i> (Comissura Anterior e Comissura Posterior)
BOLD	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Blood Oxygen Level Dependent</i> (Dependência do Nível de Sangue Oxigenado)
CIREP	Centro de Cirurgia de Epilepsia
DFM	Departamento de Física e Matemática
DP	Densidade de Prótons
DTI-fMRI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Diffusion Tensor Imaging correlated functional magnetic resonance imaging</i> (Imagens por Tensor de Difusão Combinada com Imagens Funcionais por Ressonância Magnética)
DTI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Diffusion Tensor Imaging</i> (Imagem por Tensor de Difusão)
EEG	Eletroencefalograma
EEG-fMRI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>electroencephalography correlated functional magnetic resonance imaging</i> (Eletroencefalografia Combinada com Imagens Funcionais por Ressonância Magnética)
ELT	Epilepsia do Lobo Temporal
ELTM	Epilepsia do Lobo Temporal Medial
EMT	Esclerose Mesial Temporal
EPI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Eco Planar Imaging</i> (Imagem Eco Planar)
FA	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Fractional Anisotropy</i> (Anisotropia Fracionada)
FDR	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>False Discovery Rate</i> (Taxa de Falsas Descobertas)
FFCLRP	Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto
FID	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Free Induction Decay</i> (Decaimento de Indução Livre)
fMRI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Functional Resonance Magnetic Imaging</i> (Imagem Funcional por Ressonância Magnética)
FoV	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Field of View</i> (Campo de Visão)
GLM	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>General Linear Models</i> (Método Linear Geral)
HCRP	Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto
IL	Índice de Lateralização
ILAE	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>International League Against Epilepsy</i> (Liga Internacional de Combate a Epilepsia)

IR	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Infrared</i> (Infravermelho)
IRM	Imagens por Ressonância Magnética
LTM	Lobo Temporal Medial
MD	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Mean Diffusion</i> (Difusividade Média)
MPR	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Multiplanar Reconstruction</i> (Reconstrução Multiplanar)
PET	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Positron Emission Tomography</i> (Tomografia por Emissão de Pósitrons)
RM	Ressonância Magnética
ROI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Regions of Interest</i> (Regiões de Interesse)
SPECT	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Single Photon Emission Computed Tomography</i> (Tomografia Computadorizada por Emissão de Fóton Único)
SPM	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Statistical Parametric Mapping</i> (Mapeamento Estatístico Paramétrico)
TAS	Teste com Amital Sódico.
TC	Tomografia Computadorizada
TE	Tempo ao Eco
TR	Tempo de Repetição
USB	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Universal Serial Bus</i> (Barramento Serial Universal)
USP	Universidade de São Paulo
Vídeo-EEG	Vídeo-eletroencefalograma
VOI	Acrônimo do idioma inglês que significa: <i>Volume of Interest</i> (Volume de Interesse)

Sumário

	Considerações Iniciais	1
Capítulo 1	Fundamentação Teórica	3
	1.1 - Epilepsia	5
	Crises	7
	Tratamento	9
	1.2 - Memória	10
	Memória de longo prazo	12
	1.3 - Imagens Funcionais por Ressonância Magnética	14
	BOLD	15
	Estudos fMRI	17
	Pré-Processamento	18
	Análise Estatística	22
	Mapas Estatísticos	25
	Normalização (Espaço Talairach)	26
	Índice de Lateralização	28
	1.4 - Imagens Multimodais	29
Capítulo 2	Objetivos	31
Capítulo 3	Materiais e Métodos	35
	3.1 - Casuística dos Exames	37
	3.2 - Equipamentos e Parâmetros de Aquisição	38
	Desenho Experimental	39
	3.3 - Dispositivo Infravermelho	41
	3.4 - Processamento das Imagens Funcionais	45
	Programa para Auxílio de Análise (<i>VOI Analyser</i>)	45
	Região de Interesse (ROI)	50
	3.5 - Índice de Lateralização Corrigido	50
Capítulo 4	Resultados	53
	4.1 - Casuística Geral	55
	4.2 - ROI	56
	4.3 - Análise dos Voluntários	59
	Análise de Grupo	59
	Análise Individual	63
	4.4 - Análise dos Pacientes	72
	4.5 - Tempo de Resposta e Erros Cometidos	77
	4.6 - Análise com Base nas Respostas Individuais	79
	Análise dos Voluntários	81
	Análise dos Pacientes	85
Capítulo 5	Discussão	89
	Dispositivo	91
	<i>VOI Analyser</i>	91
	Dados	93
Capítulo 6	Conclusões e Perspectivas	105
	Referências Bibliográficas	111
Anexo A	Imagem por Tensor de Difusão	117
	Combinação de DTI com fMRI	124
Anexo B	Comitê de Ética	131
	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Paciente	133
	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Voluntário	134
	- Aprovação pelo Comitê de Ética	135

Considerações Iniciais

A epilepsia é uma síndrome que atinge significativa parcela de pessoas no mundo todo. Seu tratamento acontece por via medicamentosa, sendo ineficaz para uma parcela de pacientes, considerados refratários aos medicamentos. Para alguns desses casos há a opção da cirurgia. O tecido desencadeador das crises, em pacientes com epilepsia do lobo temporal medial, é o mesmo responsável por importantes processos de memória, como retenção e recuperação. A ressonância magnética funcional consolida-se como uma importante ferramenta para investigações desses processos por possuir alta resolução espacial, não ser invasiva e nem utilizar radiação ionizante. Essas temáticas apontadas são trabalhadas no capítulo 1, introduzindo alguns conceitos e levantando algumas questões que tornam relevante a proposta desse trabalho.

Avaliar os riscos da cirurgia, para evitar uma eventual amnésia, inclui testes que buscam o hemisfério dominante. A utilização da ressonância magnética funcional nesse cenário requer consistentes métodos para que sua aplicabilidade seja viável. Estruturas como o hipocampo, localizado internamente no cérebro, são mais sujeitos a artefatos que dificultam a medida de sinal. Desenhos experimentais combinados com técnicas de aquisição, e utilização de equipamentos mais sensíveis, aumentam a relação sinal-ruído nessas regiões, permitindo estudos de lateralização de memória. No entanto, desenvolver métodos e ferramentas para tais investigações é uma lacuna a ser explorada no intuito de permitir aplicabilidade desta técnica na avaliação pré-cirúrgica de pacientes refratários ao medicamento. O capítulo 2 coloca de maneira direta os objetivos desse trabalho, focando especificamente no desenvolvimento de métodos e meios para tornar a técnica aplicável na rotina clínica.

Os métodos desenvolvidos mostraram-se eficazes. Apesar de distintos, atenderam as necessidades pontuais em cada etapa do estudo, como auxílio na aquisição de dados, no processamento e análises e na elaboração de uma formulação mais adequada na interpretação dos resultados. O capítulo 3 apresenta o material e métodos, contendo alguns desenvolvimentos desse trabalho, como o dispositivo infravermelho e um programa denominado *VOI Analyser*. O capítulo 4 traz os dados de codificação e recuperação de memória, iniciando a abordagem em um grupo assintomático, em estudos de grupo e individuais por ROI. Definido um protocolo de análise que visou corrigir alguns detalhes significativos para investigações de estruturas pequenas como o hipocampo, avaliou-se o grupo de pacientes, individualmente, através de nova proposta na determinação do índice. No capítulo 5 se discute esses resultados, abrangendo algumas questões que permitem sua aplicação clínica de modo a maximizar a aquisição e análise dos dados.

Por fim, a proposta inicial desse trabalho foi de combinar as imagens funcionais por ressonância magnética com as imagens por tensor de difusão. É cada vez mais comum a utilização de diferentes informações do mesmo sistema para interpretações e intervenções. Ao passo que a informação obtida com a funcional traz medidas da ativação cerebral e a imagem por tensor de difusão permite avaliação de conectividade entre diferentes áreas do cérebro, combiná-las é interessante para avaliações pré-cirúrgicas. No entanto, o equipamento de ressonância utilizado nesse estudo não forneceu imagens adequadas para as análises utilizando tensor de difusão. Contudo, buscamos resolver a parte de processamento das imagens dessas imagens, permitindo avaliações individuais de conectividade ou combinadas com estudos funcionais (anexo A).

Fundamentação Teórica

EPILEPSIA

Resolvida definitivamente sua CURA com o emprego do
afamado específico ANTIEPILEPTICO BARASCH.

DR. CARLOS GREY, especialista
em molestias nervosas que atesta ter
conseguido curar com o específico

Antiepileptico BARASCH
os irmãos Celina e Carlos Alberto de
Figueiredo Maia, conforme sua obser-
vação clínica confirmada pelos pais
dos menores.

Antiepileptico BARASCH
é vendido em todas as pharmacies e
drogarias, em vidros grandes e peque-
nos.

Pedidos:

C. Emilio Carrano & Filhos Ltda.
RUA DA LIBERDADE. 48
São Paulo — Brasil

DR. CARLOS GREY,
da Faculdade de Medicina

Figura 1 – Anúncio publicado nos jornais de 1936 sobre a cura da epilepsia. (agência OESP)

1.1 - EPILEPSIA

A Figura 1 traz um anúncio publicado na década de 1930. Naquela ocasião anunciava-se o fim das epilepsias e a comercialização de um medicamento anti-epiléptico. À época, a epilepsia era considerada uma doença, e, ainda hoje não existe tratamento medicamentoso único para sua completa extinção. Atualmente, ela é entendida como uma síndrome, existindo relatos antigos dos Egípcios e Sumérios de crises epiléticas (3500 a.C.), quando eram associadas a manifestações sobrenaturais, sendo Hipócrates (400 a.C.) o primeiro a ligar as crises a alguma disfunção cerebral (MASIA & DEVINSKY, 2000; KWAN & SANDER, 2004).

A primeira referência feita ao termo epilepsia, pela maioria das pessoas, é a crise convulsiva. No entanto, este é um dentre os vários possíveis sintomas que envolvem essa síndrome. De fato, ela é bem mais complexa e pode se apresentar de formas bastante variadas (ENGEL JR.,2006; RODRIGUES et al., 2007). São inúmeras as classificações, chegando a mais de 30 tipos. Em casos específicos, estudos psicométricos, análises por imagens anatômicas e funcionais e intervenções invasivas, quando necessário, auxiliam em identificar o tipo de epilepsia para uma melhor definição da conduta terapêutica (GUERREIRO, 1996).

O tratamento das epilepsias consiste em controlar as crises. Para tanto, em boa parte dos casos, adota-se o tratamento com medicamentos que atua em mecanismos neurofisiológicos específicos e de forma prolongada, acompanhada de efeitos adversos e possíveis neurotoxicidades. Em alguns casos, o uso será ininterrupto, em outros, as crises cessam não havendo mais necessidade de continuar com o medicamento. Por outro lado, para uma significativa parcela de pacientes, entre 30% e 40%, o uso do medicamento não é eficaz, configurando a epilepsia refratária, para a qual o tratamento cirúrgico passa a ser uma alternativa (GUERREIRO, 1996). Nessa estratégia de tratamento, busca-se pela remoção, lesão ou desconexão da(s) área(s) do cérebro que provoca as crises, a fim de promover idealmente a interrupção ou redução do aparecimento de eventos epiléticos.

Avaliar um paciente com epilepsia significa, a priori, avaliar as crises que ele manifestou. A epilepsia é uma disritmia cerebral paroxística sintomática e encontrar o foco dessas descargas anômalas é o desafio de todos os profissionais que atuam nessa questão, pois a crise segue a geração das descargas. De regra, classifica-se o tipo de crise para então constatar o tipo de epilepsia. As crises podem ser parciais, generalizadas ou não classificáveis. São parciais quando ocorre em um dos hemisférios e generalizadas quando abrange os dois, e, neste caso, há perda de consciência. Dentre as crises parciais, elas são sub-

divididas em simples ou complexa, sendo a primeira sem o comprometimento da consciência e a segunda com perda da consciência. Uma crise parcial simples pode evoluir para uma crise parcial complexa, assim como ambas podem progredir para uma crise generalizada, sendo, neste caso, denominada secundariamente generalizada. Dentre as crises generalizadas, diferencia-se se são convulsivas ou não. As não classificáveis são aquelas que possuem um difícil diagnóstico, não sendo possível identificar se ocorre em um ou nos dois hemisférios. O período de crise é chamado de Ictal e o entre crises de Inter-Ictal. Em alguns casos, principalmente nas crises parciais simples, há também o período Pós-Ictal, em que a pessoa tem um momento de confusão e mal-estar (figura 2) (GUERREIRO, 1996).

Figura 2 – Classificação das crises epiléticas. O termo ictal corresponde ao período de crise e o inter-ictal ao entre as crises. As parciais acometem somente um hemisfério e a generalizada aos dois.

Para a determinação do tipo de epilepsia, outras condições são consideradas, além do tipo de crise. As que estão relacionadas a causas desconhecidas são chamadas de idiopáticas e de sintomáticas quando relacionadas a alguns sintomas. Além desses, fatores genéticos e patologias como tumores, infecções, derrames e diversos distúrbios são também causas de crises epiléticas. As classificações estão em constante atualização pelo *International League Against Epilepsy* (ILAE), que especifica com mais detalhes tais subdivisões (<http://www.ilae-epilepsy.org/>).

Essas classificações possuem significativo impacto nas medidas terapêuticas adotadas, tanto na seleção da droga como em uma possível via cirúrgica. Para tanto, é fundamental submeter o paciente a diversas avaliações a fim de classificar o tipo de epilepsia. Um exame fundamental é o eletroencefalograma (EEG), que consiste na colocação de eletrodos sobre o escalpo para a medida das atividades elétricas dos neurônios. Esse exame é indispensável na avaliação da atividade cerebral e mesmo quando o EEG não indica atividade anômala a epilepsia não é descartada. Ainda, centros de excelência no tratamento das epilepsias utilizam um equipamento chamado Vídeo-EEG, que é um monitoramento, simultâneo, através de vídeo e registros encefalográficos dos pacientes que possuem epilepsias de difícil controle (GUERREIRO, 1996; ASADI-POOYA et al., 2008).

A ocorrência na população mundial de pessoas que possuem epilepsia é estimada em torno de 1-2% (ASADI-POOYA et al., 2008). Em países em desenvolvimento a incidência é maior que em países desenvolvidos, isso devido à desnutrição, maior taxa de doenças infecciosas e deficiência no atendimento médico. Os estudos epidemiológicos em países como o Brasil mostram taxas de incidências equiparadas às médias de outros estudos mundiais, sendo que o dado mais substancial desses estudos está na identificação do acesso da população a um tratamento adequado (GOMES et al., 2005; ASADI-POOYA et al., 2008). A faixa etária infantil, seguida dos idosos, possui uma alta incidência. Além disso, há uma

discreta predominância do sexo masculino.

As epilepsias focais correspondem a aproximadamente 60% de todos os casos de epilepsia (ROSENOW et al., 2001). Das epilepsias recém diagnosticadas focais, 65% dos casos são controlados com a utilização de uma droga, 10% com duas drogas, e 0-5% com múltiplas drogas. Um controle insatisfatório ocorre para os 20-25% restantes. Destes, 80% são candidatos cirúrgicos (figura 3) (GUERREIRO, 1996; ASADI-POOYA et al., 2008).

Figura 3 – Esquema adaptado do diagrama teórico para epilepsia localizada de início recente (Guerreiro, 1996). Cerca de 20-25% são candidatos à cirurgia por não terem suas crises reduzidas ou sanadas pelo uso de drogas.

Além disso, a epilepsia do lobo temporal (ELT) corresponde por 40% dos casos de epilepsias. Desses 40%, 60% são relativos às que ocorrem na porção medial, chamadas de epilepsia do lobo temporal medial (ELTM) (figura 4). Esse tipo de epilepsia tem uma atenção especial, por uma grande parcela ser refratário ao medicamento (ANDRADE-VALENÇA, 2006). Além disso, apesar de ocorrer o controle das crises com medicamentos, em alguns casos a escolha do tratamento cirúrgico é uma opção menos danosa, quando se considera a toxicidade das drogas, efeitos colaterais e seu uso prolongado.

Figura 4 – Divisão básica cerebral. A figura mostra três cortes: sagital, axial e coronal, respectivamente. O cérebro é dividido em dois hemisférios, o esquerdo e o direito. Denomina-se anterior a região mais frontal e posterior a mais dorsal. As regiões circulares indicam o lobo temporal.

O LTM é essencial para tarefas de memória, possuindo muitas conexões para diferentes áreas do cérebro. Pacientes com ELTM refratários aos medicamentos são candidatos cirúrgicos para remoção do foco das crises e já é conhecido o declínio das funções de memória após a intervenção cirúrgica no LTM (WEBER et al., 2007). Mapear as funções de memória desses pacientes é importante para determinar os riscos cirúrgicos, como amnésia, após a recessão do foco epilético (DETRE, 2004; BINDER et al., 2005; WEBER et al., 2007).

1.2 – MEMÓRIA

Avanços dos tratamentos medicamentosos e cirúrgicos das epilepsias têm um foco específico: minimizar ou cessar as crises. Contudo, deve ser tomada uma série de cuidados, antes de se optar pela remoção do tecido responsável pelas crises. A interação dessa rede com informações provindas do ambiente, ou de estímulos internos, determina nossos comportamentos e o estado consciente. Em um nível particularmente mais elaborado dessa interação estão as tarefas cognitivas, que definem o indivíduo e envolve questões mais complexas, como a memória, o aprendizado, a linguagem, a atenção e as emoções. Reter informações é fundamental para o aprendizado e tomadas de decisões, sendo um processo cognitivo chave para as relações entre indivíduos e o conhecimento sobre o ambiente,

transmitindo e construindo culturas que persistem por gerações (TULVING, 2002).

Nesse contexto está a memória. Entende-se este processo não como sendo um sistema unitário, mas composto por sistemas independentes e interativos, e que toma corpo, em parte, na habilidade de registrar um evento passado para posteriormente ser recobrado (CABEZA & KINGSTONE, 2001; BRUNBECH & SABERS, 2002; KANDEL et al., 2003).

A psicologia cognitiva sempre investigou os processos da memória, desenvolvendo diversos experimentos que contribuíram para sua modelagem. Através de testes neuropsicológicos, utilizando tarefas auditivas, visuais e motoras, a memória foi classificada em explícita ou implícita. A memória implícita (ou não declarativa) é recordada inconscientemente, ou seja, advém de treinamento de habilidades reflexas motoras ou perceptuais. A memória explícita (ou declarativa) é recordada conscientemente e é passível de comunicação.

Essa classificação abrange as memórias chamadas de longa duração, aquelas que são registradas por um longo período de tempo, de dias ou anos (KANDEL et al., 2003). As de curta duração correspondem às memórias imediatas e de trabalho. As imediatas duram frações de segundos e ocorrem nas modalidades sensoriais como a visual, tátil, auditiva e verbal do registro cortical. Já as de trabalho duram segundos ou minutos, armazenando informações que posteriormente podem ser consolidadas, tornando-se uma memória de longo prazo, ou sendo esquecida. (PURVES et al., 2004).

No que diz respeito à memória de longa duração, Squire propôs que ela seja subdividida em declarativa e não declarativa (figura 5). Tulving subdividiu a memória declarativa de longa duração em semântica (registro de fatos) e episódica (registro de eventos e experiências pessoais). As memórias de longa duração não declarativas são subdivididas conforme a aprendizagem correspondente assimilada, sendo retidas em regiões responsáveis por tais tarefas, como na amígdala para o aprendizado associativo em resposta

às emoções e no cerebelo para o aprendizado de movimentos delicados (CABEZA & KINGSTONE, 2001; KANDEL et al., 2003).

Figura 5 – Memória de longo prazo. Ela é subdividida como declarativa e não declarativa. Tulving modelou a memória declarativa de longo prazo como sendo relacionada a fatos ou eventos, com o lobo temporal medial envolvido nos processos de consolidação.

As primeiras evidências de regiões específicas do encéfalo humano com participação fundamental nos processos de memória foram decorrentes de estudos em pessoas com lesões cerebrais ocasionadas por acidentes ou por dano cirúrgico. Um exemplo clássico da literatura corresponde ao paciente HM. Ele sofria de epilepsia do lobo temporal bilateral, e teve a amígdala, hipocampo e regiões circunvizinhas dos dois hemisférios removidos cirurgicamente para o controle de crises epiléticas. Após a cirurgia, o paciente não era capaz de reter novas informações declarativas, embora aquelas já consolidadas não tenham sido prejudicadas. Além disso, ele obteve um bom desempenho em testes de habilidade motora, indicando que a retenção de memórias de longa duração implícitas deve se dar por outras vias. (KANDEL et al., 2003; PURVES et al, 2004).

Esse caso evidenciou o importante papel que o lobo temporal, em especial suas porções mediais (hipocampo e parahipocampo), desempenha nos processos de memória (figura 6) (CABEZA & KINGSTONE, 2001; GABRIELI, 1998; ELDRIDGE, 2005). Ainda, estudos apontam para o fato de que áreas específicas do hipocampo estariam relacionadas a tipos de memórias específicas. O hipocampo direito atua na representação espacial,

localização e navegação, enquanto que o hipocampo esquerdo em tarefas que envolvem memória verbal (KANDEL et al., 2003; PURVES et al., 2004; CABEZA & KINGSTONE, 2001).

Figura 6 – Localização do hipocampo. As regiões em branco indicam a localização do hipocampo, estando ele no lobo temporal, na porção medial.

Nos casos de cirurgia de epilepsia do lobo temporal medial, geralmente os pacientes são submetidos à cortico-amigdalohipocampectomia, que é a remoção do complexo amígdala-hipocampo. Daí a preocupação com a avaliação pré-cirúrgica, que torna indispensável conhecer funcionalmente não apenas o tecido a ser retirado, mas também os tecidos adjacentes, avaliando eventuais prejuízos da função de memória (DETRE, 2004).

Atualmente, as avaliações de memória antes da intervenção cirúrgica, em pacientes com epilepsia, são realizadas utilizando o teste de Wada, ou do amital sódico (TAS). Esse procedimento consiste na injeção intracarotídea de um barbitúrico (amital sódico) de ação curta, que suspende imediatamente as funções de dois terços anteriores do hemisfério ipsilateral à injeção, e por alguns minutos podem ser testados os prejuízos eventuais da retirada de estruturas daquele hemisfério (WADA et al., 1960). Contudo, apesar de ser considerado o padrão ouro, o TAS têm algumas limitações. Em primeiro lugar, o procedimento de arteriografia é invasivo, sendo reportadas complicações em aproximadamente 1% dos casos. Além disso, o teste mede a distribuição relativa de memória

e linguagem entre os hemisférios. Finalmente, por esse método não temos acesso à informação de localização funcional no hemisfério, que pode ser usada, por exemplo, na delimitação do tamanho da ressecção (DETRE, 2004).

1.3 – IMAGENS FUNCIONAIS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

A grande maioria das imagens geradas por RM são estruturais e fornecem importantes informações sobre detalhes anatômicos do corpo humano. Contudo, no início dos anos 1990 abriu-se a possibilidade de avaliar certos aspectos do funcionamento cerebral, de modo não invasivo, por meio das imagens funcionais por ressonância magnética (fMRI). Com o advento da fMRI ocorreu uma verdadeira revolução na avaliação pré-cirúrgica de pacientes com epilepsia.

Um agente de contraste, para utilização em fMRI, tem o objetivo de modificar o tempo de relaxação de determinada estrutura, fazendo com que esta apareça realçada. Eles são divididos em exógenos, como o Gadolínio (Gd-DTPA), ou endógenos. De fundamental interesse para este trabalho, a hemoglobina é um exemplo de contraste endógeno, tendo sido pela primeira vez proposta por Ogawa e colaboradores, em 1990, como agente de contraste para uso em RM. Ogawa constatou que essas diferenças poderiam ser detectadas, pois a hemoglobina é uma proteína que possui em sua constituição um átomo de ferro, elemento que permite a fixação do oxigênio, e apresenta dois estados principais: oxi-hemoglobina (Oxi-Hb) ou desoxi-hemoglobina (dOxi-Hb), dependendo da presença ou ausência do oxigênio em sua estrutura, respectivamente. Além disso, sabe-se há algum tempo que elas possuem características magnéticas distintas: a Oxi-Hb é diamagnética e a dOxi-Hb, paramagnética, e por isso é útil para avaliações funcionais de estrutura como o cérebro (OGAWA, 1990 a,b).

Fisiologicamente, a atividade neuronal em uma determinada região é acompanhada

por um aumento da demanda metabólica celular local. Para suprir essa demanda, o sistema circulatório responde com o aumento da oferta de glicose e oxigênio através de uma vasodilatação local, nas arteríolas. O aumento de fluxo sanguíneo oxigenado leva a uma alteração das propriedades magnéticas locais, interferindo no sinal de ressonância. Essa alteração de contraste, conhecida como BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*), é a base das imagens funcionais por ressonância magnética (LOGOTHETIS, 2002), e está ilustrada na figura 7.

Figura 7 – BOLD. O sistema vascular cerebral dilata localmente com uma atividade neuronal específica, acarretando em uma maior quantidade de oxí-hemoglobina, que não distorce o campo magnético local. Não havendo distorções de campo, há um aumento do sinal em uma imagem de ressonância magnética pesada em T2*.

As diferenças locais no brilho entre imagens geradas pelo contraste BOLD é bastante pequeno, da ordem do ruído, girando em torno de 3-4%, para campos de 1,5T. Desse modo, algumas estratégias devem ser utilizadas para melhorar a detecção dos locais onde houve alterações pelo sinal BOLD, e que reflete uma modulação da atividade neural localizada. Dentre essas estratégias está a aquisição seriada de imagens rápidas, conhecidas como Imagens Eco-Planares (EPI), ponderadas em T2*, que tem boa resolução temporal, da ordem de centenas de msec, mas baixa resolução espacial (figura 8).

Figura 8 – Exemplo de uma sequência EPI. A EPI é a aquisição ultra-rápida de várias fatias de uma determinada estrutura. Devido a resolução temporal elevada, perde-se em resolução espacial.

Outra estratégia da fMRI está na maneira como essas imagens são adquiridas, modulando o sinal neuronal que se pretende avaliar. Para tanto, durante a aquisição das imagens EPI, o sujeito realiza uma determinada tarefa, seguindo um protocolo específico. Em geral, utilizam-se duas estratégias: em bloco ou evento-relacionado. No primeiro, o indivíduo é levado a executar uma tarefa por um período relativamente longo de tempo (~30 segundos), e que é intercalado por períodos de igual duração, e que corresponderão a uma linha de base. Por exemplo, para o mapeamento da área motora, a tarefa de atividade pode ser o de abrir e fechar a mão, intercalado por períodos de repouso em que não se mexe a mão (figura 9). Este tipo de aquisição possui um alto poder de detecção, mas baixa estimativa da resposta BOLD. Já o evento-relacionado é muito utilizado para desenhos experimentais mais complexos, avaliando a resposta hemodinâmica e possibilitando estudos de comparação

entre diferentes estímulos e conectividade. Para este caso, o período de atividade é relativamente curto, tipicamente de 1 a 3 segundos, e o período de repouso longo, em torno de 20 segundos. No evento-relacionado, perde-se um pouco do poder de detecção, mas aumenta-se o poder de estimativa. Independente do protocolo utilizado, para aumentar o poder estatístico, repete-se o ciclo de repouso e atividade algumas vezes (Fig. 10).

Figura 9 – Estudo fMRI. Em um estudo fMRI, vários volumes são adquiridos ao longo do tempo. Enquanto a aquisição ocorre o sujeito executa uma tarefa pré-estabelecida, como mexer a mão em determinados períodos, com o objetivo de modular o efeito BOLD.

Uma vez tendo adquiridas as imagens, e independente do protocolo (Bloco ou ER) escolhido pelo experimentador, as imagens devem passar por alguns processos que buscam, ao final, detectar, com a maior precisão possível, as áreas que foram moduladas pela tarefa. Para tanto, dois conjuntos de procedimentos devem ser aplicados aos dados. Em um primeiro momento, eles devem ser pré-processados, na tentativa de maximizar a relação sinal-ruído das séries temporais, bem como reduzir eventuais artefatos das imagens. Em seguida, os dados devem passar por algoritmos computacionais específicos de processamento estatístico, que, em geral, fornecerão a probabilidade de cada região ter respondido, ou não, à tarefa.

Figura 10 - Desenho experimental. A aquisição ao longo do tempo da mesma região corresponde a uma variação da intensidade do pixel ao longo do tempo, sendo isto procurado nas análises estatísticas. Além disso, um experimento fMRI pode ser realizado com um desenho em bloco ou evento-relacionado. No primeiro caso se mantém a resposta hemodinâmica com um estímulo longo e no segundo caso se avalia a resposta desse sistema. Ambos são repetidos ao longo do tempo com intercalações de períodos de repouso, onde não se executa a tarefa exigida.

Pré-Processamento

Das estratégias de pré-processamento dos dados, dentre aquelas que têm sido utilizadas em maior consonância pela comunidade de fMRI, estão: correção de tempo entre fatias, aplicação de filtros espaciais e temporais, e correção de movimento.

Um estudo fMRI consiste em consecutivas aquisições do volume cerebral ao longo do tempo. Esse volume é composto por fatias, que são adquiridas uma a uma, fazendo aparecer uma defasagem temporal entre a aquisição de cada fatia. Como a região que responde a um estímulo pode abranger mais de uma fatia, e estas foram adquiridas em instantes de tempo

distintos, os pontos que descrevem a função hemodinâmica precisam ser temporalmente corrigidos, por meio de interpolações (figura 11).

Figura 11 – Correção temporal entre fatias EPI A correção temporal é necessária para que a resposta hemodinâmica seja corretamente estimada. Ao logo das aquisições, cada fatia é obtida em diferentes tempos. Caso há uma área coberta por duas fatias, por exemplo, cada medida obterá o ponto da resposta em instantes distintos. A correção visa ajustar esse efeito. Para isso é importante conhecer a forma com que as imagens foram adquiridas, podendo ela ser: seqüencial ou intercalada e ascendente ou descendente.

Embora com certa cautela, o filtro espacial tem sido utilizado em boa parte dos estudos de fMRI, em especial nos estudos de grupos. Quando submetemos uma imagem a esse filtro reduzimos o acesso às informações de alta frequência, ou seja, informações de bordas e regiões de alto contraste. Por outro lado, aplicar esse filtro faz com que percamos resolução espacial e aumentamos a relação sinal ruído, uma vez que esse procedimento minimizará as flutuações do sinal ocasionadas pelo ruído. O filtro pode ser traduzido como uma média local, que minimiza a contribuição do ruído pelo fato de cancelar termos aleatórios e preservar os recorrentes na vizinhança. Como em estudos funcionais utilizamos fatias que compõe um volume, o filtro espacial aplicado é 3D (figura 12), e segue, em geral,

uma função Gaussiana, expressa conforme equação a seguir:

$$f(x, y, z) = Ae^{-\left(\frac{x^2}{2S_x^2} + \frac{y^2}{2S_y^2} + \frac{z^2}{2S_z^2}\right)} \quad (1)$$

O primeiro termo (A) é um fator de normalização. Os termos x, y e z correspondem às posições geométricas das imagens e S_x , S_y e S_z são os desvios padrão da função. O parâmetro que caracteriza um filtro Gaussiano é a largura à meia altura, ou FWHM (*Full Width at Half Maximum*), que está relacionado com a abrangência do filtro em relação à sua vizinhança. Não existe forma direta de determinação dos melhores parâmetros dos filtros a serem utilizados nas análises, sendo que valores característicos variam entre 3mm e 12mm.

Figura 12 – Filtro Espacial. O filtro espacial distribui a informação melhorando a relação sinal ruído e, conseqüentemente, a análise estatística.

Além da correção temporal das fatias e do filtro espacial, tem sido freqüente a aplicação de filtros temporais (passa-alta e passa-baixa) com a finalidade de retirar freqüências decorrentes de ruídos do equipamento e das variações fisiológicas, como batimentos cardíacos (1,0-1,5 Hz) e respiração (0,2-0,3 Hz). Dependendo do tipo de ruído, ele

reduz significativamente o poder estatístico da análise para casos em que a frequência de apresentação dos estímulos é próxima à das flutuações fisiológicas ou do equipamento, por exemplo.

Outra etapa importante do pré-processamento corresponde à correção de artefatos de movimento. Uma pequena variação do posicionamento da cabeça dentro do tomógrafo, durante a aquisição, implica em uma variação espacial indesejada da região que o voxel representa. São vários os motivos que ocasionam essas movimentações, como fadiga pelo tempo de exame ou movimentações involuntárias, e podem ocorrer nos seis graus de liberdade: translação e rotação nos três eixos (x,y,z). Além disso, muitos estudos utilizam dispositivos como joysticks ou botões, que servem para obter respostas durante sua realização, que podem gerar mais movimentação quando utilizados.

A figura 13 mostra um caso típico de exame contaminado por artefato de movimento, com o mapa estatístico gerado com uma falsa ativação, em forma de auréola, que é decorrente da movimentação e não da resposta hemodinâmica.

Figura 13 – Artefato de movimento. A análise está baseada na variação da intensidade ao longo do tempo. Essa variação pode ser decorrente a modulação do sinal pelo efeito BOLD ou por movimentação do sujeito durante o período de atividade. A variação será decorrente da movimentação e não da ativação, não sendo possível ser retirado nem minimizado. Na imagem, a seta vermelha indica a ativação cerebral e ao redor uma significância decorrente da movimentação.

Quando a movimentação é pequena, em torno de 3 mm ou 3° para qualquer dos graus de liberdade, existe a possibilidade de aplicar estratégias computacionais de correção de movimento. Essa correção é baseada em transformações de corpo rígido, em que o primeiro volume do estudo serve de referência, para os outros subseqüentes serem comparados e ajustados a ele. Nesse modelo, as alterações ocorrem somente para as translações dos volumes, não considerando deformações, e o cálculo alinha os volumes minimizando as diferenças entre os volumes (figura 14).

Figura 14 – Correção de movimento. Durante a execução do estudo fMRI pequenas movimentações ocorrem. Essa movimentação é corrigida com transformações de corpo rígido, fixando a primeira imagem e ajustando as demais. No gráfico temos as seguintes curvas: vermelho (translação em X), verde (translação em Y), azul (translação em Z), amarelo (rotação em X), magenta (rotação em Y) e azul claro (rotação em Z).

Análise estatística

Tendo em vista que as alterações locais de sinal são baixas, é necessária a utilização de diferentes estratégias de análise de sinais a fim de possibilitar a detecção das áreas moduladas pela tarefa. Dentre elas, a que mais vem sendo utilizada é o modelo linear geral (GLM) (FRISTON et al., 1995). Neste método, verifica se as variações das intensidades dos pixels das imagens estão próximas a uma função preditora (figura 15), que, por sua vez, é um modelo *a priori* que representa a resposta hemodinâmica esperada durante a execução da tarefa. Os pixels que possuírem variação próxima a essa função serão estatisticamente

significativos, ou seja, a variação do sinal ao longo do experimento é condizente com o estímulo aplicado.

Figura 15 – GLM. O modelo linear geral está baseado no tipo de estímulo do estudo. Este exemplo corresponde a um desenho em bloco, que durante a tarefa esperamos um aumento de sinal. O preditor é uma função matemática que expressa essa modulação, considerando-se a resposta hemodinâmica do sistema. Pixels que possuírem variações de intensidade similares com o preditor serão estatisticamente mais significativos que pixels que não tiveram essa modulação.

De modo mais preciso, o GLM é descrito matematicamente como:

$$y = a_0 + a_1.x_1 + \dots + a_n.x_n + \varepsilon \quad (2)$$

Na equação acima, a variável “y” corresponde ao sinal medido e a expressão do lado direito é sua representação com base nos preditores, sendo expresso pela variável “x_n”. A variável a₀ corresponde à componente constante do sinal e os outros “a_n” são os pesos dos preditores a serem ajustados, em termos de sua amplitude. A variável “ε” é o erro desse ajuste.

A descrição acima serve para um único sinal. Para sistemas de muitas variáveis, como é o caso da fMRI, em que cada voxel está associado a variação da intensidade do sinal ao longo do tempo, o modelo pode ser generalizado. Para representar esse sistema de N variáveis, o GLM toma a notação matricial, abaixo:

$$\begin{pmatrix} y_1 \\ \vdots \\ y_N \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x_{11} & \cdots & x_{1V} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{M1} & \cdots & x_{MV} \end{pmatrix} \times \begin{pmatrix} a_1 \\ \vdots \\ a_N \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \vdots \\ \varepsilon_N \end{pmatrix} \Leftrightarrow Y = X\beta + \varepsilon \quad (3)$$

O preditor agora corresponde a uma matriz modelo (X), informada pelo experimentador e, nesta representação matricial, é aplicado a todos os pontos temporais (Y). A matriz de parâmetros a serem ajustados é agora representada por “ β ”, e é composta por todos os elementos a_i da notação anterior.

O objetivo, portanto, do GLM é estabelecer o melhor ajuste do conjunto de dados, ao modelo proposto, por meio da minimização dos parâmetros da matriz “ β ”, o que, de regra é determinada por mínimos quadrados. Nesse contexto, a significância do modelo para um dado voxel é representada através da amplitude do parâmetro associado, dividido pelo erro residual.

Um problema importante diz respeito ao aparecimento de falsos positivos, ou seja, regiões que foram avaliadas como sendo ativas, quando na realidade não estão. No caso da fMRI, esse problema é particularmente importante, dado o número de comparações estatísticas que se está fazendo, como os 4096 voxels de uma imagem com 64 x 64 voxels, por exemplo. Para minimizar esses efeitos, que ocorrem para múltiplas comparações devido a presença de ruídos Gaussianos, pode-se utilizar a correção de Bonferroni, que ajusta o valor estatístico dividindo-o pelo número de graus de liberdade. Essa estratégia é bastante restritiva, e, recentemente, outra alternativa tem sido bastante utilizada no cenário da fMRI: a FDR (*False Discovery Rate* – Taxa de Falsas Descobertas), menos restritiva e que atua apenas no conjunto de dados considerados significativos.

Mapas Estatísticos

Com a análise estatística realizada pelo GLM, obtêm-se um mapa 3D constituído por valores estatísticos associados a cada voxel da imagem. Para a visualização desses mapas, utiliza-se uma escala de cores do vermelho ao amarelo, por exemplo, com o limite inferior correspondendo à tolerância estatística de escolha. Os menos significativos, próximos à tolerância, recebem uma tonalidade avermelhada, e os que são muito significativos, tons próximos ao amarelo, omitindo os que se encontram abaixo do limiar (figura 16). Os voxels acima do limiar são chamados de “ativos”, ou seja, possuem significativa modulação à função preditora e são indicativos de atividade cerebral decorrente do estímulo aplicado.

Figura 16 – Mapa estatístico. Após a análise um mapa estatístico é gerado com uma escala de cores associado ao valor descritivo e acima de um limiar. Os que estão abaixo da tolerância não são mostrados.

Como as imagens EPI são de baixa resolução espacial, há uma dificuldade para se localizar estruturas específicas. Uma alternativa é o co-registro dos mapas estatísticos nas imagens de alta resolução espacial ($1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$), ponderada em T1 (figura 17).

Imagem Anatômica + Imagem Funcional

Resultado do Co-Registro após análise por GLM

Figura 17 – Co-registro. A primeira série corresponde à imagem de alta resolução espacial. A segunda série é a sobreposição do mapa estatístico (em azul), que é ajustada para que ocorra coerência de estruturas para a avaliação da ativação com a estrutura anatômica correspondente. A última série é o mapa estatístico correlogrado às imagens de alta resolução espacial.

Normalização (Espaço Talairach)

A técnica de normalização espacial é utilizada para permitir comparações entre sujeitos de um mesmo estudo e de diferentes centros de pesquisa. Possibilita reportar de maneira fácil e clara os dados localizados em um espaço padrão, ou seja, um mesmo sistema de coordenadas (KRISHNAN et al., 2006). Atualmente, a forma mais utilizada para esse tipo de análise é através do atlas Talairach (TALAIRACH & TOURNOUX, 1988). Para isso, durante o processamento das imagens, o volume cerebral de cada sujeito é deformado para que suas dimensões se encaixem nesse espaço normalizado. Utilizá-lo permite identificar a

que região pertencente à ativação de interesse através de suas coordenadas euclidianas (KRISHNAN et al., 2006).

Dependendo do programa de análise, essa normalização é executada com diferentes estratégias, podendo ser automática ou semi-automática. A semi-automática consiste em alinhar o cérebro ao plano formado pela comissura anterior (AC) e comissura posterior (PC) (plano AC-PC). Após esse procedimento, para a transformação no espaço padrão, os limites do cérebro são informados, correspondendo ao ponto mais anterior, posterior, inferior, superior e os laterais. Através de deformações lineares o cérebro é ajustado ao espaço padrão (figura 18).

Figura 18 – Normalização. Consiste em ajustar as dimensões dos diferentes cérebros. Inicialmente o cérebro é alinhado ao plano AC-PC e posteriormente redimensionado para que suas dimensões se equiparem com um cérebro padrão.

Esse processo, no entanto, ajusta apenas as dimensões do cérebro e não suas estruturas, como giros e sulcos. Outras estratégias, como o alinhamento cortical, têm sido tentadas. São abordagens computacionais complexas, aplicando outras deformações e utilizando outros sistemas de referência.

Índice de Lateralização

Há indícios de que algumas funções cerebrais não ocorram simetricamente, nos dois hemisférios, o que corresponderia a uma especialização maior de certas estruturas em um dos hemisférios para a execução de determinadas tarefas, como parece ser o caso de linguagem e memória. Por exemplo, cerca de 90 % dos indivíduos possuem dominância para linguagem à esquerda, sendo que esse número sofre redução em pessoas canhotas ou ambidestras (FOUNDAS et al., 2002).

Do ponto de vista da neuroimagem funcional, a dominância hemisférica tem sido avaliada por meio de um índice, conhecido por índice de lateralização (IL). Esse índice é uma razão de assimetria com base na quantidade de voxels significativos à direita (V_{DIR}) e à esquerda (V_{ESQ}) (NAGATA et al., 2001; RABIN et al., 2004; SZAFLARSKI et al., 2004; BRANCO et al., 2006; WEBER et al., 2007; VANNEST et al., 2008). Desse modo, tarefas que possuem um maior número de voxels à esquerda serão expressas por valores positivos, e à direita, por valores negativos.

$$IL(\%) = \frac{(V_{ESQ} - V_{DIR})}{(V_{ESQ} + V_{DIR})} \times 100 \quad (4)$$

Além disso, em estudos de linguagem tem sido utilizada a convenção de que $IL > +20\%$ é um indicativo de dominância à esquerda, e $IL < -20\%$, um indicativo de dominância à direita. Valores situados entre esses dois limites correspondem a uma dominância hemisférica bilateral (SZAFLARSKI et al., 2004).

Embora menos utilizada na literatura, uma alternativa é o cálculo do IL por regiões de interesse específicas. Em outras palavras, ao invés de somar o número total de voxels à esquerda e à direita, para o cálculo do IL, essa soma é realizada somente sobre aqueles voxels que compõem determinada estrutura, ou porção do cérebro (figura 19).

Figura 19 – Índice de lateralização. O índice avalia a simetria dos voxels ativos, que pode ocorrer em cada um dos hemisférios, em uma determinada região ou pela comparação entre a variação dos voxels com relação a algum parâmetro, como o limiar estatístico.

1.4 – IMAGENS MULTIMODAIS

As técnicas de neuroimagem funcional são fundamentalmente complementares e buscam avaliar o cérebro de modo mais completo. Atualmente essas avaliações procuram combinar diferentes informações e, em alguns casos, tentar adquiri-las simultaneamente, como é o caso dos estudos de EEG-fMRI. Neste, busca-se associar informações de alta resolução temporal de medidas elétricas do EEG com as variações de sinal detectadas pela fMRI, que tem boa resolução espacial.

Há, ainda, várias perspectivas de se associar modalidades distintas de imagens por ressonância magnética (IRM), obtidas por um mesmo equipamento, como é o caso, por exemplo, da combinação das imagens por tensor de difusão (*Difusion Tensor Imaging - DTI*) com a fMRI.

As imagens por tensor de difusão avaliam a mobilidade da molécula de água (difusão) e permitem avaliar, mais especificamente, a substância branca, visando traçar os feixes de axônios que a compõem (anexo A). As paredes celulares dos axônios exercem resistência à passagem da água, que faz com que a difusão seja preponderantemente no sentido longitudinal do axônio. Utilizando seqüências específicas, é possível gerar imagens da mesma posição do espaço dependentes da orientação do gradiente de geração das IRM. Caso a difusão ocorra no sentido do gradiente aplicado, o sinal decai rapidamente, e torna-se possível a geração de mapas que permitem estudos de conectividade cerebral em um sistema *in vivo* (figura 20), não invasiva e livre de radiação ionizante, sendo uma importante ferramenta para o mapeamento pré-cirúrgico quando combinada com as imagens fMRI (OLESEN et al.,2003; SCHONBERG et al.,2006; VERNOOIJ et al.,2007).

Figura 20 – Combinação de imagem funcional com tractografia em um estudo de linguagem (figura retirada de VERNOOIJ et al.,2007).

Objetivos

O hipocampo e estruturas adjacentes são muito importantes nos processos de memória. Tendo em vista que essa estrutura é uma das principais envolvidas em epilepsia do lobo temporal e, que uma parcela considerável de pacientes deve ser submetida à cirurgia, avaliar o seu funcionamento, nesses pacientes, toma um papel de destaque. A fMRI consolida-se como uma ferramenta útil para avaliações dos processos de memória e implementar métodos para sua utilização é de fundamental interesse. Desse modo, este trabalho tem como objetivo desenvolver e testar métodos que possibilitem sua aplicação a protocolos de memória em estudos fMRI.

Objetivos Específicos

- Desenvolver um paradigma de memória episódica que seja eficiente para a detecção de estruturas temporais mesiais pela utilização da fMRI;
- Desenvolver um dispositivo, através da utilização de infravermelho, de interface entre o paciente e o software de controle das tarefas de memória, capaz de promover o monitoramento e a detecção de respostas durante a aquisição dos exames de fMRI;
- Desenvolver estratégias de análise que possibilitem a correta avaliação do índice de lateralização de estruturas temporais mesiais, em tarefas de memória;
- Avaliar a aplicabilidade desses métodos em pacientes com epilepsia do lobo temporal de difícil controle.

Material e Métodos

3.1 – CASUÍSTICA DOS EXAMES

Logística: O exame de fMRI tem curta duração e não acarretou em competição com a fila de espera de pacientes da rotina clínica. Sua realização não gerou custos adicionais para o Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP), por não requerer administração de agente contraste nem a necessidade de fotografar em filmes. O pagamento de pessoal técnico foi realizado com verba de projeto de pesquisa, aprovado pela FAPESP (2005/03225-7), e os equipamentos de análise e processamento estão disponíveis no laboratório de neuroimagem funcional (NeuroImago) do Departamento de Física e Matemática da FFCLRP/USP. Este estudo foi submetido à apreciação do comitê de ética do HCRP, sob o processo de número 11461/2006, sendo aprovado tanto sua execução como os formulários de consentimento livre e esclarecido, encontrando-se em anexo (anexo B). O formulário de consentimento foi apresentado em duas vias a todos os voluntários e pacientes, com uma via retida por eles e outra pelo pesquisador.

Casuística: Para este estudo foram realizados exames em dois grupos de indivíduos, com as seguintes características:

- 21 Voluntários assintomáticos, destros, com idade entre 20 e 50 anos, de gênero variável (média de idade de $24,0 \pm 3,2$ anos, com 12 mulheres e 9 homens), recrutados no Departamento de Física e Matemática bem como entre alunos, funcionários e docentes do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto;
- 7 Pacientes com epilepsia de difícil controle (média de idade de $39,0 \pm 12,7$ anos, com 4 mulheres e 3 homens), selecionados no Centro de Cirurgia de Epilepsia (CIREP) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, candidatos à cirurgia de epilepsia.
- Critérios de inclusão dos pacientes com epilepsia:
 - Diagnóstico de Epilepsia confirmada por exames de eletroencefalografia, IRM convencional, Vídeo-EEG e exame clínico;
 - Pacientes candidatos à cirurgia, baseado em decisão de reunião clínica do Centro de Cirurgia de Epilepsia (CIREP);
 - Idade entre 20 e 50 anos;

- Critérios de exclusão para pacientes com epilepsia:
 - Patologia ou alteração cognitiva importante que dificulte a compreensão ou colaboração do paciente durante o exame de fMRI;
 - Impossibilidade de realizar a fMRI por contra-indicação ao exame, tais como: ser portador de marca-passo cardíaco, presença de útero gravídico (até três meses), presença de implantes metálicos, presença clipe de aneurisma, presença de próteses em vasos;
 - Pacientes com malformações arteriovenosas ou problemas psiquiátricos limitantes à execução do exame.

Em todos os sujeitos, aplicou-se o teste de Edinburgh para avaliação da dominância manual. Este é baseado em um questionário, no qual se avalia a preferência do uso da mão esquerda ou direita para realizar uma série de tarefas, como escrever, desenhar, jogar, usar uma tesoura, usar a escova de dentes, usar uma faca, etc. Dessas informações obtêm um índice que indica a dominância manual (formulário eletrônico utilizado através da URL: <http://www.brainmapping.org/shared/Edinburgh.php>).

3.2- EQUIPAMENTOS E PARÂMETROS DE AQUISIÇÃO

O equipamento utilizado para as IRM foi um equipamento Siemens (Magnetom Vision), de 1,5 Tesla, com bobina de cabeça de quadratura e polarização circular comercialmente disponível. Este aparelho está instalado há dez anos na instituição, em atividade regular com condições normais de funcionamento e manutenção periódica.

Os estudos funcionais foram por uma sequência EPI, obtidos com os seguintes parâmetros: TR/TE – 3000/60 ms; Matriz de 64x64 pixels; ângulo de 90°; tempo de aquisição: ~5 minutos; FoV de 220 mm; largura da fatia de 6 mm; 102 volumes, com os 16 cortes cobrindo todo o cérebro para os 7 primeiros sujeitos analisados, e nos pacientes. Em outros 5 sujeitos adquirimos 10 cortes com FoV de 240 mm, mantendo os outros parâmetros. Esse

novo conjunto de aquisição foi centralizado na região do hipocampo, alinhando os cortes ao seu eixo longitudinal.

Para superposição dos resultados funcionais, adquirimos 156 imagens de alta definição espacial (MPR), com os seguintes parâmetros: TR/TE - 9.7/4.0 ms; Matriz de 256x256 pixels; ângulo de *flip* 12°; FoV de 256 mm; largura da fatia de 1 mm; orientação dos cortes: sagital; tempo de aquisição: ~8 minutos.

Desenho Experimental

Neste trabalho foi utilizado o desenho em bloco, somando um total de 102 volumes por estudo. Ele foi composto por 3 volumes iniciais como apresentação de uma cruz para fixação, seguidos por nove blocos, de 11 volumes (33 segundos) cada, sendo cinco blocos de repouso e quatro de atividade, intercalados (figura 21).

Em cada bloco foram apresentadas 11 imagens coloridas, durante 2500 milissegundos, seguidas por 500 milissegundos de uma tela preta. No bloco de repouso, foram mostradas imagens embaralhadas, geradas a partir das imagens do período de atividade (figura 21), mantendo, desse modo, uma linha de base visual estável. As figuras foram obtidas de uma coleção comercial de imagens digitais (*PhotoDisc, Seattle, WA, USA*), possuindo cada uma delas 336x336 pixels.

Para a apresentação dos estímulos visuais utilizamos o programa comercial *Presentation versão 0.60*. Dentro da sala de comando do tomógrafo, as rotinas foram executadas em um computador portátil conectado a um projetor SONY. Dentro do tomógrafo foi posicionada uma tela para projeção das imagens, localizada na altura dos pés do sujeito, que as visualizava por um espelho acoplado à bobina de RF.

Foram realizados dois estudos funcionais, em todos os participantes, um seguido do outro: de codificação e recuperação de memória. No primeiro, de codificação (*Encoding*), o

sujeito deveria responder se a imagem observada correspondia a um ambiente interno. Se a resposta fosse afirmativa, um botão era pressionado, caso contrário, não. No segundo, de recuperação (*Retrieving*), metade das imagens apresentadas anteriormente, durante a codificação, foi trocada por imagens novas, e o sujeito foi instruído a responder se a figura já havia sido apresentada anteriormente, durante a seção de codificação, ou não. Caso a resposta fosse afirmativa, o botão era pressionado, caso contrário, não.

É importante notar que os indivíduos não sabiam previamente o que iriam executar na tarefa de recuperação. A instrução inicial dizia respeito apenas à tarefa de codificação. Quando do término da primeira seção, uma nova instrução lhes era apresentada, informando sobre a tarefa de recuperação, na qual eles deveriam recordar imagens apresentadas anteriormente. Esse procedimento tinha o objetivo de fazer com que a memorização das imagens apresentadas pela primeira vez ocorresse de forma passiva, sem o esforço e foco de atenção do sujeito para tal atividade.

Figura 21 – Paradigma em bloco utilizado nos estudos fMRI em memória. Inicialmente é apresentado uma cruz durante 2500ms com 500ms de fundo preto. Posteriormente são alternados blocos de repouso (imagens embaralhadas) e atividade (imagens de ambientes), apresentando cada imagem durante 2500ms e 500 de fundo preto. Para cada imagem apresentada adquire-se um volume. No período de atividade, o sujeito é instruído a responder, no primeiro estudo de codificação, se a imagem corresponde a um ambiente interno e posteriormente, no segundo estudo de recuperação, se a imagem foi visualizada no estudo anterior.

3.3 – DISPOSITIVO INFRAVERMELHO

Muitos desenhos experimentais necessitam da interação entre o sujeito e o protocolo de medida. Os dados fornecidos através dessa interação são importantes para extrair informações sobre o desempenho da tarefa, incluindo o tempo de resposta e número de acertos. Além disso, serve para manter o foco de atenção do indivíduo voltado para a tarefa. No caso do protocolo aqui proposto, as respostas foram medidas a partir de um dispositivo, desenhado e construído especialmente para operação em um ambiente de RM, que impõe desafios importantes. Além do alto campo magnético, esse ambiente é ainda bastante sensível a perturbações eletromagnéticas externas. Portanto, deve-se garantir que não haja ruído induzido sobre o dispositivo, nem sobre as imagens. Mais importante, deve-se garantir a segurança dos indivíduos que se submeterão aos exames.

O dispositivo aqui proposto se comunica com um computador por meio de radiação infravermelha (IR). Um receptor IR é conectado à saída USB do computador, posicionado na sala de controle, para receber os pulsos de um emissor IR que fica dentro da sala de exames. Foram feitos três arranjos de botões, presos a uma base de acrílico simples e anatômica (figura 22). Um sistema contém dois botões, para que o sujeito possa escolher entre o esquerdo e o direito, e dois sistemas contendo um único botão. Destes, o primeiro foi projetado para registrar apenas uma resposta ao pressionar o botão, e o segundo, dois registros: no instante em que o botão que é pressionado e quando o mesmo é solto.

Figura 22 – Imagem dos botões utilizados pelos sujeitos. O da esquerda registra quando é pressionado e liberado, enquanto o da direita registra apenas o apertar. O conjunto central é o arranjo de dois botões de clique simples. Todos eles com a saída serial para conexão com a base emissora e acomodados em uma base de acrílico.

O emissor IR é composto por um estojo de acrílico opaco preto (nas laterais) e transparente vermelho (na janela de emissão), confeccionados na oficina do Departamento de Física e Matemática (DFM). Na figura 23 observa-se a alimentação dos circuitos por duas pilhas AAA, à esquerda. É importante ressaltar que as pilhas de melhor qualidade no mercado possuem muito material ferromagnético, presente principalmente em seu invólucro. Já nas pilhas de qualidade inferior, a presença de materiais ferromagnéticos é reduzida, o que favorece seu uso dentro do tomógrafo.

Os circuitos foram obtidos de dois controles remotos distintos (figura 23-a). A diferença entre eles está na forma de emissão dos pulsos. O menor emite apenas um pulso quando se pressiona uma das teclas, enquanto o outro emite pulsos, continuamente, durante a pressão. Para registros do tipo resposta simples, os botões utilizam o circuito de pulso

único. O outro circuito foi desenhado para tarefas que necessitem de uma resposta contínua, como é o caso da simulação de um joystick, por exemplo, de interesse pelo nosso grupo (DE ARAUJO et al., 2002).

Figura 23 – Visualização da base emissora, confeccionada em acrílico preto para acomodação dos circuitos emissores de pulsos e as pilhas que alimentam esse circuito. (a) Imagem interna do emissor infravermelho. (b) Vista traseira do emissor mostrando a conexão serial para encaixe dos botões.

Os botões que compõem o sistema são constituídos de plástico e possuem conexões de materiais diamagnéticos, não sendo atraídos pelo magneto. Eles são ligados com a base emissora por meio de conectores seriais. Os cinco pinos superiores (figura 23-b) são destinados ao circuito de navegação e os quatro pinos inferiores ao circuito de pulso simples. Quando o sujeito está dentro do tomógrafo, o conjunto de botões permanece distante da bobina e a base emissora é posicionada na janela de monitoração para que não sejam inseridos artefatos no estudo (figura 25).

O receptor IR foi adquirido comercialmente (figura 24). Ele possui conexão USB com o computador que controla os estímulos, e é portátil. No momento que o emissor é acionado, uma sequência de pulsos específica é captada pelo receptor, através do programa, *PC Remote Control v4.0*. Por fim, os pulsos de IR são associados ao *Presentation versão 0.60*, de modo a identificar o momento exato da resposta do indivíduo no instante em que há a apresentação das imagens do protocolo experimental.

Figura 24 – Receptor infravermelho conectado ao computador para registro comportamental do sujeito. O circuito receptor é acondicionado dentro de uma caixa de acrílico e a comunicação desse circuito com o computador é realizada via USB.

O esquema da figura 25, a seguir, exemplifica todo o aparato montado.

Figura 25 – Esquema de operação do dispositivo infravermelho montado para captação das respostas dos sujeitos.

3.4 – PROCESSAMENTO DAS IMAGENS FUNCIONAIS

Para o processamento das imagens, utilizamos o programa comercial *Brain Voyager™ QX* (*Brain Innovation, Maastricht, The Netherlands*), versão 1.10.2. As imagens funcionais foram, primeiramente, pré-processadas para correção de artefatos de movimento e correção temporal de fatias, além da aplicação de filtros espaciais (6 mm) e temporais (passa alta de 0.01 Hz) na série de imagens. Os dados foram normalizados para o espaço Talairach e, para visualização dos mapas estatísticos, co-registrados com as imagens de boa resolução anatômica (MPR).

Após o pré-processamento, os dados foram analisados através do método GLM para estudos em grupo e individuais, utilizando para ambos os casos os dados no espaço normalizado. A função modelo (preditora) foi obtida pela convolução entre o desenho em bloco e uma função de resposta hemodinâmica, do tipo dupla-Gamma, com tempo ao pico de 5 segundos e tempo de retorno à linha de base de 15 segundos. Para a determinação do limiar estatístico, e obtenção da quantidade de voxels considerados para as análises, utilizamos a correção para múltiplas comparações para a taxa de falsas descobertas (FDR), variando a tolerância para valores de: $q(FDR) < 0,05; 0,04; 0,03; 0,02; 0,01; 0,005$ e $0,001$.

Programa para Auxílio de Análise (*VOI Analyser*)

Existem várias maneiras de se avaliar a qual estrutura está associada uma dada coordenada no atlas Talairach. Uma delas é através de um programa gratuito chamado *TalairachDaemon* (*Research Imaging Center, Texas University* – <http://www.talairach.org>), que permite o acesso a essa informação, tanto de uma única coordenada, como de um conjunto de pontos.

Por outro lado, o *BrainVoyager™ QX* permite que as coordenadas dos mapas estatísticos sejam salvas em um arquivo texto. Para transformar o arquivo fornecido em um

arquivo compatível com o *TalairachDaemon*, bem como possibilitar a identificação automática de estruturas cerebrais, um programa foi desenvolvido por nós, em linguagem *Object Pascal*, utilizando o compilador Borland Delphi 6®, para ser executado em qualquer plataforma Windows®.

Inicialmente, o programa foi denominado de *FiltrarClusters* e a interface mostrada na figura 26 têm duas funções básicas para a otimização das análises. A primeira delas é a de formatar o arquivo fornecido pelo *BrainVoyager™ QX*, uma vez que o *TalairachDaemon* requer que os arquivos a serem analisados tenham no máximo 50000 coordenadas. Com esses arquivos limpos e fragmentados, utiliza-se o programa *TalairachDaemon* para identificação das estruturas cerebrais. Após esse procedimento, utiliza-se a segunda parte do programa, em azul. Nessa região, insere-se os arquivos fornecidos pelo *TalairachDaemon* e a função filtrar agrupa todas as informações e as disponibiliza em uma planilha, filtrando, ainda, informações não pertinentes, como coordenadas que não correspondem ao córtex.

Figura 26 – Primeira versão do programa *FiltrarClusters* desenvolvido para otimizar as análises.

O programa *FiltrarClusters* foi posteriormente aperfeiçoado e traduzido para o inglês (figura 27 e 28), que resultou em denominá-lo *VOI Analyser*. Nessa nova versão, um banco de dados das coordenadas Talairach foi inserido, não havendo mais a necessidade da realização da última etapa, pelo *TalairachDaemon*. Nesta, basta inserir o arquivo fornecido pelo *BrainVoyager™ QX* para geração da planilha.

Figura 27 – Ambiente gráfico atual do programa *VOI Analyser*. Na região em azul, basta o usuário inserir o arquivo de coordenadas e filtrar para obtenção da planilha. Há a possibilidade de ele filtrar os dados que corresponda a uma estrutura específica e gerar um arquivo de saída compatível com o *BrainVoyager™ QX*. Esse arquivo é constituído por ROI correspondentes às ativações na estrutura identificada. Na região em verde, o usuário tem a opção de colocar a coordenada do ponto e consultar a qual região do córtex corresponde.

Figura 28 – Ambiente gráfico atual do programa *VOI Analyser*, para o processamento do modo anterior utilizando o *TalairachDaemon*. Caso ocorra interesse em processar os arquivos no modo anterior, o usuário acessa o ambiente através da do botão que alterna as versões e utiliza os campos da mesma maneira. Em verde as coordenadas são fragmentadas a cada 50000 pontos e na região em azul ocorre a filtragem e geração da planilha com base nos arquivos do *TalairachDaemon*. Ainda na região em azul, basta selecionar o primeiro arquivo fragmentado que o programa considera os outros seguintes.

A planilha final (figura 29) é composta por duas tabelas, com as informações mostradas por hemisférios. A primeira contém a quantidade de voxels significativos correspondentes aos giros, e a segunda com as informações referentes às áreas de Brodmann e regiões sub-corticais. Todas essas regiões são acompanhadas pela coordenada média e seus desvios padrão.

SemHF_FILTERED.XLS [Modo de Compatibilidade] - Microsoft Excel

Arquivo

Inicio

Inserir

LAYOUT DA PÁGINA

Fórmulas

Dados

Revisão

Exibição

Colar

Calibri 11

Fonte

Alinhamento

Quebrar Texto Automaticamente

Mesclar e Centralizar

Formato

Formatar como Tabela

Estilos de Célula

Inserir

Excluir

Formatar

Células

Classificar e Localizar e Filtrar

Localizar e Selecionar

Edição

Área de Trabalho

A17

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q			
1	Gyrus	Hemisphere	Voxels	X	Y	Z	SDX	SDY	SDZ	Brodmann										
2	Middle Temporal Gyrus	Left	326	-43,4264	-68,1288	12,4908	6,646163	11,23574	12,10257	39(92)	19(144)	37(80)	22(10)							
3	Middle Temporal Gyrus	Right	809	52,76885	-50,3956	3,70581	8,371464	26,12298	12,99629	21(319)	37(104)	*(1)	22(36)	20(2)	39(187)	19(160)				
4	Inferior Temporal Gyrus	Left	138	-48,1449	-39,4638	-18,442	6,820483	16,53978	8,278032	37(37)	20(101)									
5	Inferior Temporal Gyrus	Right	259	55,98069	-39,3282	-12,1351	4,492415	22,50332	3,683333	20(121)	21(69)	37(61)	19(5)	18(3)						
6	Middle Occipital Gyrus	Left	2362	-33,5821	-87,7866	7,207028	5,015713	6,158518	7,059431	19(1053)	37(3)	18(1262)	*(44)							
7	Middle Occipital Gyrus	Right	3276	36,26954	-86,8486	5,710523	7,69076	7,01403	7,475796	37(7)	19(1476)	18(1718)	*(75)							
8	Fusiform Gyrus	Left	1255	-34,0319	-51,0534	-13,1384	7,973877	12,74594	4,035686	19(413)	37(613)	20(221)	36(8)							
9	Fusiform Gyrus	Right	2019	37,21842	-53,9287	-12,6449	8,96858	12,7901	2,877958	37(1029)	19(646)	20(340)	18(4)							
10	Lingual Gyrus	Left	443	-17,5734	-66,5147	-1,92099	6,065697	7,366712	3,567144	18(173)	19(196)	*(63)	17(3)	30(8)						
11	Lingual Gyrus	Right	1639	18,2892	-66,7474	-1,8432	4,840995	9,816118	4,315595	19(533)	18(912)	30(27)	*(112)	17(55)						
12	Parahippocampal Gyrus	Left	2295	-25,176	-31,5137	-11,8571	5,073173	12,05815	7,105971	19(354)	30(130)	Hippocampus(131)	35(391)	27(87)	36(755)	37(132)	*(9)	18(3)	28(169)	34(1)
13	Parahippocampal Gyrus	Right	2474	23,85206	-29,0893	-11,1156	5,745578	13,69401	6,998438	19(244)	36(666)	37(26)	18(2)	30(303)	28(290)	35(468)	Hippocampus(36)	*(14)	27(134)	34(1)
14	Sub-Gyral	Left	387	-29,7984	-30,4341	-5,1292	2,928456	7,214527	4,294092	*(3)	Hippocampus(373)	28(4)	37(7)							
15	Sub-Gyral	Right	238	29,68908	-35,3782	-2,01261	4,030994	5,163964	4,34919	19(4)	37(6)	30(3)	Hippocampus(225)							
16																				
17																				
18																				
19	Brodmann area	Hemisphere	Voxels	X	Y	Z	SDX	SDY	SDZ											
20	28	Left	173	-20,6879	-20,7514	-13,526	1,723882	4,855057	5,614109											
21	28	Right	291	20,33677	-17,9622	-14,5395	2,309647	5,331295	4,451383											
22	35	Left	391	-23	-26,3171	-16,0205	3,292571	4,33373	5,101995											
23	35	Right	468	22,99573	-25,6581	-15,2201	3,264235	4,01264	4,611765											
24	Hippocampus	Left	504	-29,4325	-28,5893	-6,32937	1,670529	6,652999	4,670734											
25	Hippocampus	Right	261	29,45977	-33,9885	-2,32184	1,653467	4,751099	4,591365											
26	27	Left	87	-20,5862	-31,6207	-3,2069	2,780964	2,136294	2,124814											
27	27	Right	134	19,10448	-32,7836	-2,11194	4,12086	2,602376	2,530002											

Pronto

SemHF_FILTERED

100%

Figura 29 - Planilha de saída, composta por uma tabela de giros e outra por área de Brodmann e estruturas subcortiais, com suas respectivas coordenadas médias e desvios.

Além disso, uma opção para gerar uma ROI retangular foi disponibilizada para auxílio em análises de lateralização. Utilizando os limites desejados nas três direções cartesianas para o espaço Talairach, define-se o retângulo para gerar todas as coordenadas que o compõe. Caso essa região corresponda a apenas um hemisfério há a opção de gerar sua ROI simétrica (figura 30), definida pelo sinal do eixo X: os valores positivos (direito) ou negativos (esquerdo).

Figura 30 - VOI Analyser: criação de ROI retangular. Através da interface (a) defini-se os limites do retângulo e a possibilidade de selecionar se cria seu simétrico. Na direita (b), visualiza-se a ROI gerada através do programa Brain Voyager™ QX.

Regiões de Interesse (ROI)

Este estudo tem interesse especial sobre uma região do cérebro específica: o complexo amígdala-hipocampo. Por se tratar de uma região anatômica conhecida, a análise por ROI é a mais adequada.

Neste estudo segmentamos a estrutura de interesse para todos os voluntários, tanto no espaço nativo como no normalizado. Os limites do complexo amígdala-hipocampo, abrangendo estruturas adjacentes, foram baseados no trabalho de Watson (WATSON et al., 1992) e a segmentação realizada manualmente através do programa *Brain Voyager*TM QX, utilizando as imagens de alta resolução espacial (MPR).

3.5 – ÍNDICE DE LATERALIZAÇÃO CORRIGIDO

Conforme visto anteriormente (equação 4), o índice de lateralização (IL) é calculado com base na quantidade de voxel obtidos para os dois hemisférios. De acordo com esse procedimento, uma maior quantidade de voxels no hemisfério esquerdo acarreta em índices positivos, e vice-versa. Quando há quantidades próximas, ou nulas, de voxels significativos nos dois hemisférios, o IL é nulo ou valores próximos a zero.

Percebe-se que o cálculo tradicional do IL sofre a influência de diversas variáveis. De especial preocupação está o fato de que o índice é obtido sobre todo o hemisfério, o que pode levar a distorções importantes. Por exemplo, suponha um estudo em que a assimetria hemisférica se dê apenas no córtex pré-frontal. Suponha, ainda, que o estímulo evoca a resposta do córtex visual primário, bilateral. Neste caso, o cálculo do IL será impreciso, em virtude da atividade bilateral do córtex visual, fornecendo valores mais próximos de zero.

Embora o cálculo tradicional do IL ainda seja a mais utilizada para fins de avaliação clínica, em virtude dessa limitação, alguns grupos de pesquisa têm começado a buscar por

alternativas para o cálculo do IL. Nesse sentido, a primeira proposta busca limitar essa estimativa a estruturas específicas. Por exemplo, no caso de linguagem, o IL tem sido estimado apenas sobre o opérculo frontal, ou área de Broca.

Essa estratégia, embora seja mais precisa, ainda tem limitações. Uma delas diz respeito às diferenças dos tamanhos das ROI utilizadas, principalmente para estruturas pequenas, assim como da quantidade de voxels significativos dentro de cada uma delas. A forma como é gerado esse índice não considera a porcentagem da ROI que está ativa. Em outras palavras, suponha duas ROI, de mesmo tamanho anatômico, por exemplo, com 10.000 voxels cada. Suponha, ainda, uma primeira situação em que o estudo funcional revelou 75 voxels significativos à esquerda e 25 voxels à direita. Utilizando-se a definição do IL tradicional, obtêm-se um IL de 50%. Em uma segunda situação, as mesmas ROI exibiram o seguinte número de voxels significativos: 7500 à esquerda e 2500 à direita. Novamente, o IL calculado é de 50%. Essas duas situações são fisiologicamente distintas, e essa diferença pode se refletir no mesmo IL calculado. Exagerando, imagine, ainda, que o lado esquerdo de uma ROI possui 1 voxel ativo, e o direito, nenhum. O cálculo usual do IL nos forneceria um valor de 100%, o que parece pouco representativo.

Em outra situação, duas ROI possuem tamanhos anatômicos diferentes: à esquerda com 10.000 voxels e à direita com 15.000 voxels. Digamos que as duas estejam totalmente ocupadas por voxels significativos. O índice para essa situação seria de 20%, embora não reflita uma diferença da atividade entre hemisférios, mas, simplesmente, a diferença de volume entre elas.

Por acreditar que a representatividade da ROI deve ser levada em consideração, bem como o seu tamanho anatômico, uma nova proposta de IL corrigido (IL'), é aqui apresentada, de acordo com as equações 5 e 6 que se seguem.

$$IL'(\%) = \frac{2 \times \left(Ativo_{ESQ} + \frac{ROI_{ESQ}}{ROI_{DIR}} \times Ativo_{DIR} \right)}{\left(ROI_{ESQ} + \frac{ROI_{ESQ}}{ROI_{DIR}} \times ROI_{DIR} \right)} \times \frac{\left(Ativo_{ESQ} - \frac{ROI_{ESQ}}{ROI_{DIR}} \times Ativo_{DIR} \right)}{\left(Ativo_{ESQ} + \frac{ROI_{ESQ}}{ROI_{DIR}} \times Ativo_{DIR} \right)} \times 100 \quad (5)$$

$$IL'(\%) = \frac{\left(Ativo_{ESQ} - \frac{ROI_{ESQ}}{ROI_{DIR}} \times Ativo_{DIR} \right)}{\left(ROI_{ESQ} \right)} \times 100 \quad (6)$$

A equação 5 é a modificação da equação 4 com a inserção da correção para a quantidade de voxels ativos que ocupam as ROI (primeiro termo) e a correção para a assimetria entre as ROI (razões presentes no primeiro e segundo termo). A equação 6 é o resultado dessas modificações, com a variável “Ativo” para a quantidade de voxels significativos dentro da ROI e a variável “ROI” para o total de voxels que a compõem, para ambos os lados.

Por fim, o cálculo do IL é realizado com um limiar estatístico fixo, em geral $p < 0.001$. Contudo, alguns trabalhos já demonstraram que o valor de IL é bastante dependente desse limiar, o que impõe outro desafio importante na busca por alternativas (NAGATA et al., 2001; BRANCO et al., 2006). Espera-se que essa nova estratégia para o cálculo do IL, aqui proposta, seja menos susceptível à variação do limiar estatístico.

Resultados

4.1 - CASUÍSTICA GERAL

Para este trabalho foram realizados um total de 28 exames fMRI, dos quais 9 foram descartados por problemas no equipamento ou apresentarem muito movimento durante a execução da tarefa ($> 2\text{mm}$ ou 2°). Dos 21 sujeitos assintomáticos, 12 foram selecionados para a análise final (média de idade de $23,9 \pm 3,3$ anos, com 8 mulheres e 4 homens). Os exames de 8 sujeitos tiveram que ser descartados por problemas em um dos módulos de gradiente do equipamento, que culminou em artefatos que deformavam as imagens EPI, impedindo seu processamento e análise. Imagens de um indivíduo foram excluídas das análises por apresentar elevada contaminação por artefato de movimento, que superava 2 mm. Dos 7 pacientes, 1 possuiu idade superior a 50 anos (paciente 13) e foi incluído devido ao método de análise individual deste trabalho. Os dados demográficos da população estudada encontram-se apresentados na tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Casuística dos Voluntários e Pacientes

	Nº	Inicial	Idade (anos) / Gênero	Lateralidade*	Escolaridade	EMT
Voluntários	Descartados	△ KTC	23 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
		△ MHA	21 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
		△ GMD	23 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
		△ MAPi	23 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
		△ LM	22 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
		△ MAPe	23 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
		△ PM	23 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
		△ TAS	26 / Masculino	Destro	Pós-graduação	----
		↓ LMMC	32 / Feminino	Destra	Superior Completo	----
	1	ASCP	24 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
	2	BHNY	21 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
	3	CR	32 / Masculino	Destro	Pós-graduação	----
	4	CFK	24 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
	5	JEVN	20 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
	6	FCST	22 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
	7	JCCM	24 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
	8	JCC	24 / Feminino	Destra	Superior Completo	----
	9	LBS	21 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
	10	MF	21 / Feminino	Destra	Superior Incompleto	----
	11	TWL	24 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	----
	12	TMN	26 / Feminino	Destra	Superior Completo	----
	Média (1 ao 12)		23,9 ± 3,3 (8 Femininos)			
Pacientes	13	↑ FFMJ	60 / Masculino	Destro	Superior Completo	Esquerda
	14	RPSL	20 / Masculino	Destro	Superior Incompleto	Esquerda
	15	SAS	41 / Masculino	Canhoto	Fundamental Incompleto	Esquerda
	16	SMC	38 / Feminino	Destra	Médio Incompleto	Esquerda
	17	JFS	49 / Feminino	Destra	Médio Completo	Esquerda
	18	RSM	31 / Feminino	Destra	Médio Incompleto	Direita
	19	RNO	34 / Feminino	Ambidestra	Fundamental Incompleto	Esquerda
	Média (13 ao 19)		39,0 ± 12,7 (4 Femininos)			

* Teste de Edinburgh (<http://www.brainmapping.org/shared/Edinburgh.php>)

△ Descartado por apresentar deformações nas imagens funcionais, decorrentes de problemas no módulo de gradientes

↓ Descartado por apresentar movimentação superior que 2mm nos estudos funcionais

↑ Paciente incluído, mesmo não atendendo os critérios de inclusão por idade

4.2 – ROI

A normalização para o espaço Talairach ajusta os diferentes tamanhos de cérebros para uma mesma referência, mas não alinha estruturas, como giros e sulcos, e apenas as deforma para um mesmo tamanho. Estruturas corticais são as mais afetadas por tais transformações e as mesiais, como o hipocampo, menos. Apesar disso, as diferenças de tamanho e alinhamento existentes entre sujeitos geram discordância entre suas coordenadas reais e as correspondentes no atlas Talairach.

Desse modo, obtivemos os volumes das ROI de cada sujeito assintomático para avaliar as diferenças entre as estruturas no espaço nativo (do próprio indivíduo) e no espaço Talairach (figura 31), tanto no hemisfério esquerdo (cinza escuro), como no direito (cinza claro). Para o espaço nativo obteve-se uma média de 8.230 ± 1.195 voxels à esquerda e 7.961 ± 1.294 voxels à direita. No espaço Talairach a média entre os sujeitos foi de 8.185 ± 855 voxels à esquerda e 8.043 ± 857 voxels à direita. Comparando os dois espaços, obtemos a diferença das médias entre o lado esquerdo e direito de 3,0% para o espaço nativo e 1,7% para o espaço Talairach. Além disso, o desvio padrão para o hipocampo no espaço nativo apresenta maior variância entre as segmentações.

Figura 31 – Segmentação manual do complexo amígdala-hipocampo. A diferença entre as médias entre o lado esquerdo (cinza escuro) e direito (cinza claro) é de 3,0% no espaço nativo e de 1,7% no espaço normalizado. A variância e a diferença entre as médias para a segmentação no espaço nativo (AC-PC) são maiores que para a segmentação realizada no espaço Talairach.

Além da segmentação manual, o volume da ROI pode ser avaliado por meio da identificação das coordenadas dos voxels significativos no atlas Talairach. Verificou-se a simetria da ROI contida no atlas, pois, caso houvesse ocupação total de ambas as ROI, haveria uma lateralização decorrente da diferença entre elas e não da diferença de ativação. Para comparar com os resultados da segmentação, obtemos a quantidade de voxels correspondente ao hipocampo e amígdala no atlas, somando-os para comparar com a ROI gerada da interseção do conjunto de dados segmentados (figura 32). A quantidade de voxels

correspondente ao hipocampo no atlas é de 891 voxels à esquerda e 782 à direita. A amígdala possui 976 voxels tanto à esquerda quanto à direita. A soma dessas duas estruturas abrange 1867 voxel à esquerda e 1758 voxels à direita, contra 1879 voxels à esquerda e 2275 voxels à direita, para a ROI gerada da interseção. As diferenças entre as ROI definidas pelo atlas Talairach foram de 12,0% para o hipocampo, 0,0% para a amígdala e 5,8% para o somatório do hipocampo e amígdala. Para as ROI obtidas da intersecção das segmentações a diferença foi de 21%.

Figura 32 – Diferença entre ROI no espaço Talairach. Quantificação da quantidade de coordenadas correspondente a uma determinada estrutura. A direita, em destaque, está a quantidade de voxels obtidos com a interseção de todas as segmentações para comparação com as do Talairach.

Com os resultados obtidos, gerou-se uma ROI a partir da intersecção dos pontos das segmentações, ou seja, os pontos que não são recorrentes em todas elas foram descartados. Posteriormente, a quantidade de voxels entre as ROI dos hemisférios foi igualada por meio de sua ROI espelho. Como resultado dessa união, gerou-se uma ROI que representa, simetricamente, o complexo amígdala-hipocampo, denominada de “inteira”. Da subdivisão desta ROI, outras três foram geradas, abrangendo a porção mais anterior, central e posterior. Desse modo, obtivemos 4 ROI para determinação do IL: a primeira corresponde ao complexo amígdala-hipocampo e as outras 3, às sub-divisões desta primeira (figura 33).

Figura 33 – ROI para determinação dos índices de lateralização. Na figura da esquerda está representada, em vermelho, a ROI que corresponde ao complexo amígdala-hipocampo obtido da interseção dos dados segmentados mais a união de sua correspondente espelho. Na figura da direita está representada a divisão da ROI em anterior (amarelo), central (vermelho) e posterior (azul).

4.3 – ANÁLISE DOS VOLUNTÁRIOS

Análise de Grupo

Em um primeiro momento, a análise foi realizada sobre o grupo controle, nas duas condições (codificação e recuperação), utilizando o GLM para efeitos aleatórios. É importante lembrar que a análise de grupo, quando feita pelo GLM, busca por diferenças estatísticas da amostra como um todo, ou seja, sobre toda a população estudada.

Tanto a tarefa de codificação como a de recuperação promovem uma robusta modulação da região mesial, conforme é visualizado nas figuras 34 (a) e (b). As imagens mostradas foram selecionadas para indicar voxels significativos em regiões próximas ao hipocampo ($p < 0,0001$, com correção de Bonferroni).

Utilizando os dados, tanto para a tarefa de codificação como para recuperação, avaliamos a resposta hemodinâmica do grupo, na região de interesse. Através da média do sinal dos voxels mais significativos, obtivemos as duas curvas, correspondente às duas tarefas, que estão apresentadas na figura 34 (c). A diferença de contraste entre os períodos foi em torno de 0,5% e a tarefa de recuperação apresenta um incremento de sinal levemente maior que na tarefa de codificação. Esse dado mostra que o protocolo utilizado é seletivo para avaliações da região hipocampal em tarefas de memória episódica, pelo menos no que diz respeito à análise de grupo.

Figura 34 – Análise de grupo dos 12 voluntários. Em a) e b) temos os dados para as tarefas de codificação e recuperação, mostrando dois cortes distintos do mesmo mapa estatístico para cada uma das duas situações. Em ambos os casos há robusta ativação na região límbica, em especial o hipocampo e estruturas adjacentes. Com base nos voxels mais significativos, os gráficos do sinal BOLD foram feitos para as duas tarefas (c). O primeiro condiz com os voxels mais significativos do hemisfério direito e o segundo do hemisfério esquerdo, considerando os dados da codificação mais os da recuperação.

A partir desse dado, e com o auxílio da ferramenta *VOI Analyser*, obteve-se a quantidade de voxels significativos, e sua localização espacial, de onde foram gerados os índices de lateralização, pelos dois métodos, para algumas estruturas de interesse (tabela 4.2). Pela tabela é possível notar que o hipocampo, nos mapas de grupo, apresentou lateralização à esquerda na tarefa de codificação, com $IL(ROI)$ igual a 22,5% e $IL'(ROI)$ igual

a 14,3%. Interessantemente, na tarefa de recuperação ocorreu uma inversão desses valores, com -3,3% para o primeiro método e -14,4% para o corrigido. Avaliando outras importantes estruturas, como a amígdala, parahipocampo e giro fusiforme, que possuem projeções para o hipocampo e participam dos processos de memória, encontra-se uma sutil lateralização do parahipocampo à direita, e do giro fusiforme à esquerda. Para a amígdala, na codificação, não há lateralização e na recuperação há lateralização à direita.

Tabela 4.2 – Índices de lateralização com base no atlas Talairach, para as duas tarefas

	Hipocampo		Amígdala		Parahipocampo		Giro Fusiforme	
	IL(%)	IL'(%)	IL(%)	IL'(%)	IL(%)	IL'(%)	IL(%)	IL'(%)
Codificação	22,5	14,3	0,0	0,0	-7,8	-8,2	5,2	4,2
Recuperação	-3,3	-14,4	-100,0	-27,6	-13,1	-16,0	1,4	1,5

Fizemos uma comparação entre os índices de lateralização obtidos pelo atlas Talairach com os da segmentação manual, tanto na ROI inteira como em suas subdivisões (anterior, central e posterior), para cada tarefa. Fixamos o limiar de $q(\text{FDR}) < 0,05$, e obtivemos os voxels significativos para cada uma das quatro ROI. Esses valores foram quantificados, utilizando o programa *VOI Analyser*, e, a partir dessas quantidades, os índices foram calculados. Utilizando esses mesmos voxels, identificamos, no atlas Talairach, qual desses corresponde ao hipocampo e amígdala (figura 35). A barra em cinza-escuro corresponde ao IL(ROI) e em cinza claro ao IL'(ROI). Os gráficos permitem avaliar as diferenças entre utilizar o atlas e as ROI segmentadas. Esses mesmos resultados estão na tabela 4.3 que permitem evidenciar que a tarefa de recuperação apresenta maior lateralização à direita que a tarefa de codificação.

Comparação dos índices de lateralização - Codificação

Comparação dos índices de lateralização - Recuperação

Figura 35 - Comparação dos índices de lateralização do estudo em grupo para $q(\text{FDR}) < 0,05$. Comparação entre as duas tarefas, com o cálculo com o índice usual e com o índice corrigido. Realizada para a ROI segmentada e para o atlas Talairach, realizando o mesmo procedimento para a porção anterior, central e posterior da ROI segmentada.

Tabela 4.3 - Índices de lateralização, IL e IL', para as 4 ROI nas tarefas de codificação do estudo em grupo para $q(\text{FDR}) < 0,05$.

	ROI inteira		ROI anterior		ROI central		ROI posterior	
	Seg.	Atlas	Seg.	Atlas	Seg.	Atlas	Seg.	Atlas
Codificação								
IL (%)	-9,1	0,6	-65,5	-100	-6,6	-1,6	-3,3	16,4
IL' (%)	-12,0	0,1	-10,1	-1,3	-12,0	-0,5	-6,3	3,6
Recuperação								
IL (%)	-15,5	-27,7	-87,3	-96,7	-10,3	-6,7	-0,9	16,4
IL' (%)	-23,5	-6,5	-50,4	-14,7	-18,6	-1,9	-1,8	3,6

Seg. = ROI obtida da segmentação manual | Atlas = ROI do atlas Talairach

Análise Individual

Embora a análise de grupo seja importante para avaliar a robustez do protocolo, no caso específico deste trabalho ela não é suficiente. Lembremos que pretendemos implementar esse protocolo em uma rotina clínica. Portanto, a fim de demonstrar a eficiência do método, e suas particularidades, os dados devem ser avaliados individualmente, levando em consideração a variabilidade individual.

Dessa forma, seguindo a análise de grupo, estendemos o mesmo procedimento anterior para os dados individuais. Como se esperava, quando esta análise foi comparada aos resultados do estudo em grupo, verificou-se grande variabilidade entre os sujeitos (figura 36 e 37), tanto na tendência de lateralização como da quantidade de voxels significativos.

Em uma primeira análise, calculamos o IL convencional, utilizando todos os voxels do hemisfério esquerdo e direito. Esse procedimento é utilizado rotineiramente na clínica e traz uma primeira avaliação do sistema modulado por um protocolo de memória. O gráfico da figura 36 apresenta o IL para a tarefa de codificação (em cinza) e de recuperação (em preto). Esses valores foram calculados através de todos os voxels significativos para um limiar de $q(\text{FDR}) < 0,05$, filtrados pelo *VOI Analyser* e considerados somente as coordenadas identificadas como giros e sulcos do córtex. Para a tarefa de codificação 50% apresentaram lateralização à direita e os outros 50% à esquerda. Já na tarefa de recuperação, 92% apresentaram lateralização à direita e 8% nula.

No entanto, esses resultados consideram voxels de outras regiões que não do hipocampo, e uma avaliação mais detalhada dessa estrutura permite extrair dados relativos a uma região diretamente envolvida nos processos de memória. Uma alternativa é a determinação do índice de lateralização sob uma ROI, desconsiderando outras regiões.

Figura 36 – Índice de lateralização (equação 4) para os voxels dos hemisférios. A tarefa de codificação está em cinza e a de recuperação em preto.

Com base nessa observação, e do fato que a quantidade de voxels também influencia o IL, que por sua vez é dependente do limiar estatístico, avaliamos, primeiramente, a dependência do IL com o $q(\text{FDR})$, por meio da variação dos valores deste último ($q(\text{FDR}) < 0,05; 0,04; 0,03; 0,02; 0,01; 0,005$ e $0,001$), em que são mostradas as médias e desvios padrões dos valores obtidos para cada $q(\text{FDR})$, utilizando a ROI inteira. Na figura 37, o gráfico superior corresponde aos resultados de IL e o gráfico inferior aos dados de IL'. Em cinza são mostrados os resultados da tarefa de codificação, e, em preto, a de recuperação.

Fica evidente pela figura 37 a influência do limiar estatístico na determinação do IL, sendo observados desvios padrão da mesma ordem de grandeza das médias. Porém, o IL' demonstra ser menos influenciado pelos valores do limiar estatístico, fato este demonstrado pelos valores reduzidos dos desvios padrão do gráfico para IL', comparado com o IL. Comparando os resultados dos índices calculados pelos voxels de ambos hemisférios (figura 36) com os resultados dos índices calculados pelos voxels contidos na ROI inteira (figura 37), fica evidente a diferença dos resultados.

Figura 37 – Variação do índice de lateralização com a variação do limiar estatístico. Realizada a variação do limiar para os valores de $q(\text{FDR}) < 0,05; 0,04; 0,03; 0,02; 0,01; 0,005$ e $0,001$ e calculado tanto para índice usual como para o corrigido, nas duas tarefas.

Para evidenciar a diferença dos desvios padrão obtido em ambos os métodos, obtivemos os gráficos da figura 38, em que o desvio padrão do IL está em cinza e do IL' em preto. Apenas para o voluntário CFK o desvio padrão na tarefa de recuperação foi ligeiramente maior para o IL, sendo de 6,8% o desvio padrão de IL e 8,7% o desvio padrão para IL'. Em todos os outros casos o desvio padrão do IL foi maior do que para o IL', evidenciando que o método aqui proposto possui baixa dependência com o limiar estatístico.

Figura 38 – Comparação dos desvios padrão nas duas tarefas. Cinza está o desvio padrão para o IL e em preto o desvio padrão para o IL'. É notável a diferença dos métodos com relação a estabilidade em função do limiar estatístico.

Tendo em vista a maior estabilidade do IL', para diferentes $q(\text{FDR})$, foi definido um limiar estatístico de $q(\text{FDR}) < 0,05$ e calculado apenas o IL' para a tarefa de codificação e recuperação, utilizando as 4 ROI obtidas da segmentação nas análises de lateralização. A figura 39 apresenta três gráficos: o primeiro corresponde aos IL' calculados para a tarefa de codificação (barra cinza) e recuperação (barra preta) utilizando a ROI inteira. Dos 12 sujeitos, 5 apresentaram lateralização à direita, com maior grau na tarefa de recuperação em 4 deles; 2 apresentaram lateralização à esquerda, com menor grau na tarefa de recuperação; 3 com inversão de lateralização, com lateralização à esquerda na tarefa de codificação e

lateralização à direita para a de recuperação; 1 com lateralização à direita na tarefa de codificação e lateralização nula para a de recuperação; 1 com lateralização nula nas duas tarefas.

Os dois últimos gráficos da figura 39 correspondem aos IL' para as três regiões (anterior, central e posterior) nas duas tarefas (codificação e recuperação). Analisando os dois gráficos simultaneamente, observando o comportamento do conjunto formado pelas 3 regiões, nota-se que há uma tendência de lateralização à direita na tarefa de recuperação com aumento do índice quando já lateralizado à direita ou redução do índice quando lateralizado à esquerda, em 9 dos 12 sujeitos. Além disso, os gráficos permitem observar que 22,2% e 41,7% dos índices calculados possuem valores maiores que $\pm 20\%$ para a tarefa de codificação e recuperação, respectivamente, considerando as 3 ROI (anterior, central e posterior). Destes, 22,2% para a tarefa de codificação, 12,5%, 12,5% e 75,0% correspondem a ROI anterior, central e posterior, respectivamente. Dos 41,7% para a tarefa de recuperação, 40,0%, 33,3% e 26,7% correspondem a ROI anterior, central e posterior, respectivamente. Com base nesses valores, nota-se que a tarefa de recuperação apresenta maior quantidade de índices superiores a $\pm 20\%$ que a tarefa de codificação. Além disso, ainda nessas condições, houve uma participação maior da região anterior para a execução da tarefa de recuperação ao passo que na tarefa de codificação a predominância dos índices é da região posterior, permitindo uma melhor avaliação dos IL' encontrados na ROI inteira.

Figura 39 – IL' para os dados de $q(\text{FDR})$ 0,05, nas duas tarefas, para os 12 voluntários utilizando as ROI segmentadas. Primeiro gráfico corresponde a ROI de toda região e os dois seguintes as ROI da sub-divisão da primeira em anterior, central e posterior, para valores obtidos com limiar $q(\text{FDR})$ 0,05 nas duas tarefas.

Em seguida, buscamos comparar o IL' com a porcentagem de voxels responsáveis para sua determinação, de modo a considerar a influência da taxa de ocupação da ROI na determinação do IL'. Em outras palavras, uma ROI com uma taxa de ocupação baixa é pouco representativa. Mas, devemos lembrar que o IL' leva em conta essa variável, enquanto o IL, não. Os dois gráficos da figura 40 mostram a porcentagem de ocupação das ROI, nas duas tarefas. Em investigação detalhada dos gráficos das figuras 37, 39 e 40, algumas observações interessantes podem ser feitas. Em primeiro lugar, vemos que, de fato, o IL' leva em consideração a representatividade da ROI. Primeiramente, nota-se que uma baixa ocupação de voxels na ROI implica em um baixo IL'. Estipulando um limite de 20% de ocupação, observa-se que para a tarefa de codificação 52,1% das ROI estão acima desse limite contra 75,0% na tarefa de recuperação. Para o limite de 50% de ocupação, 27,1% dos índices estão acima desse limiar na tarefa de codificação e 45,8% na tarefa de recuperação.

Para reforçar a influência da porcentagem de ocupação para a determinação do IL, vejamos, por exemplo, o caso do voluntário ASCP. Seus valores de IL são bastante altos (figura 37 superior) e levariam a crer em uma alta assimetria hemisférica. Por outro lado, nota-se, pela figura 40, que a taxa de ocupação da ROI é bastante baixa (0.0001%). Desse modo, quando o IL' é calculado, esse valor passa a ser praticamente nulo, reflexo da influência da porcentagem de ocupação na determinação do índice. Por outro lado, uma maior ocupação permite interpretar com mais segurança uma indicação de assimetria, fato que ocorre com a voluntária JCC, por exemplo. Esta voluntária apresenta ocupação superior a 50% em todos os casos, com exceção da ROI anterior na tarefa de codificação (25,4%). Seus IL' apresentam valores superiores a 20% nas duas tarefas (figura 39 superior) e os IL' para as ROI anterior, central e posterior expressam a porção responsável para a formação do IL' de toda região. Uma terceira situação ocorre para o voluntário TWL, que possui, para a tarefa de recuperação, uma taxa de ocupação superior a 50% nas quatro ROI utilizadas e IL' quase

nulo nas quatro regiões. Esse caso torna claro o cuidado na interpretação de bilateralidade, que deve ocorrer somente para situações em que existe ocupação das ROI.

Figura 40 – Porcentagem de voxels significativo, para $q(\text{FDR}) < 0,05$, em cada uma das regiões analisadas, para os 12 voluntários nas duas tarefas.

Para complementar esses resultados, a tabela 4.4 fornece a análise pelo método GLM aplicado na ROI. Neste procedimento, o GLM permite avaliar a significância estatística sobre a ROI, e não mais voxel a voxel, como até agora apresentado. Na tabela, apresentamos os valores de “p” obtidos para as 4 ROI nas duas tarefas. Cada ROI abrange os dois hemisférios e adotou-se a tolerância de 5% para definir se o sinal presente nesta ROI reflete o comportamento de variação de sinal esperado.

Para a ROI inteira, 58% dos sujeitos apresentam resultados significativos para a tarefa de codificação e 92% dos sujeitos para a tarefa de recuperação. Para as ROI das sub-regiões, obteve-se resultados significativos em 17% dos sujeitos para a tarefa de codificação e 58%

para a de recuperação, na ROI anterior. Para a ROI central, 58% dos sujeitos apresentaram resultados significativos para a codificação e 83% para a recuperação. Na ROI posterior, foram 75% para a tarefa de codificação e 92% para a recuperação que apresentaram resultados significativos. Esses dados reforçam que a tarefa de recuperação acessa mais eficientemente a região de interesse, que corresponde à porção anterior do complexo amígdala-hipocampo, e permite avaliações mais robustas de lateralização de memória. Fato este avaliado pelo método ROI-GLM em um estudo de grupo, com contraste de Codificação < Recuperação, em que os valores foram significativos para a ROI inteira, anterior e posterior, mas não para a central.

Tabela 4.4 – Análise ROI-GLM para os voluntários. Valores estatísticos do GLM aplicado na média dos voxels que compõem a ROI. Em negrito estão os que são significativos ($p < 0,05$)

Sujeito	ROI Inteira		ROI					
	Cod.	Rec.	Anterior		Central		Posterior	
	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.
p <								
1 ASCP	0,8765	0,6938	0,3480	0,4028	0,5619	0,3098	0,8261	0,3176
2 BHNY	0,0933	0,0000	0,5945	0,0003	0,0666	0,0001	0,2514	0,0001
3 CR	0,0047	0,0000	0,3033	0,0011	0,0000	0,0001	0,0004	0,0000
4 CFK	0,0000	0,0000	0,0000	0,0082	0,0000	0,0003	0,0000	0,0000
5 JEVN	0,0001	0,0334	0,7395	0,2065	0,0001	0,0136	0,0000	0,0000
6 FCST	0,0282	0,0001	0,9026	0,1175	0,0114	0,0001	0,0004	0,0200
7 JCCM	0,2417	0,0002	0,7425	0,0893	0,0870	0,0004	0,0086	0,0000
8 JCC	0,0040	0,0000	0,1056	0,0009	0,0003	0,0000	0,0225	0,0001
9 LBS	0,0060	0,0321	0,3878	0,1021	0,0001	0,0249	0,0000	0,0000
10 MF	0,0092	0,0001	0,0173	0,0008	0,0051	0,0001	0,0464	0,0066
11 TWL	0,1283	0,0000	0,1861	0,0011	0,0645	0,0000	0,3841	0,0000
12 TMN	0,4274	0,0194	0,6694	0,0235	0,4724	0,1470	0,0114	0,0036
Cod.<Rec.	0,0083		0,0068		0,3410		0,0110	

Cod. = Codificação | Rec. = Recuperação

4.4 – ANÁLISE DOS PACIENTES

Os dados dos pacientes foram analisados individualmente, da mesma maneira que para os voluntários, utilizando as mesmas ROI (inteira, anterior, central e posterior) e tolerância estatística de $q(\text{FDR}) < 0,05$. Pelos resultados anteriores, obtidos nos voluntários, os cálculos dos IL se limitaram ao método corrigido, IL'.

Inicialmente, com base nos voxels significativos, obtidos pelo GLM em cada uma das ROI, obteve-se o IL' baseado no atlas Talairach. Posteriormente, o IL' foi calculado utilizando a ROI inteira. Os gráficos da figura 41 apresentam os dois casos, o IL' pelo atlas, calculado através da soma dos voxels identificados como hipocampo e amígdala, e o IL' através da ROI inteira, nas tarefas de codificação (barras em cinza) e de recuperação (barras em preto). Nota-se que todos os índices são inferiores a $\pm 20\%$ para o cálculo pelo atlas e apenas 2 dos 14 índices maiores que esse limiar estipulado.

Os gráficos da figura 42 apresentam os índices corrigidos para cada uma das tarefas em cada uma das ROI. Para a tarefa de codificação 23,8% dos índices são maiores que $\pm 20\%$, já para a tarefa de recuperação 28,6% são maiores. Destes 23,8%, 0%, 40 e 60% correspondem a ROI anterior, central e posterior para a tarefa de codificação. Dos 28,6%, 33,3%, 50,0% e 16,7% correspondem à ROI anterior, central e posterior para a tarefa de recuperação. Assim como o observado para o grupo de voluntários, existe uma maior participação da região anterior na tarefa de recuperação. Além disso, o grupo de pacientes apresenta quase que a mesma quantidade de índices acima de $\pm 20\%$, ao passo que para o grupo de voluntários o aumento foi maior, de 22,2% para 41,7% entre as tarefas.

IL' para o atlas Talairach (pacientes)

IL' para região segmentada (pacientes)

Figura 41 – IL' para os 7 pacientes através da análise pelo atlas Talairach para o hipocampo + amígdala com um $q(\text{FDR})$ 0,05 para as duas tarefas.

Figura 42 – IL' para os dados de $q(\text{FDR}) 0,05$, nas duas tarefas, para os 7 pacientes utilizando as ROI segmentadas, nas duas tarefas. Primeiro gráfico corresponde a ROI de toda região e os dois seguintes as ROI da sub-divisão da primeira em anterior, central e posterior, para valores obtidos com limiar $q(\text{FDR}) 0,05$ nas duas tarefas.

Avaliando a ocupação das ROI para a composição do índice através dos gráficos da figura 43, para as duas condições, obtém-se que 42,9% das ROI estão acima do limiar de 20% de ocupação, estipulado para fins de comparação. Para um limiar de 50% de ocupação, apenas 3,6% estão acima na tarefa de codificação e 21,4% na tarefa de recuperação.

Figura 43 – Porcentagem de voxels significativos em cada uma das regiões analisadas, para os 7 pacientes.

A influência da porcentagem de ocupação da ROI também é notada no grupo de pacientes. O paciente SAS, por exemplo, apresenta alta taxa de ocupação na ROI posterior (figura 43) e índices baixos nessa ROI (figura 42 e 43), reforçando a interpretação de bilateralidade. Complementando esses dados, temos os valores estatísticos obtidos pelo método ROI-GLM, realizado sobre as 4 ROI, e expressos na tabela 4.5. Para a ROI inteira, 1 de 7 foi significativo para a tarefa de codificação e 3 de 7 para a tarefa de recuperação. Para a ROI da porção anterior, 1 de 7 mostrou-se significativo para a codificação ao passo que 2 de 7 para a tarefa de recuperação. Para a ROI da porção central, 1 de 7 foi significativo na codificação e 3 de 7 na tarefa de recuperação. Para a ROI da porção posterior, 4 de 7 foram significativos para a tarefa de codificação e 6 de 7, para de recuperação. Como o ROI-GLM avalia a média do sinal dos voxels contidos na ROI, os dados da tabela 4.5 indicam que a região posterior do complexo amígdala-hipocampo é mais consistente ao protocolo de lateralização de memória, principalmente para a tarefa de recuperação.

Tabela 4.5 – Análise ROI-GLM para os pacientes. Valores estatísticos do GLM aplicado na média dos voxels que compõem a ROI. Em negrito estão os que são significativos ($p < 0,05$)

Sujeito	ROI Inteira		ROI					
	Cod.	Rec.	Anterior		Central		Posterior	
	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.	Cod.	Rec.
p <								
13 FFMJ	0,8751	0,9297	0,0876	0,0746	0,2844	0,1961	0,0478	0,0274
14 RPSL	0,1220	0,0002	0,3754	0,0090	0,0680	0,0010	0,0000	0,0236
15 SAS	0,3863	0,0001	0,0707	0,7278	0,0811	0,0000	0,0005	0,0000
16 SMC	0,2378	0,2468	0,0172	0,6094	0,2713	0,8908	0,3472	0,0052
17 JFS	0,0668	0,2588	0,9113	0,0008	0,0005	0,0002	0,0355	0,0002
18 RSM	0,0289	0,0041	0,8902	0,3067	0,9512	0,1216	0,0000	0,0000
19 RNO	0,9221	0,6190	0,3921	0,9837	0,6209	0,6267	0,6049	0,4907

Cod. = Codificação | Rec. = Recuperação

Com a nova proposta do índice de lateralização corrigido, torna-se interessante não apenas avaliar a lateralização de memória pelo IL, mas também pela informação de taxa de ocupação. Dessa maneira, apresentar o índice e a porcentagem de ocupação, entre parênteses, é uma maneira de auxiliar nas interpretações de resultados, como bilateralidade.

A tabela 4.6 confronta os dados clínicos dos pacientes com os índices de lateralização calculados pelo método proposto, modelando uma eventual avaliação pré-cirúrgica. Muitos dos pacientes apresentaram baixa taxa de ocupação da ROI, e em algumas situações uma correta interpretação acarreta em uma boa avaliação pré-cirúrgica, como, por exemplo, é o caso da paciente 18. Essa paciente apresenta lateralização de memória à direita nas duas tarefas, com uma taxa de ocupação média de 37%. Seu quadro clínico é de esclerose mesial temporal à direita. A evidência de dominância de memória no mesmo hemisfério que o foco epileptogênico implica em cautela na intervenção cirúrgica no intuito de preservar suas funções cognitivas. O mesmo ocorre para o paciente 15, que apresenta lateralização à esquerda com ocupação de 56,9% e esclerose mesial temporal também à esquerda, implicando e maior risco de déficit cognitivo. Esses exemplos indicam a importância de desenvolver métodos quantitativos para aplicabilidade clínica nesses pacientes.

Tabela 4.6 – Avaliação de Lateralização de Memória através do IL' para a ROI inteira

	Nº	Inicial	IL' (ocupação) %		EMT	Lateralidade
			Codificação	Recuperação		
Pacientes	13	FFMJ	-0,9 (20,7)	-1,3 (3,2)	Esquerda	Destro
	14	RPSL	-18,2 (10,8)	-9,1 (23,5)	Esquerda	Destro
	15	SAS	-24,1 (17,3)	15,2 (56,9)	Esquerda	Canhoto
	16	SMC	-4,8 (2,3)	0,0 (0,0)	Esquerda	Destra
	17	JFS	5,2 (19,3)	-22,1 (49,9)	Esquerda	Destra
	18	RSM	-2,3 (36,3)	-13,5 (38,0)	Direita	Destra
	19	RNO	0,4 (0,6)	0,1 (0,1)	Esquerda	Ambidestra

4.5 – TEMPO DE RESPOSTA E ERROS COMETIDOS

À medida que as tarefas eram realizadas, os participantes do estudo respondiam se a imagem apresentada correspondia a um ambiente interno (Codificação), ou se a imagem correspondia a uma já vista no estudo anterior (Recuperação). Devido à implementação do dispositivo, alguns ajustes foram realizados ao longo do estudo, acarretando em perda de alguns dados. Desse modo, 5 dos 12 voluntários tiveram os tempos de resposta medidos corretamente, e os valores foram de 1240 ± 312 segundos, para a codificação, e 1365 ± 495 , para a recuperação. No caso dos pacientes, 4 dos 7 tiveram os tempos de resposta medidos corretamente, e seu valor médio, com respectivo desvio padrão, foi de 1419 ± 282 segundos, e 1589 ± 243 segundos, para a tarefa de codificação e recuperação, respectivamente.

Em média, os pacientes apresentaram maior tempo de resposta quando comparado aos voluntários, mas um desempenho mais homogêneo entre os indivíduos, como pode ser verificado pelos valores dos desvios padrão. Além disso, para os dois grupos, o tempo de resposta médio para a tarefa de recuperação é maior que para a tarefa de codificação.

Outro dado que reforça essa diferença de desempenho é a quantidade de acertos dos dois grupos. Para os voluntários, os acertos foram de $(97,2 \pm 0,9)\%$ e $(86,2 \pm 0,8)\%$, nas tarefas de codificação e recuperação, respectivamente. Para os pacientes, os acertos foram de $(95,5 \pm 1,0)\%$ e $(75,5 \pm 0,8)\%$, nas duas tarefas, de codificação e recuperação, respectivamente.

Nota-se que, para os dois grupos, na média, a quantidade de acertos na tarefa de recuperação é menor que na tarefa de codificação (figura 44). Quando verificada a quantidade de erros cometidos por cada sujeito, observa-se que o grupo de pacientes erra mais, quando comparado com o grupo de voluntários, com exceção do paciente RPSL. Interessantemente, esse paciente possui características muito parecidas com o grupo de voluntários, tanto em escolaridade como em idade.

Figura 44 – Tempos de resposta, porcentagem de acertos e quantidade e erros, para as duas tarefas, codificação (em preto) e recuperação (em cinza). Os dados são para o grupo de voluntários e pacientes.

4.6 – ANÁLISE COM BASE NAS RESPOSTAS INDIVIDUAIS

Todos os sujeitos foram instruídos a observar as figuras e responder conforme a solicitação de cada tarefa. Conforme visto, uma primeira utilização desse dado se deu para avaliar o desempenho de cada grupo. Outra alternativa, contudo, para a utilização dessas respostas é levá-las em consideração na hora de gerar o modelo (preditor) para a análise pelo GLM. Nesse caso, o preditor não mais corresponde a um desenho em bloco, em que a resposta hemodinâmica é considerada constante ao longo de toda a tarefa. Nessa nova estratégia, utilizou-se os momentos em que respostas de cada sujeito foram dadas, para montar o modelo.

As figuras 45, 46 e 47 demonstram as diferenças obtidas por essa estratégia de análise. Para comparação dos dois preditores, fixou-se o limiar estatístico em $p < 0,000003$. As figuras 45 e 46 correspondem a dois voluntários distintos, um na tarefa codificação e outro na recuperação, e a figura 47 a um paciente na tarefa de codificação. Nota-se a diferença de detecção de sinal de um caso para outro, e demonstra que áreas estatisticamente significativas, detectadas quando um preditor em bloco, comum a todos os voluntários, foi utilizado em comparação ao preditor individual, com base nas respostas.

Figura 45 – Mapas estatísticos da voluntária CFK na tarefa de codificação. (a) Mapa para o preditor em bloco. (b) Mapa para o preditor com base nas respostas. (c) Preditor em bloco. (d) Preditor das respostas. Imagens correspondente a mesma coordenada espacial, indicada pelo cruzamento branco.

Figura 46 – Mapas estatísticos da voluntária JCCM na tarefa de codificação. (a) Mapa para o preditor em bloco. (b) Mapa para o preditor com base nas respostas. (c) Preditor em bloco. (d) Preditor das respostas. Imagens correspondente a mesma coordenada espacial, indicada pelo cruzamento branco.

Figura 47 – Mapas estatísticos da paciente RNO na tarefa de codificação. (a) Mapa para o preditor em bloco. (b) Mapa para o preditor com base nas respostas. (c) Preditor em bloco. (d) Preditor das respostas. Imagens correspondente a mesma coordenada espacial, indicada pelo cruzamento branco.

Para avaliar se os preditores com base nas respostas permitem extrair dados para determinação do IL, quantificamos os voxels ativos para o limiar estatístico de $q(\text{FDR}) < 0,05$, utilizando as 4 ROI: inteira, anterior, central e posterior. Para determinar a quantidade de voxels em cada ROI utilizamos o programa *VOI Analyser*.

Análise dos Voluntários

Para a ROI inteira, a comparação do cálculo do IL, tendo como base os dois preditores (bloco e individual), fornece resultados equivalentes. Contudo, os valores dos índices sofrem um discreto aumento quando o preditor individual é utilizado.

Figura 48 – Comparação dos índices de lateralização utilizando a ROI inteira para 5 voluntários na tarefa de codificação e recuperação para dois preditores distintos: em bloco e individual.

Determinamos, ainda, os IL' obtidos para as ROI anterior, central e posterior, para as duas tarefas (codificação e recuperação) e os dois preditores (em bloco e individual) (figura 49 e 50). Comparando os índices para os dois preditores, 86,7% dos índices para o preditor individual estão coerentes com o preditor em bloco, refletindo a mesma interpretação de resultados.

Figura 49 – Índices de lateralização para a tarefa de codificação utilizando os dois preditores (em bloco e individual) em 5 voluntários.

Realizando a mesma observação para a tarefa de recuperação, notamos diferenças entre os índices calculados, com inversão em um dos casos e diferença entre o grau de lateralização calculado, aumentando ou diminuindo seu valor absoluto (figura 50), principalmente na ROI posterior.

Figura 50 – Índices de lateralização para a tarefa de recuperação utilizando os dois preditores (em bloco e individual) em 5 voluntários.

Para fazer uma avaliação mais precisa do motivo de algumas mudanças notadas, buscamos pelos valores de ocupação das ROI, para as análises realizadas com os dois preditores (figura 51). Uma diferença pode ser observada, no que diz respeito à tarefa de recuperação, para o preditor individual. Este parece ser menos específico para acessar o voxel da porção anterior do hipocampo na tarefa de recuperação. É notável a redução da porcentagem de voxels ativos na ROI anterior para a tarefa de recuperação, ocorrendo uma redução em todos os cinco casos. Para as demais ROI a porcentagem de voxels são equivalentes.

Figura 51 – Porcentagem de voxels significativos em cada ROI para 5 voluntários nas duas tarefas, codificação e recuperação, utilizando dois preditores distintos: em bloco e individual. Os dados são equivalentes, com exceção da ROI anterior na tarefa de recuperação.

Análise dos Pacientes

O mesmo procedimento de análise foi realizado para os pacientes, fixando o limiar estatístico em $q(\text{FDR}) < 0,05$ e obtendo o IL' para as 4 ROI: inteira, anterior, central e posterior.

As figuras 52 e 53 trazem uma comparação entre os dois preditores, em bloco e individual, utilizados para o cálculo as quatro ROI. Assim como ocorrido para os voluntários, observa-se coerência dos índices entre os dois preditores, com ligeiras diferenças no grau de lateralização.

Figura 52 - Comparação dos índices de lateralização utilizando a ROI inteira para 4 pacientes na tarefa de codificação e recuperação para dois preditores distintos: em bloco e individual.

Figura 53 - Índices de lateralização para a tarefa de codificação e recuperação utilizando os dois preditores (em bloco e individual) em 4 pacientes.

Avaliando a porcentagem de ocupação das ROI, os pacientes analisados apresentam diferenças entre a porcentagem de voxels ativos em cada uma das ROI, nas duas condições. A utilização do preditor individual reduz a quantidade de voxels nas ROI, influenciando o cálculo do IL'.

Figura 54 – Porcentagem de voxels significativos em cada ROI para 4 pacientes nas duas tarefas, codificação e recuperação, utilizando dois preditores distintos: em bloco e individual. Os dados são equivalentes, com exceção da ROI anterior na tarefa de recuperação.

Discussão

- **Dispositivo**

A disponibilidade de equipamentos de avaliação comportamental compatíveis com o ambiente de ressonância, como o dispositivo desenvolvido neste trabalho, possibilita que desenhos experimentais mais complexos sejam passíveis de execução, e os protocolos criados com objetivos clínicos mais confiáveis (GABRIELI et al., 1997; KELLEY et al., 1998; ELDRIDGE et al., 2000; GOLBY et al., 2001; STARK and SQUIRE, 2001; KÖHLER et al., 2002; GREICIUS et al., 2003; RABIN et al., 2004; BINDER et al., 2005; BRANCO et al., 2006; KENNEPOHL et al., 2007; WEBER et al., 2007; SHRAGER et al., 2008; VANNEST et al., 2008). Neste projeto, os arranjos de botões confeccionados foram configurados para funcionar com o circuito de pulso único. No entanto, outros protocolos de interesse já fizeram uso do dispositivo, permitindo ao grupo de pesquisa desenvolver diversos projetos, como estudos funcionais complexos para avaliação de emoção, de percepção temporal e percepção visual.

- ***VOI Analyser***

Ferramentas computacionais como o MarsBaR, FSL-ROI e WFUPickatlas são utilizadas para gerar máscaras e ROI de estruturas de cérebros normalizados, como áreas de Brodmann, incluindo a maioria dos sulcos e giros, além de estruturas sub-corticais (WEBER et al., 2007; POLDRACK, 2007). Essas ferramentas são amplamente utilizadas por pesquisadores que processam seus dados por diversos pacotes para processamento de dados de fMRI, sendo a maioria deles destinados ao programa SPM. No entanto, usuários do *BrainVoyager™ QX* ainda não dispunham de ferramentas similares. O desenvolvimento do programa *VOI Analyser* partiu dessa necessidade e, desde sua primeira versão, mostrou-se

uma ferramenta importante, acarretando em seu aperfeiçoamento para disponibilização à comunidade científica, gratuitamente. Além de tudo, o conjunto dessas possibilidades aperfeiçoa e otimiza as análises dos dados funcionais, além de padronizar métodos de análises, sendo importante para aplicação clínica.

Para sua viabilização, gerou-se um programa executável com possibilidade de desinstalação. Ao utilizar o programa, o usuário obtém rapidamente o resumo de seu conjunto de dados, com a quantidade de ocorrências para cada estrutura e hemisfério. Além disso, ele fornece outras informações relevantes, como:

- 1) As coordenadas médias das estruturas, calculadas com base nos dados que a geraram;
- 2) Através da opção de criar um arquivo VOI, o usuário tem a possibilidade de realizar estudos em estruturas específicas, aplicando o GLM somente em uma região identificada com significativa.
- 3) O índice de lateralização de uma determinada estrutura pode ser calculado, através da quantidade voxels significativos em cada hemisfério.
- 4) A ferramenta possibilita gerar um arquivo VOI retangular com base nas coordenadas do atlas Talairach de interesse e, ser for gerada somente em um hemisfério, permite criar sua ROI simétrica;
- 5) Todos os arquivos de ROI são compatíveis com o *Brain Voyager™ QX*.

- *Dados*

A literatura é repleta de estudos avaliando a dominância de linguagem e memória em estudos de grupos de indivíduos, mas raros são os trabalhos que avaliam os dados individualmente (BINDER et al., 2005; NARAYAN et al., 2004; RABIN et al., 2004; VANNEST et al., 2008). Contudo, é evidente que para a aplicação clínica, no mapeamento pré-cirúrgico, é fundamental entender a dominância de memória e linguagem individualmente, para que as condutas sejam realizadas com base nos dados do paciente e não de uma média populacional. O uso de uma série de estudos de fMRI condiz com uma oportunidade única de examinar eventuais mudanças ocorridas após a remoção do tecido epileptogênico, dando acesso a processos de neuroplasticidade do sistema, para então estimar possíveis riscos cirúrgicos aos pacientes submetidos a esse tratamento (DETRE, 2004).

Em epilepsia, a região cerebral que tem concentrado esforços são aquelas envolvidas nos processos de consolidação e recuperação de memória, como o hipocampo e regiões adjacentes do LTM. Isso em virtude do fato de que boa parte dos pacientes com epilepsia tem focos epileptogênicos localizados nesta região (GABRIELI et al., 1997; KELLEY et al., 1998; ELDRIDGE et al., 2000; GOLBY et al., 2001; KÖHLER et al., 2002; GREICIUS et al., 2003; DETRE, 2004; RABIN et al., 2004; NARAYAN et al., 2004; BINDER et al., 2005; BRANCO et al., 2006; WEBER et al., 2007; KENNEPOHL et al., 2007; YUSHKEVICH et al., 2007; SHRAGER et al., 2008; VANNEST et al., 2008).

O uso da fMRI para identificar áreas de codificação de memória tem sido bastante explorada. Contudo, a despeito do que vem ocorrendo para o mapeamento de linguagem, não há um protocolo de memória padrão, que tenha sido consistentemente testado para uso em pacientes. Desse modo, aperfeiçoar a sensibilidade dos desenhos experimentais é crítico

para uma detecção confiável das regiões responsáveis pela codificação de memória. Vários desenhos experimentais são utilizados para detectar ativação de codificação, incluindo o em bloco e os eventos-relacionados. O desenho em bloco é mais sensível que o evento-relacionado, e muitos grupos usam desenhos experimentais com apresentação de cenas para codificação de memória. Utilizar tarefas visuais de cenas complexas produz forte ativação bilateral no LTM e são muito próximas aos desenhos dos testes com o amital sódico (teste de Wada). Além disso, o desenho fMRI em bloco maximiza a sensibilidade de detecção (DETRE, 2004; NARAYAN et al., 2005)

A avaliação de memória episódica é uma constante em estudos por fMRI, por meio de tarefas de codificação, implícita ou explícita, devido ao fato do hipocampo estar associado à esse processamento (DETRE, 2004). Para esse tipo de estudo, em especial no que diz respeito à aplicação em pacientes, alguns detalhes da tarefa devem ser considerados com bastante cautela, como a simplicidade de execução e o fornecimento de dados robustos para a região do LTM (BINDER et al., 2005). Nosso estudo visou aplicar um protocolo de memória episódica para avaliação de estruturas do LTM com o objetivo de fornecer parâmetros para auxílio em decisões pré-cirúrgicas. Para isso, utilizamos duas tarefas, uma de codificação e outra de recuperação, apresentadas por estímulos visuais. Na figura 34 fica evidente o poder de modulação que o estímulo utilizado tem sobre estruturas do LTM.

Além de um bom desenho experimental da tarefa, é fundamental que a linha de base, ou período de repouso, seja bem elaborada. Stark e Squire estudaram especificamente a linha de base dos desenhos experimentais de fMRI. Esta etapa do protocolo é um importante componente para que ocorra uma modulação adequada da resposta BOLD. Nesse estudo eles compararam diferentes condições para o desenho em bloco e evento-relacionado. Eles demonstraram que dependendo da tarefa requerida no período de repouso o sinal BOLD pode ser reduzido, anulado ou invertido. Eles concluem que o uso de um bloco apropriado

de controle é crítico em fMRI para avaliação do LTM, em especial o hipocampo (STARK & SQUIRE, 2001). Nesse estudo utilizamos a observação de estímulos visuais de imagens embaralhadas como linha de base, sendo uma alternativa de modificação do protocolo para que o contraste entre atividade e repouso seja maximizado. Analisando as taxas de ocupação dos voluntários e pacientes, figuras 38 e 41, observa-se que o protocolo utilizado acessou o complexo amígdala-hipocampo para determinação do índice de lateralização, mas que para o grupo de pacientes a porcentagem de ocupação das ROI não foi tão robusta como para os voluntários. Alternativas para ocorrer um incremento do sinal nessa região são importantes, seja modificando o protocolo de estimulação ou a maneira de aquisição das imagens.

Ainda, é importante notar que o déficit de memória verbal tem sido reportado em pacientes com ELT esquerda e de memória não verbal, ou visuo-espacial, em pacientes com ELT direita (GOLBY et al., 2001; RABIN et al., 2004; BELL et al., 2007). Essa dicotomia hemisférica entre os tipos de informações são confirmadas cada vez mais por estudos neuropsicológicos e por neuroimagens, variando os estímulos de acordo com seu conteúdo semântico ou não semântico. Por exemplo, Weber conduziu um estudo para a avaliação do LTM utilizando três estímulos visuais de memória: faces, cenas complexas e palavras. Eles obtiveram lateralização à esquerda para a tarefa de palavras, lateralização à direita para a tarefa de faces e bilateral para a de cenas (WEBER et al., 2007).

Kelley e colaboradores obtiveram similar assimetria hemisférica para o LTM, principalmente em estruturas próximas ao hipocampo, com significativa expressão à esquerda para tarefa de palavras, e à direita para faces. Os tipos de tarefas utilizados nesse estudo sugerem que o LTM pode ser modulado pelo tipo de tarefa utilizada. Além disso, quando comparadas a lateralização para tarefas intencionais e passivas, são claros os efeitos no aumento de sinal para as tarefas intencionais, tanto para o córtex frontal como para o LTM (KELLEY et al., 1998). Nossos dados foram obtidos através de uma tarefa passiva de

codificação, com o sujeito sendo informado que deveria recobrar as imagens após apresentação delas, o que pode ter sido uma estratégia interessante por procurar alcançar um maior esforço por parte dos sujeitos na hora da tarefa de recuperação. No entanto, nota-se que a resposta BOLD é bastante sutil nesses protocolos, como foi o caso do nosso estudo, que girou em torno de 0,5%. Torná-la uma tarefa intencional pode ser uma alternativa de maximizar o sinal dentro da ROI, uma vez que o grupo de pacientes demonstrou ter menor resposta ao estímulo, comparando com o grupo de voluntários.

Golby estudou três classes de estimulação não verbal: cenas, faces e desenhos com texturas abstratas, além de uma classe verbal utilizando palavras. Ele examinou a relação entre essas diferentes classes na tarefa de codificação obtendo lateralização à esquerda para codificação verbal, lateralização à direita para codificação de texturas e ativação bilateral para codificação de faces e cenas. Para este último caso, eles colocam essas classes (faces e cenas) como sendo um processamento intermediário entre os dois primeiros, obtendo um resultado aproximadamente simétrico (GOLBY et al., 2001).

Ainda nesse contexto, Kennopohl avaliou as diferenças hemisféricas de atividade funcional durante tarefas de codificação e recuperação no LTM utilizando quatro tipos de estímulos: desenhos abstratos, objetos desenhados com traço simples, palavras abstratas e pseudo-palavras. O estudo sugere que o LTM esquerdo e direito são dissociados entre si, processando diferentes tipos de informação (KENNOPOHL et al., 2007).

Outra questão importante nesses estudos diz respeito a observações de participação seletiva por diferentes porções do hipocampo. Por exemplo, no estudo de Gabrieli e colaboradores, a tarefa de recuperação apresentou uma significativa ativação na região anterior do LTM e a tarefa de codificação na região posterior do LTM, com as duas ativações bilaterais. Esses resultados indicam que diferentes porções anatômicas do LTM estão associadas a processos distintos de memória (GABRIELI et al., 1997).

Outros estudos têm sido conduzidos para explorar eventuais diferenças de funcionalidade entre sub-regiões do hipocampo. Moser e Moser propuseram que o terço anterior do hipocampo possui funcionalidade distinta dos outros dois terços posteriores a partir de observações de vias aferentes e eferentes em estudos em animais (MOSER & MOSER, 1998). Ainda, segundo Greicius, o terço anterior possui robustas conexões eferentes para o hipotálamo e amígdala, não participando especificamente da codificação de memória episódica, por terem sido identificadas ativações predominante nos dois terços posteriores em um estudo fMRI (GREICIUS et al., 2003). No entanto, o estudo conduzido por Schacter e Wagner, utilizando PET, evidencia que a região anterior é ativada nas duas tarefas e há uma predominância de ativação da parte posterior na tarefa de recuperação (SCHACTER & WAGNER, 1999).

Especificamente, o presente estudo sugere que a utilização de cenas complexas serve como um método para identificar sub-regiões do hipocampo responsáveis pela codificação de memória e permite localizar áreas eloqüentes do cérebro, predizendo uma lateralidade como prevenção a déficits pós-operatórios. Alguns fatores são levantados para a diferença entre os resultados e uma potencial fonte para essa discrepância é o artefato de susceptibilidade em estudos fMRI (GREICIUS et al., 2003; SZAFLARSKI et al., 2004). Refinar a modulação do hipocampo associado com maximização do sinal por efeitos de susceptibilidade é determinante para uma boa avaliação de lateralização. Esse artefato ocorre predominantemente nas interfaces dos tecidos, como nas bordas limítrofes do ar das cavidades cranianas com os ossos e parênquima cerebral. Desse modo, regiões cerebrais próximas às bordas são mais suscetíveis à perda de sinal BOLD. Nesse sentido, Greicius investigou as diferenças regionais de ativação do hipocampo durante a codificação e recuperação, em um estudo fMRI com um tomógrafo de 3T. Seus resultados demonstram ativação em toda região hipocampal, nas duas tarefas, sem diferenças entre a parte posterior

e anterior. Nesse estudo, foi incluída uma análise do artefato de susceptibilidade e seu efeito de detecção do sinal BOLD, no hipocampo. Os dados sugerem que há influência significativa para obtenção de informação do hipocampo, em especial na porção anterior, prejudicando a interpretação dos estudos de ativação dessa região (GREICIUS et al., 2003).

Ainda, devido à variedade de abordagens e a redução do sinal BOLD nessas estruturas pelo artefato de susceptibilidade, Merboldt e colaboradores estudaram propostas para aumentar o sinal detectado nessa região, em especial a amígdala. Eles propõem, para imagens EPI, o aumento da resolução espacial, do tempo ao eco e a aquisição utilizando cortes coronais, e não axiais como comumente é realizado. O aumento da resolução espacial reduz artefatos de susceptibilidade macroscópica, pois faz com que o voxel seja mais homogêneo e abranja menos interfaces de diferentes tecidos. A utilização de cortes coronais reduz distorções geométricas e utilizar tempo ao eco maior acarreta em promover maior sensibilidade à detecção das mudanças decorrentes da desoxi-hemoglobina (MERBOLDT et al., 2001). Nossos dados foram obtidos em um tomógrafo de 1,5T com baixa resolução espacial. O ganho proporcionado pelo incremento de sinal com o aumento de campo é uma consideração importante para obtenção de sinal de regiões como o LTM, principalmente quando utilizado em pacientes.

Com a recente aquisição do tomógrafo de 3T em nossa instituição, o estudo de lateralização de memória para aplicabilidade clínica permitirá avaliações mais robustas de ativação do LTM. Isso foi constatado pelo estudo de Narayan, que comparou a ativação do LTM utilizando dois tomógrafos, um de 1,5T e outro de 3T, para uma tarefa de codificação de cenas em três desenhos experimentais: um em bloco e dois eventos-relacionados. Seus resultados indicam consistente ativação bilateral com lateralização a direita, além da constatação da dependência do IL com o limiar estatístico em um estudo de grupo. Demonstram que os desenhos eventos-relacionados permitem boa flexibilidade para a

geração de estímulos e de análises, mas não são mais sensíveis que o em bloco para ativação do LTM. Além disso, tomógrafos de 3T possibilitam imagens mais rápidas e mais estáveis que os de 1,5T, além de imagens com maior resolução espacial, reduzindo efeitos de susceptibilidade, aumentando a relação sinal-ruído e possibilitando excelentes resultados para regiões mesiais (NARAYAN et al., 2005).

No estudo de Szaflarski em pacientes submetidos à cirurgia e que realizaram o TES, utilizando a tarefa de codificação e recuperação de memória em um tomógrafo 3T, obteve que dos 6 pacientes, 3 obtiveram concordância dos índices de lateralização obtido dos estudos funcionais com os do TES. Indicam que o ganho obtido em resolução, perante as outras técnicas, fornece informações complementares às avaliações pré-cirúrgicas e são encorajadores para consolidação da técnica para aplicabilidade clínica (SZAFLARSKI et al., 2004).

A grande maioria dos estudos que buscam pelo mapeamento de memória em pacientes com epilepsia procura características de lateralização, baseados no IL. Ainda, em grande parte desses estudos, o índice de lateralização toma como base a contagem de voxels no hemisfério como um todo (NAGATA et al., 2001; RABIN et al., 2004; SZAFLARSKI et al., 2004; BRANCO et al., 2006; WEBER et al., 2007; VANNEST et al., 2008). O foco no LTM está fundamentado nos estudos que evidenciam sua participação no processo de consolidação e recuperação de memória. Realizar o índice de lateralização de todo o hemisfério inclui em sua determinação outras áreas que não participam dos processos de memória, como o córtex visual que projeta vias para regiões do LTM ou áreas motoras que são detectadas pela tarefa de apertar o botão de resposta ao estímulo, por exemplo. Neste caso, a área motora implicaria em um aumento da quantidade de voxels de um hemisfério, influenciando o resultado do IL calculado que considera todos os voxels de cada hemisfério.

Nossos resultados para o grupo de voluntários foi inicialmente realizando o cálculo do IL como é comumente aplicado na clínica, ou seja, obtendo todos os voxels de cada hemisfério e calculando a assimetria. Após essa análise realizamos a determinação do índice utilizando uma ROI do complexo amígdala-hipocampo. Nesse caso, o índice é calculado com os voxels significativos contidos na ROI. Um grande limitador para esse tipo de situação é a sua dependência com o limiar estatístico. Contudo, algumas estratégias de análises ocorrem para que essa dependência seja minimizada. Neste trabalho propusemos a estimação do índice considerando não somente os voxels em cada ROI, mas também a informação da quantidade de ocupação dessa ROI.

A determinação do IL para estudos de fMRI de linguagem, muitas vezes utilizam grandes ROI delimitadas simetricamente sobre a estrutura de interesse, como a área de Broca (área de Brodmann 44 e 45) (NAGATA et al., 2001). Para ROI criadas como formas geométricas definidas, a quantidade de voxels em cada uma delas é a mesma. No caso do hipocampo, essas quantidades não são as mesmas quando geradas a partir de informações anatômicas. Além disso, a quantidade de voxels é significativamente menor quando comparada a todo o hemisfério, por exemplo. Desse modo, utilizar ROI específicas, como as geradas para o complexo amígdala-hipocampo, pode acarretar em um IL diferente de zero quando as duas regiões estiverem completamente ocupadas. Mais importante que a assimetria do tamanho das ROI é a quantidade de voxels responsáveis para a obtenção do índice. Quando temos duas regiões, com uma preenchida por completo e a outra não, o índice será o mesmo se a condição se mantiver, ou seja, uma região preenchida pela metade e outra vazia. Com base nesses dois limitantes na interpretação do índice de lateralização, propomos um índice corrigido. Modificamos a expressão de modo que seu resultado fosse composto não só pelos voxels significativos, mas também pela simetria da região de análise e pela sua ocupação. Nessa nova proposta, observou-se uma maior estabilidade e sensibilidade

no tocante à ocupação da ROI. Ou seja, distorções nos valores de IL foram reduzidas, nos casos em que as tarefas não geravam um número representativo de voxels significativos dentro das regiões.

Outra questão importante para o cálculo do IL, por ROI, se refere ao processo de segmentação. Programas têm sido desenvolvidos para executar automaticamente essa laboriosa tarefa, mas a segmentação manual é ainda muito utilizada (JACK *et al.*, 1995; POLDRACK, 2007). Os métodos automáticos procuram minimizar a subjetividade das segmentações manuais, principalmente para avaliações volumétricas de estruturas específicas (KRISHNAN *et al.*, 2006). Em nosso estudo, segmentamos manualmente as imagens de alta resolução espacial dos 12 voluntários. Realizamos esse procedimento para obter uma ROI decorrente de dados dos próprios indivíduos e não das coordenadas de um atlas, permitindo acessar os voxels que representassem especificamente a região.

Outra importante consideração para a utilização do IL como variável de medida de assimetria é a sua dependência com o limiar estatístico (NAGATA *et al.*, 2001; SZAFARSKI *et al.*, 2004; NARAYAN *et al.*, 2005; BRANCO *et al.*, 2006; WEBER *et al.*, 2007). Em um estudo fMRI de linguagem, Nagata propôs um método alternativo, em que o cálculo do IL é feito após análise do comportamento do conjunto de dados com a variação do valor estatístico no interior ROI retangulares. Seu método estuda inicialmente a correlação dos dados dentro da ROI utilizando uma função polinomial do tipo $(1/\text{valor estatístico } Z)^N$, em que se verifica qual expoente (N) melhor lineariza os dados. O IL é calculado com base no coeficiente angular obtido do gráfico da quantidade de voxels ativos em função do polinômio com o índice de maior correlação. Ele coloca que dessa maneira os valores dos coeficientes não variam significativamente com o valor estatístico e que possui boa reprodutibilidade, critério que a utilização do IL sem essa consideração não satisfaz (NAGATA *et al.*, 2001). Para tarefas de linguagem, a utilização do método de Nagata tem tido certo sucesso por se tratar de uma

grande região com um alto sinal-ruído. Entretanto, o LTM é uma região pequena, com baixo sinal-ruído e que depende de várias variáveis inerentes às tarefas de memória.

Nessa mesma linha de investigação, Branco e colaboradores propõem uma alternativa para calcular o IL, aplicando apenas na parte anterior do hipocampo. O método utiliza todos os voxels da ROI ponderando os valores com base na distribuição estatística. A técnica proposta demonstrou ser robusta, não variar com o limiar estatístico e possibilitar comparações entre sujeitos (BRANCO et al., 2006). No entanto, o método depende da utilização de diferentes curvas de distribuição, com o intuito de reduzir falsos positivos, e dependendo do tipo de distribuição há índices diferentes.

Nossa proposta incorporou ao IL uma variável, que é a taxa de ocupação da ROI. Nossos dados demonstram que o método reduz a dependência do limiar estatístico e permite interpretações mais detalhadas do índice, além de ser de fácil aplicação, considerando não apenas a porcentagem de lateralização, mas também quantos voxels foram responsáveis para gerar o resultado. A combinação dessas informações auxilia na determinação de casos em que a lateralização é nula, permitindo avaliar se trata de uma bilateralidade ou da não detecção da região.

Nosso resultado do IL da amígdala demonstra a importância da utilização do método corrigido. No método tradicional encontra-se lateralização à direita de 100% e no método corrigido de 27,6%, uma vez que agora a porcentagem de voxels ativos é levada em consideração. No entanto, essa estrutura simétrica (figura 32) traduz outra questão: a interpretação do IL igual a zero. Este valor pode corresponder a duas situações: nenhuma ativação detectada ou ativações idênticas nas duas ROI. Isso implica em possíveis falsas interpretações de bilateralidade ou de expressiva dominância, quando na realidade há pouca, ou nenhuma, ativação.

Em nossos dados, o grupo de voluntários possui maior ativação do hipocampo na tarefa de recuperação. O grupo de pacientes foi uniforme com relação à dependência da lateralização pela tarefa.

A execução das tarefas foi mais fácil para o grupo de voluntários, que mostrou média dos tempos de resposta inferiores às médias do grupo de pacientes, para a mesma tarefa. A porcentagem de acertos do grupo de voluntários foi maior que a dos pacientes, para a mesma tarefa. Para os dois grupos, os tempos de resposta são maiores, assim como a porcentagem de acertos menores, para a tarefa de recuperação. Isso reflete que a tarefa de recuperação é mais difícil que a de codificação, fato este estar associado ao desenho do experimento, que não informa o sujeito que as imagens deverão ser memorizadas para serem recobradas posteriormente. Uma redução no desempenho do grupo de pacientes também pode estar associada ao grau de escolaridade, idade e medicação (GUERREIRO, 1996), como ocorreu com um paciente que possui características de idade e escolaridade semelhantes ao grupo de voluntários, que apresentou o mesmo desempenho que o grupo controle, nas duas tarefas.

Além disso, utilizar as respostas para compor o preditor foi utilizado com o intuito de tornar o protocolo mais seletivo à tarefa de memória, com redução de outras áreas não relacionadas. Nossos dados mostram que essa estratégia reduz a porcentagem de ocupação e fornece índices similares aos obtidos para o preditor em bloco. Como os pacientes possuem menor taxa de ocupação que os voluntários e há pouca diferença entre os índices dos dois preditores, a utilização do preditor em bloco continua sendo um bom método para avaliação do LTM, quando utilizado um tomógrafo de 1,5T. No entanto, a utilização do preditor gerado pelas respostas está diretamente relacionada com a consolidação de memória, ou seja, após ocorrer a etapa de codificação há a consolidação dessa informação. Ao apresentar novamente as imagens, a informação consolidada é acessada e, conseqüentemente, há o

envolvimento do hipocampo. Dessa forma, a utilização desse tipo de preditor permite acessar dados diretamente envolvidos com os processos de memória, minimizando outros processos que ocorrem simultaneamente (BINDER et al., 2005).

Estudos de linguagem por fMRI estão bem estabelecidos e mostram plasticidade cerebral em pacientes com epilepsia focal, ocorrendo mudança de conectividade e reorganização do sistema para o contralateral ao foco (GUERREIRO, 1996). Não se sabe se o mesmo ocorre para as funções de memória. O estudo de Vannest investiga se pacientes com ELT exibem um aumento de atividade no hemisfério oposto ao do foco, comparando pacientes com foco a direita e a esquerda, e estes com um grupo controle. Os resultados foram obtidos com a tarefa de cenas para ativação bilateral do LTM e os dados indicam que há uma tendência do sistema a lateralizar para o hemisfério não afetado. Pacientes com foco à direita mostram sutil lateralização à esquerda, e pacientes com foco à esquerda significativa lateralização à direita, diferindo do grupo controle. Eles concluem que os resultados são similares aos de plasticidade observado para lateralização de linguagem em pacientes com epilepsia e que a presença de epilepsia focal influencia na neuroanatomia funcional dos processos de memória (VANNEST et al., 2008).

Conclusões e Perspectivas

Dispositivo

- O dispositivo atendeu às necessidades do grupo, auxiliando muitos projetos e permitindo que dados de tempo de resposta e porcentagem de acertos fossem obtidos com a interação do sujeito com o experimento.
- Devido à aquisição de um sistema comercial com mais recursos com a implantação do tomógrafo de 3 Tesla no HCRP, aprimoramentos nesse dispositivo e a confecção de novos botões ocorrerão caso seja necessário em futuros projetos.

VOI Analyser

- O programa *VOI Analyzer* permitiu que uma grande quantidade de dados fosse analisada com reduzido tempo. Além das planilhas com os resumos das análises por estrutura e hemisfério, outras opções, como a geração de arquivos compatíveis com o *BrainVoyager™ QX*, permitiram análises por ROI mais simples de ser realizada.
- Ele foi aprimorado e traduzido para a língua inglesa e será distribuído para uso da comunidade científica.

Dados

- A utilização da tarefa de codificação e recuperação de memória episódica, utilizando estímulo visual de cenas complexas, promoveu robusta ativação de estruturas do LTM, incluindo o hipocampo.
- A modificação da equação de lateralização permite que o pesquisador interprete o índice com base em parâmetros que estão relacionados com a porcentagem de ocupação da ROI. Essa inclusão reduziu a dependência com o limiar estatístico e permitiu uma melhor interpretação de valores que indicam bilateralidade.
- O desenho experimental utilizado acessou o LTM, permitindo avaliação de lateralização de memória. No entanto, o grupo de voluntário apresentou maior taxa de ocupação das ROI utilizadas que o grupo de pacientes. Alguns fatores influenciaram nessa observação, como a dificuldade em realizar a tarefa e artefatos de susceptibilidade, que podem ser resolvidos ou minimizados com a reformulação do protocolo de estimulação e aquisição das imagens.
- A estimulação visual por cenas complexas demandam tanto tarefas verbais quanto visuo-espaciais, promovendo ativação bilateral. Em nossos dados há lateralização à direita nas duas tarefas, com maior grau para a tarefa de recuperação no grupo de voluntários. Para o estudo individual dos voluntários, ocorreu predominância de lateralização à direita na tarefa de recuperação. Para os pacientes os índices oscilaram próximo ao zero, decorrente de baixa ocupação de voxels significativos na ROI.

- Ocorreu expressiva participação da região posterior do LTM nas duas tarefas. Apesar disso, nossos dados indicam uma participação maior da região anterior na tarefa de recuperação, sendo isso evidenciado pelo aumento da quantidade de voxels significativos dentro da ROI quando comparada as duas condições e quando avaliados os índices na codificação e na recuperação, pois há uma redução na maioria dos índices posteriores e aumento dos índices anteriores
- A utilização da tarefa de recuperação é fundamental para o estudo de lateralização de memória, pois permite avaliar a região mais anterior do complexo amígdala-hipocampo, que é a região alvo em cirurgias de epilepsia e prediz importantes consequências pós-cirúrgicas.
- Futuros estudos devem caminhar para que o acesso a regiões do LTM seja maximizado. Para isso, utilizar maior resolução espacial, orientação adequada dos cortes, equipamentos com alta relação sinal-ruído e, principalmente, tarefas de codificação e recuperação que maximizem a modulação do hipocampo é imperativo para que essa técnica possa se consolidar como ferramenta clínica na avaliação pré-cirúrgica.

Referências Bibliográficas

- ANDRADE-VALENÇA, L. P. A.; VALENÇA, M. M.; VELASCO, T. R. and LEITE, J. P. Epilepsia do Lobo Temporal Mesial Associada à Esclerose Hipocampal. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology* 12: 31–36, 2006.
- ARFANAKISA, K.; HERMANN, B. P.; ROGERS, B. P.; CAREW, J. D.; SEIDENBERG, M. and MEYERAND, M. E. Diffusion tensor MRI in temporal lobe epilepsy. *Magnetic Resonance Imaging* 20: 511–519, 2002.
- ASADI-POOYA, A. A. and SPERLING, M. R. Strategies for surgical treatment of epilepsies in developing countries. *Epilepsia*, 49: 381–385, 2008.
- ASSAF, B. A.; MOHAMED, F. B.; ABOU-KHALED, K. J.; WILLIAMS, J. M.; YAZEJI, M. S.; HASELGROVE, J. and FARO, S. H. Diffusion Tensor Imaging of the Hippocampal Formation in Temporal Lobe Epilepsy. *Am. J. Neuroradiol.* 24: 1857–1862, 2003.
- BADDELEY, A. Working Memory: Looking Back and Looking Forward. *Nature Reviews Neuroscience* 4: 829–839, 2003.
- BELL, B. D. and GIOVAGNOLI, A. R. Recent innovative studies of memory in temporal lobe epilepsy. *Neuropsychology Review* 17: 455–476, 2007.
- BERNASCONI, N.; CARAMANOS, Z.; ANTEL, S. B.; ANDERMANN, F. and ARNOLD, D. L. Mesial temporal damage in temporal lobe epilepsy: A volumetric MRI study of the hippocampus, amygdala and parahippocampal region. *Brain* 126: 462–469, 2003.
- BINDER, J. R.; BELLGOWAN, P. S. F.; HAMMEKE, T. A.; POSSING, E. T. and FROST, J. A. A Comparison of Two fMRI Protocols for Eliciting Hippocampal Activation. *Epilepsia*, 46: 1061–1070, 2005.
- BRANCO, D. M.; SUAREZ, R. O.; WHALEN, S.; O'SHEA, J. P.; NELSON, A. P.; COSTA, J. C. and GOLBY, A. J. Functional MRI of memory in the hippocampus: Laterality indices may be more meaningful if calculated from whole voxel distributions. *NeuroImage* 32: 592–602, 2006.
- BRUNBECH, L. and SABERS, A. Effect of Antiepileptic Drugs on Cognitive Function in Individuals with Epilepsy – A Comparative Review of Newer Versus Older Agents. *Drugs* 62: 593–604, 2002.
- CABEZA, R.; DOLCOS, F.; GRAHAM, R. and NYBERG, L. Similarities and Differences in the Neural Correlates of Episodic Memory Retrieval and Working Memory. *NeuroImage* 16, 317–330, 2002.
- CABREZA, R. and KINGSTONE, A. *Handbook of Functional Neuroimaging of Cognition*. 1. ed. The MIT Press, 2001.
- CICCARELLI, O.; TOOSY, A. T.; PARKER, G. J. M.; WHEELER-KINGSHOTT, C. A. M.; BARKER, G. J.; MILLER, D. H. and THOMPSON, A. J. Diffusion tractography based group mapping of major white-matter pathways in the human brain. *NeuroImage* 19: 1545–1555, 2003.
- DE ARAUJO, D. B.; ARAUJO, D.; ROSSET, S. E.; WICHERAN, A. L., BAFFA, O.; SAKAMOTO, A.; SANTOS, A. C. fMRI in Epilepsy and Recent Advances in Spatial Memory Mapping. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology*, 9: 213–219, 2003.

- DE ARAUJO, D. B.; BAFFA, O. and WAKAI R, T. Theta Oscillations and Human Navigation: A Magnetoencephalography Study. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 14: 70, 2002.
- DETRE, J. fMRI: Applications in Epilepsy. *Epilepsia*, 45:26-31, 2004.
- DUVERNOY, H. M. The Human Brain: Surface, Blood Supply and Tree-Dimensional Sectional Anatomy. Second and Enlarged Edition, SpringerWienNewYork, 1999.
- ELDRIDGE, L. L.; ENGEL, S. A.; ZEINEH, M. M.; BOOKHEIMER, S. Y. and KNOWLTON, B. J. Dissociation of Encoding and Retrieval Processes in the Human Hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 25: 3280–3286, 2005.
- ELDRIDGE, L. L.; KNOWLTON, B. J.; FURMANSKI, C. S.; BOOKHEIMER, S. Y. and ENGEL, S. A. Remembering episodes: A selective role for the hippocampus during retrieval. *Nature Neuroscience* 3: 1149–1152, 2000.
- ENGEL JR., J. ILAE classification of epilepsy syndromes. *Epilepsy Research* 70S: S5–S10, 2006.
- FLUGEL, D.; CERCIGNANI, M.; SYMMS, M. R.; O'TOOLE, A.; THOMPSON, P. J.; KOEPP, M. J. and FOONG, J. Diffusion Tensor Imaging Findings and Their Correlation with Neuropsychological Deficits in Patients with Temporal Lobe Epilepsy and Interictal Psychosis. *Epilepsia*, 47: 941–944, 2006.
- FOUNDAS, A. L.; LEONARD, C. M. and HANNA-PLADDY, B. Variability in the anatomy of the planum temporale and posterior ascending ramus: Do right- and left handers differ? *Brain and Language*, 83: 403–424, 2002.
- FRISTON, K. J.; HOLMES, A.P.; WORSLEY, K. J.; POLINE, J. P.; FRITH, C. D. and FRACKOWIAK, R. S. J. Statistical Parametric Maps in Functional Imaging: A General Linear Approach. *Human Brain Mapping* 2: 189-210, 1995.
- GABRIELI, J. D. E. Cognitive Neuroscience of Human Memory. *Annual Review of Psychology* 49: 87–115, 1998.
- GABRIELI, J. D. E.; BREWER, J. B.; DESMOND, J. E. and GLOVER, G. H. Separate neural bases of two fundamental memory processes in the human medial temporal lobe. *Science* 276: 264–266, 1997.
- GOMES, M. M.; LI, L. M. and NICOLE-CARVALHO, V. Estudos Epidemiológicos. *Journal of Epilepsy and Clinical Neurophysiology* 11(4 suppl. 1):16–19, 2005.
- GOLBY, A. J.; POLDRACK, R. A.; BREWER, J. B.; SPENCER, D.; DESMOND, J. E.; ARON, A. P. and GABRIELI, J. D. E. Material-specific lateralization in the medial temporal lobe and prefrontal cortex during memory encoding. *Brain* 124: 1841–1854, 2001.
- GREICIUS, M. D.; KRASNOW, B.; BOYETT-ANDERSON, J. M.; ELIEZ, S.; SCHATZBERG, A. F.; REISS, A. L. and MENON, V. Regional analysis of hippocampal activation during memory encoding and retrieving: fMRI study. *Hippocampus*, 13: 164–174, 2003.
- GUERREIRO, C. A. M. and GUERREIRO, M. M. *Epilepsia*. 2. ed. Editora Lemos, 1996.
- HELMSTAEDTER, C. and KURTHEN, M. Memory and epilepsy: characteristics, course, and influence of drugs and surgery. *Current Opinion in Neurology* 14: 211–216, 2001.

- HUETTEL, S. A.; SONG, A. W. and MCCERTHY, G. Functional Magnetic Resonance Imaging. 1. ed. Sinauer Associates, 2004.
- JACK, C. R.; THEODORE, W. H.; COOK, M. and MCCARTHY, G. MRI-based hippocampal volumetrics data acquisition normal ranges and optimal protocol. Magnetic Resonance Imaging 13:1057-1064, 1995.
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J.H. and JESSELL T. M. Princípios da Neurociência. 4. ed. Editora Manole, 2003.
- KELLEY, W. M.; MIEZIN, F. M.; MCDERMOTT, K. B.; BUCKNER, R. L.; RAICHLE, M. E.; COHEN, N. J.; OLLINGER, J. M.; AKBUDAK, E.; CONTURO, T. E.; SNYDER, A. Z. and PETERSEN, S. E. Hemispheric specialization in human dorsal frontal cortex and medial temporal lobe for verbal and nonverbal memory encoding. Neuron 20: 927-936, 1998.
- KENNEPOHL, S.; SZIKLAS, V.; GARVER, K. E.; WAGNER, D. D. and JONES-GOTMAN, M. Memory and the medial temporal lobe: Hemispheric specialization reconsidered. NeuroImage 36: 969-978, 2007.
- KÖHLER, S.; CRANE, J. and MILNER, B. Differential contributions of the parahippocampal place area and the anterior hippocampus to human memory for scenes. Hippocampus 12: 718-723, 2002.
- KRISHNAN, S.; SLAVIN, M. J.; TRAN, T. T.; DORAISWAMY and PETRELLA, F. R. Accuracy of spatial normalization of the hippocampus: Implications for fMRI research in memory disorders. NeuroImage 31: 560-571, 2006.
- KWAN, P. and SANDER, J. W. The natural history of epilepsy: an epidemiological view. Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry 75: 1376-1381, 2004.
- LENT, R. Cem Bilhões de Neurônios: Conceitos Fundamentais de Neurociência. São Paulo. Editora Atheneu, 1ª Edição, 2001.
- LOGOTHETIS, N. K. The Neural Basis of The Blood-Oxygen-Level-Dependent Functional Magnetic Resonance Imaging Signal. The Royal Society, 01TB020E: 1-35, 2002.
- MASIA, S. L. and DEVINSKY, O. Epilepsy and Behavior: A Brief History. Epilepsy & Behavior 1: 27-36, 2000.
- MERBOLDT, K.; FRASSON, P.; BRUHN, H. and FRAHM, J. Functional MRI of the human amygdala? NeuroImage 14: 253-257, 2001.
- MORI, S. Introduction to Diffusion Tensor Imaging. Elsevier, 1ª edição, 2007.
- MOSER, M. and MOSER, E. I. Hippocampus 8 608 (1998) Functional Differentiation in the Hippocampus. Hippocampus 8:608-619, 1998.
- NAGATA, S.; UCHIMURA, K.; HIRAKAWA, W. and KURATSU, J. Method for quantitatively Evaluating the lateralization of linguistic function using functional MR imaging. AJNR 22: 985-991, 2001.
- NARAYAN, V. M; KIMBERG, D. Y.; TANG, K. Z. and DETRE, J. A. Experimental design for functional MRI of scene memory encoding. Epilepsy & Behavior 6: 242-249, 2005.

- OGAWA, S.; LEE, T. M.; NAYAK, A. S. and GLYNN, P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magnetic Resonance Medicine* 14: 68–78, 1990a.
- OGAWA, S.; LEE, T.M.; KAY, A.R. and TANK, D.W. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *PNAS* 87: 9868–9872, 1990b.
- OJEMANN, G. A. Treatment of Temporal Lobe Epilepsy. *Annual Review of Psychology* 48: 317–28, 1997.
- OLESEN, P. J.; NAGY, Z.; WESTERBERG, H. and KLINGBERG, T. Combined analysis of DTI and fMRI data reveals a joint maturation of white and grey matter in a fronto-parietal network. *Cognitive Brain Research*, 18: 48–57, 2003.
- POLDRACK, R. A. Region of interest analysis for fMRI. *Scan* 2: 67–70, 2007.
- PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A.; MCNAMARA, J. O. and WILLIAMS, S. M. *Neuroscience*. 3. Ed. Sinauer Associates, 2004.
- RABIN, M. L.; NARAYAN, V. M.; KIMBERG, D. Y.; CASASANTO, D. J.; GLOSSER, G.; TRACY, J. I.; FRENCH, J. A.; SPERLING, M. R. and DETRE, J. A. Functional MRI Predicts Post-Surgical Memory Following Temporal Lobectomy. *Brain*, 127: 2286–2298, 2004.
- REPOVS, G. and BADDELEY, A. The Multi-Component Model of Working Memory: Explorations in Experimental Cognitive Psychology. *Neuroscience* 139: 5–21, 2006.
- RODRIGUES, T. R.; VIEIRA, M. C. and MELO, C. S. Perdas Transitórias de Consciência e Convulsões: Epilepsia ou Síncopa? *Relampa* 20: 231–247, 2007.
- ROQUE, A. D.; OPPENHEIM, C.; CHASSOUX, F.; RODRIGO, S.; BEUVON, F.; DAUMAS-DUPORT, C.; DEVAUX, B. and MEDER, J. Diffusion tensor imaging of partial intractable epilepsy. *Eur. Radiol.* 15: 279–285, 2005.
- ROSENOW, F. and LÜDERS, H. Presurgical Evaluation of Epilepsy. *Brain*, 124: 1683–1700, 2001.
- SANDER, J. W. The epidemiology of epilepsy revisited. *Current Opinion in Neurology* 16: 165–170, 2003.
- SCHACTER, D. L. and WAGNER, A. D. Medial Temporal Lobe Activations in fMRI and PET Studies of Episodic Encoding and Retrieval. *Hippocampus* 9: 7–24, 1999.
- SCHONBERG, T.; HENDLER, P. P. T.; PASTERNAK, O. and ASSAF, Y. Characterization of displaced white matter by brain tumors using combined DTI and fMRI. *NeuroImage*, 30: 1100–1111, 2006.
- SHRAGER, Y.; KIRWAN, B. and SQUIRE, L. R. Activity in both hippocampus and perirhinal cortex predicts the memory strength of subsequently remembered information. *Neuron* 59: 547–553, 2008.
- STARK, C. E. L. and SQUIRE, L. R. When zero is not zero: The problem of ambiguous baseline conditions in fMRI. *PNAS* 98: 12760–12766, 2001.
- SZAFLARSKI, J. P.; HOLLAND, S. K.; SCHMITHORST, V. J.; DUNN, R. S. and PRIVITERA, M. D. High-resolution functional MRI at 3 T in healthy and epilepsy subjects: hippocampal activation with picture encoding task. *Epilepsy & Behavior* 5: 244–252, 2004.

- TALAIRACH, J. and TOURNOUX, P. Co-planar stereotaxic atlas of the human brain: 3-dimensional proportional system - an approach to cerebral imaging. Thieme Medical Publishers, New York, 1988.
- TOFTS, P. Quantitative MRI of The Brain – Measuring Changes Caused by Disease. John Wiley & Sons, 2003.
- TULVING, E. Episodic Memory: From Mind to Brain. *Annual Review of Psychology* 53: 1-25, 2002.
- TULVING, E.; KAPUR, S.; CRAIK, F. I. M.; MOSCOVITCH, M. and HOULE, S. Hemispheric encoding/retrieval asymmetry in episodic memory: Positron emission tomography findings. *PNAS* 91: 2016–2020, 1994.
- VANNEST, J.; SZAFLARSKI, J. P.; PRIVITERA, M. D.; SCHEFFT, B. K. and HOLLAND, S. K. Medial temporal fMRI activation reflects memory lateralization and memory performance in patients with epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 12: 410–418, 2008.
- VERNOOIJ, M.W.; SMITS, M.; WIELOPOLSKI, P.A.; HOUSTON, G.C.; KRESTIN, G.P. and VAN DER LUGTA, A. Fiber density asymmetry of the arcuate fasciculus in relation to functional hemispheric language lateralization in both right- and left-handed healthy subjects: A combined fMRI and DTI study. *NeuroImage*, 35: 1064–1076, 2007.
- WADA, J. and RASMUSSEN, T. Intracarotid Injection of Sodium Amytal for the Lateralization of Cerebral Speech Dominance: Experimental and Clinical Observation. *Journal of Neurosurgery*, 17: 266, 1960.
- WATSON, C.; ANDERMANN, F.; GLOOR, P.; JONES-GOTMAN, M.; PETERS, T.; EVANS, A.; OLIVER, A.; MELANSON, D. and LEROUX, G. Anatomic basis of amygdaloid and hippocampal volume measurement by magnetic resonance imaging. *Neurology* 42: 1743–1750, 1992.
- WEBER, B.; KÜGLER, F. and ELGER, C. E. Comparison of implicit memory encoding paradigms for the activation of mediotemporal structures. *Epilepsy & Behavior*, 10: 442–448, 2007.
- YUSHKEVICH, P. A.; DETRE, J. A.; MECHANIC-HAMILTON, D.; FERNÁNDEZ-SEARA, M. A.; TANG, K. Z.; HOANG, A.; KORCZYKOWSKI, M.; ZHANG, H. and GEE, C. Hippocampus-specific fMRI group activation analysis using the continuous medial representation. *NeuroImage* 35: 1516–1530, 2007.

Imagem por Tensor de Difusão

As imagens por RM são versáteis com relação às possibilidades de medida *in vivo*, gerando imagens com diferentes informações de um mesmo sistema. Além de medidas dos tempos de relaxação, medidas metabólicas através da espectroscopia, medidas de atividade cerebral através da fMRI, podem, também, nos fornecer informações de difusão da água livre. A RM obtém o sinal dos núcleos de hidrogênio presentes na molécula de água livre. Os que estão nas outras moléculas sentem um campo magnético ligeiramente diferente, por sofrer influências dos outros núcleos, e não participam diretamente na geração das imagens. Essas moléculas de água livre realizam movimentos aleatórios, pois o sistema está em agitação térmica. Essa movimentação é conhecida como movimento Browniano, que estuda o deslocamento médio em função do tempo. Quanto maior o tempo que o sistema difundiu, mais distante da posição inicial a molécula pode se encontrar.

A constante de difusão (**D**) é um termo de proporcionalidade que reflete a difusão do sistema relacionando-a com um gradiente. Ao medir por RM um voxel, aplica-se um pulso para excitar as moléculas de água livre, para logo em seguida registrar o sinal que o sistema retorna. Para gerar imagens ponderadas em difusão, utiliza-se a seqüência de pulso chamada de gradiente eco. Após o pulso de 90°, o eco do sistema é gerado através da atuação dos gradientes, em que se aplica durante um determinado tempo um intenso gradiente e posteriormente aplica-se o mesmo gradiente, durante o mesmo intervalo de tempo, no sentido contrário da primeira vez. Esse procedimento altera a velocidade de precessão do sistema, acrescentando fase aos momentos magnéticos. No momento da aplicação do gradiente contrário, a fase incrementa é retirada com conseqüente realinhamento dos momentos magnéticos. Nesse instante ocorre o eco. Ao ocorrer difusão durante esse processo, a aplicação do gradiente contrário retirará a fase acrescida somente dos núcleos remanescentes, acarretando em menor intensidade de eco. Gradientes aplicados por um curto período de tempo retornam sinal mais intenso que os aplicados por um tempo maior.

Parâmetros como o sistema excitado (fator giromagnético), a amplitude do gradiente, a duração do pulso e o tempo entre pulsos são resumidos pelo “**fator b** ” (unidade: mm²/s). Esse fator está relacionado com a constante de difusão e é o parâmetro utilizado para gerar as imagens por difusão. Para obter o valor da constante de difusão realiza-se duas medidas, uma com um rápido gradiente, que implica em poucas perdas por difusão, e outro conforme desejado através do fator b . Pela relação de intensidades inicial (I_0) e final (I), obtêm-se o valor da constante, uma vez que b é conhecido (equação 10). O termo negativo expressa o comportamento decrescente do sinal. Variando o valor de b , as intensidades da imagem é menor, devido as perdas por difusão (figura 55).

$$I(x, y, z) = I_0(x, y, z) e^{-bD} \Leftrightarrow \frac{I}{I_0} = e^{-bD} \quad (10)$$

Com o aumento do fator b o brilho da imagem é menor

Figura 55 – Variação da intensidade do brilho com o aumento do valor do fator b .

Além da variação da intensidade com o fator b , a direção do gradiente também nessa redução de sinal. Um gradiente aplicado na direção x , por exemplo, resultará em redução de sinal somente se a difusão ocorrer nessa direção. O mesmo vale para qualquer direção dos gradientes. Para avaliar a preferência de difusão de um voxel, o valor de b é fixado e a “mesma” imagem é gera com a aplicação dos gradientes em diferentes direções (figura 56). Essas imagens são geradas utilizando seqüências rápidas de imagens, como a EPI, variando os gradientes.

Figura 56 – Imagens EPI com base na difusão. A primeira imagem (superior) corresponde a $b=0\text{mm}^2/\text{s}$ e é a referência de sinal para o cálculo do coeficiente de difusão pelas outras imagens. Na área em cinza têm 6 imagens da mesma região do cérebro, obtidas com os diferentes direções de gradientes.

Utilizando a imagem com $b=0\text{mm}^2/\text{s}$ como sendo a intensidade inicial I_0 , obtêm-se o valor das constantes de difusão nas direções de aplicação dos gradientes. A avaliação desse sistema ocorre por meio de valores médios, que procuram mostrar um mapa composto pelas constantes obtidas. Com os resultados obtidos utiliza-se um operador matemático conhecido por tensor. O tensor de difusão (por ser composto pelas constantes de difusão), é formado por auto-valores (λ_n) e auto-vetores (ϵ_n) que descrevem aquele sistema (equação 11). Através

desses elementos gera-se mapas que refletem a difusão do sistema de diferentes maneiras, como a média de difusividade (**MD** - *Mean Diffusivity*) ou a anisotropia fracionada (**FA** - *Fractional Anisotropy*).

$$\mathbf{D} = \begin{pmatrix} D_{xx} & D_{xy} & D_{xz} \\ D_{yx} & D_{yy} & D_{yz} \\ D_{zx} & D_{zy} & D_{zz} \end{pmatrix} \Rightarrow \mathbf{D}' = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \varepsilon_3 \end{pmatrix} \quad (11)$$

O tensor de difusão (**D**) é composto pelas constantes de difusão obtidas das imagens geradas. Para esse sistema, $D_{xy} = D_{yx}$, $D_{xz} = D_{zx}$ e $D_{yz} = D_{zy}$. Dessas informações têm-se os auto-valores (λ_n) e auto-vetores (ε_n). Realizando a média simples dos auto-valores (equação 12), obtêm-se uma robusta estimacão da difusão naquele voxel, a média de difusividade. O Trace (*Tr*) é outro parâmetro utilizado, que corresponde a soma dos auto-valores. A anisotropia fracionada (**FA**) corresponde a um parâmetro construído com base na variância dos auto-valores (equação 13). A **FA** é muito fácil de interpretação e sua vantagem é de caracterizar muito bem a substância branca e cinzenta.

$$\mathbf{MD} = \frac{\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3}{3} = \frac{\text{Tr}\mathbf{D}}{3} \quad (12)$$

$$\mathbf{FA} = \sqrt{\frac{3}{2}} \cdot \frac{\sqrt{(\lambda_1 - \langle \mathbf{D} \rangle)^2 + (\lambda_2 - \langle \mathbf{D} \rangle)^2 + (\lambda_3 - \langle \mathbf{D} \rangle)^2}}{\sqrt{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}} \quad (13)$$

As imagens por tensor de difusão possibilitam avaliar inúmeras patologias, como inflamações, edemas, necroses, desmielinizações, glioses, perdas axionais, entre outras. Dentre estas, destaca-se a organização dos axônios. Recentes estudos de DTI combinam as conectividade de diferentes regiões do cérebro com as medidas de atividade obtida pela fMRI. O tensor de difusão permite conhecer a preferência de difusão de uma região, se ela é isotrópica ou anisotrópica (figura 57). A substância branca é composta por fibras de axônios,

que impõem restrições a difusão da água entre as membranas. Para esse sistema a difusividade ocorre em maior intensidade ao longo do axônio (anisotropia linear). Já em edemas, por exemplo, há restrição de fluidos intracelular em cavidades acarretando em uma difusão mais isotrópica.

Figura 57 – Anisotropia com base nos tensores de difusão.

Essa medida é realizada para cada voxel, que combinados permitem avaliar os tratos da substância branca por possuir uma anisotropia preferencial no sentido axional. As cores estão associadas às direções da difusão. As DTIs necessitam de no mínimo 6 direções de gradientes para obtenção das anisotropias. No entanto, para uma melhor qualidade da avaliação da anisotropia utiliza-se mais direções que a mínima necessária. Alguns estudos usam várias direções, como 23 (ARFANAKISA et al., 2002), 25 (ROQUE et al., 2005), 54 (FLUGEL et al., 2006), 60 (CICCARELLI et al., 2003), entre outras quantidades. A quantidade de direções não colineares utilizada não é padronizada e a escolha da quantidade de direções decorrem de limitações do equipamento e/ou do tempo necessário para adquiri-las.

Com base nessas informações de anisotropias há, recentemente, a possibilidade de aplicar algoritmos computacionais para geração de imagens tractográficas (figura 58). A tractografia reconstrói os tratos com base nos tensores e permite as análises de conectividade (CICCARELLI, et al., 2003; ASSAF, et al., 2003; ARFANAKISA, et al., 2002;). A quantidade de direções, assim como a resolução utilizada, determina a qualidade da reconstrução.

Figura 58 – Tractografia baseada nas informações de anisotropia. A esquerda o eixo colorido expressa a direção preferencial de difusão. No centro, um mapa representativo da anisotropia indicada pela forma e a direção indicada pela cor. A direita um exemplo de tractografia com base das informações dos tensores, com as cores indicando as direções.

Combinação de DTI com fMRI

Este estudo possuiu inicialmente a proposta de obter informações de lateralização de memória episódica e combiná-las com imagens por tensor de difusão para avaliação conjunta de atividade cerebral com conectividade entre as regiões do cérebro. O tomógrafo disponível em nossa instituição não dispunha em sua programação protocolos para aquisição de imagens por tensor de difusão, adquirido posteriormente. Considerando as limitações do tomógrafo e da seqüência disponível, as imagens por tensor de difusão se mostraram com um baixo sinal ruído. Contudo, direcionamos nossos esforços no processamento dessas imagens, utilizando dois conjuntos de imagens: um obtido em nosso equipamento e em outro em um bancos de dados disponível para os que utilizam o *Brain Voyager™ QX*.

Inicialmente, avaliou-se a seqüência DTI disponibilizada para o tomógrafo Siemens Magnetom Vision, de 1,5 Tesla, que adquiri 6 direções não colineares. As imagens obtidas com 1 medida por imagem apresentaram muito ruído, não permitindo análises tractográficas. Para melhor a relação sinal-ruído, aumentamos a quantidade de medidas para 5 médias por imagem. Essa foi a melhor configuração para aumentar a relação sinal-ruído. Utilizar maior quantidade de leitura implicava no travamento do sistema do tomógrafo.

Além disso, a sequência permitia apenas 20 cortes, o que não abrange todo o cérebro. Para essa questão buscamos alternativas como realizar duas medidas com 20 imagens, com um deslocamento entre elas, para uma posterior intercalação. Dessa maneira teríamos 40 cortes cobrindo todo o cérebro. No entanto, essa abordagem não foi viável por mais uma limitação da sequência DTI. Após a aquisição das imagens o sistema do tomógrafo permanecia 10 minutos processando a reconstrução das imagens e impedindo que outras tarefas fossem executadas. Dez minutos entre duas aquisições que serão intercaladas acarreta em inserir artefato de movimento, prejudicando sua intercalação e co-registro.

Com base nessas limitações, procedemos com a aquisição das 20 imagens EPI em 6 direções com os seguintes parâmetros: matriz de 98x128, FoV de 240mm, TR/TE de 4000/100 ms, espessura da fatia de 3 mm, 5 medidas por imagem, tempo de aquisição da sequência de 32 segundos. Para todos os 7 pacientes do estudo obtivemos as imagens após o estudo fMRI para codificação e recuperação de memória. As imagens foram orientadas de modo a cobrir a região hipocampal. Utilizamos para o processamento o programa comercial *BrainVoyager™ QX*. Para comparação com nossos dados, utilizamos as imagens do banco de dados da comunidade que utiliza esse programa. Essas imagens foram adquiridas em um tomógrafo de 3T, utilizando: 31 direções, matriz de 128x128, espessura da fatia de 2 mm, 75 fatias cobrindo todo o cérebro.

As próximas imagens correspondem a geração de dois mapas: *MD* e *FA*. A figura 59 corresponde às imagens do banco de dados e os mapas da figura 60 as imagens obtidas de um dos pacientes avaliados. As imagens do banco de dados apresentam muito mais detalhe que as obtidas em nosso tomógrafo. Isso fica evidente quando se observa as imagens coronais dos mapas *FA*. A obtenção de apenas 20 cortes restringiu a área de análise. Além disso, tornou custoso o processo de co-registro com a imagem MRP de alta resolução espacial, necessitando de ajustes manuais.

Figura 59 - Mapa MD e FA para as imagens do banco de dados (31 direções).

Figura 60 - Mapa MD e FA para as imagens de um paciente (6 direções). Os outros pacientes apresentaram a mesma quantidade de ruído.

Na figura 61 apresentamos o mapa de cores indicando a direção das fibras com base nas informações do mapa FA. Após essa parte do processamento realizamos a tractografia.

Figura 61 – Mapa de cores indicando a direção dos tensores. A imagem superior corresponde ao processamento das imagens do banco de dados (31 direções) e a imagem inferior a de um paciente (6 direções).

A tractografia necessita de imagens com alta relação sinal-ruído e tensores obtidos com várias direções. Atendendo esses requisitos é possível estimar com maior precisão a direção dos tensores para um melhor traçado tractográfico. Um voxel abrange diversas fibras, que dependendo da orientação e arranjo gera informações que podem ser mal representadas com a utilização de imagens de baixa qualidade e com poucas direções (figura 62).

Figura 62 – Exemplos de situações em medidas DTI. A esquerda temos a mesma orientação das fibras, acarretando em uma boa estimativa da anisotropia. A direita temos o voxel abrangendo fibras em diversos sentidos, gerando uma anisotropia média desse conglomerado. Situações deste tipo têm implicações significativas na geração da tractografia.

Por fim, realizamos a tractografia com os dois grupos de imagens. Para gerar as informações da figura 61 definimos duas ROI: hipocampo direito e esquerdo. Com base nessas ROI traçamos os tratos utilizando a mesma ferramenta automática disponível pelo programa, retirando dessa forma a subjetividade do traçado manual. Nesse procedimento utiliza-se as informações dos tensores, que se estiverem bem estimados permitem bons traçados tractográficos. Isso é possível de observar nas imagens à esquerda da figura 63. O mesmo não ocorre para as imagens à direita, onde não ocorre a comunicação entre os hemisférios por duas razões: baixa quantificação dos tensores e falta de informação além dos cortes adquiridos. Além disso, utilizando as imagens funcionais para codificação de memória, combinamos a apresentação dessas duas técnicas para confirmação da possibilidade da utilização em futuras avaliações.

31 Direções - Tomógrafo de 3T

**6 Direções - Tomógrafo de 1,5T
- Combinação com fMRI -**

Figura 63 - Tractografia e combinação com fMRI. À esquerda temos a geração dos tractos automaticamente utilizando o banco de dados. À direita temos a combinação da fMRI com a tractografia, apesar de não ocorrer boa reconstrução devido à baixa determinação dos tensores.

No projeto inicial tínhamos como objetivo desenvolver um método de aquisição e análise padrão da técnica de DTI, além de protocolos para a apresentação da informação de DTI conjunta com as fMRI, gerando mapas da representação da distribuição das fibras nervosas. Através das seqüências disponíveis no nosso equipamento de IRM, adequamos a melhor forma de aquisição e análise dos dados de DTI. No entanto, a qualidade das imagens não foi suficiente para gerar consistentes informações de conectividade para complementar as imagens funcionais, que fazem parte do corpo principal desse estudo.

Apesar disso, os métodos de processamento estão definidos e implementados para que seja utilizado para estudos multimodais com o novo equipamento de 3T, recentemente instalado e em operação.

Comitê de Ética

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTE EM PROJETO DE PESQUISA

O planejamento cirúrgico e a decisão pela retirada do tecido epileptogênico acontece com uma cuidadosa análise, utilizando-se modernas técnicas de neuroimagem, com o intuito de preservar ao máximo as funções cerebrais. Nesse sentido, esse projeto visa desenvolver métodos capazes de disponibilizar informações com especial interesse nos processos de lateralização de memória. As ativações de memória ocorrerão com a apresentação de imagens, onde para cada uma delas responderei conforme o solicitado pelo pesquisador.

Estou consciente de que não receberei nenhum dinheiro para participar desta pesquisa e nenhuma vantagem, exceto o fato de que o exame poderá ser utilizado para ajudar no meu tratamento, qualquer alteração que for detectada será transmitida para meu médico e irá para o meu prontuário.

Meu nome não será revelado em qualquer publicação, sendo mantida minha privacidade. Tenho toda a liberdade para recusar ou não a participar desta pesquisa. Tenho toda a liberdade de retirar meu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento, por qualquer motivo, sem que isso possa prejudicar a continuidade do meu tratamento.

Assim, eu, _____, portador(a) do R.G. _____, declaro que concordo em participar do projeto de pesquisa chamado: "COMBINAÇÃO DE IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA COM IMA-GEM DE TENSOR DE DIFUSÃO PARA MAPEAMENTO DE MEMÓRIA EM PACIENTES COM EPI-LEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE.", após ter sido informado que o exame de "Ressonância Magnética" que irei fazer não causa nenhum mal a saúde, não sendo necessário receber nenhuma injeção ou qualquer outro procedimento doloroso. O único inconveniente é o barulho e a necessidade de ficar imóvel durante o exame, dentro do aparelho.

Ciente que o pesquisador responsável respondeu todas as minhas perguntas e tive toda a liberdade para recusar ou não a participar desta pesquisa, podendo em qualquer dúvida entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, ou ainda, no telefone, (16) 3602-3721, com Khallil Taverna Chaim, o autor deste projeto, assino abaixo estando de acordo com a realização desta pesquisa.

Ribeirão Preto, de de .

Assinatura do Paciente

Assinatura do Pesquisador Responsável

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA VOLUNTÁRIO EM PROJETO DE PESQUISA

O planejamento cirúrgico e a decisão pela retirada do tecido epileptogênico acontece com uma cuidadosa análise, utilizando-se modernas técnicas de neuroimagem, com o intuito de preservar ao máximo as funções cerebrais. Nesse sentido, esse projeto visa desenvolver métodos capazes de disponibilizar informações com especial interesse nos processos de lateralização de memória. As ativações de memória ocorrerão com a apresentação de imagens, onde para cada uma delas responderei conforme o solicitado pelo pesquisador.

Estou consciente de que não receberei nenhum dinheiro para participar desta pesquisa e nenhuma vantagem. Meu nome não será revelado em qualquer publicação, sendo mantida minha privacidade. Tenho toda a liberdade para recusar ou não a participar desta pesquisa. Tenho toda a liberdade de retirar meu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento, por qualquer motivo, sem que isso possa prejudicar a continuidade do meu tratamento.

Assim, eu, _____, portador(a) do R.G. _____, declaro que concordo em participar do projeto de pesquisa chamado: “COMBINAÇÃO DE IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA COM IMA-GEM DE TENSOR DE DIFUSÃO PARA MAPEAMENTO DE MEMÓRIA EM PACIENTES COM EPI-LEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE.”, após ter sido informado que o exame de “Ressonância Magnética” que irei fazer não causa nenhum mal a saúde, não sendo necessário receber nenhuma injeção ou qualquer outro procedimento doloroso. O único inconveniente é o barulho e a necessidade de ficar imóvel durante o exame, dentro do aparelho.

Ciente que o pesquisador responsável respondeu todas as minhas perguntas e tive toda a liberdade para recusar ou não a participar desta pesquisa, podendo em qualquer dúvida entrar em contato com o Comitê de Ética do Hospital da Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, ou ainda, no telefone, (16) 3602-3721, com Khallil Taverna Chaim, o autor deste projeto, assino abaixo estando de acordo com a realização desta pesquisa.

Ribeirão Preto, de de .

Assinatura do Voluntário

Assinatura do Pesquisador Responsável

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

www.hcrp.fmrp.usp.br

Ribeirão Preto, 20 de dezembro de 2006

Ofício nº 3692/2006
CEP/SPC

Prezado Senhor,

O trabalho intitulado **“COMBINAÇÃO DE IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA COM IMAGEM DE TENSOR DE DIFUSÃO PARA MAPEAMENTO DE MEMÓRIA EM PACIENTES COM EPILEPSIA DE DIFÍCIL CONTROLE”**, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, em sua 239ª Reunião Ordinária realizada em 18/12/2006, e enquadrado na categoria: **APROVADO, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, de acordo com o Processo HCRP nº 11461/2006.

Atenciosamente.

PROF. DR. SÉRGIO PEREIRA DA CUNHA
Coordenador do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimo Senhor
KHALLIL TAVERNA CHAIM
PROF. DR. DRÁULIO BARROS DE ARAÚJO (Orientador)
Centro de Ciências das Imagens e Física Médica

Comitê de Ética em Pesquisa HC e FMRP-USP - Campus Universitário
FWA - 0000 2733; IRB - 0000 2186
Fone (16) 3602-2228 - E-mail : cep@hcrp.fmrp.usp.br
Monte Alegre 14048-900 Ribeirão Preto SP