



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA E DE
COMPUTAÇÃO

Utilização dos Mapas de Coeficiente Aparente de Difusão para o Diagnóstico de Tumores Cerebrais in vivo

Edna Marina de Souza

Dissertação de Mestrado apresentada como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica. Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa

Co-orientadora: Profa. Dra. Gabriela Castellano

Campinas, 31 de Agosto de 2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA E ARQUITETURA - BAE - UNICAMP

So89u	<p>Souza, Edna Marina de Utilização dos mapas de coeficiente aparente de difusão para o diagnóstico de tumores cerebrais in vivo / Edna Marina de Souza. --Campinas, SP: [s.n.], 2011.</p> <p>Orientadores: Eduardo Tavares Costa, Gabriela Castellano. Dissertação de Mestrado - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação.</p> <p>1. Imagens de ressonância magnética. 2. Difusão. 3. Cérebro - Tumores. I. Costa, Eduardo Tavares. II. Castellano, Gabriela. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação. IV. Título.</p>
-------	---

Título em Inglês: Use of apparent diffusion coefficient maps for in vivo diagnostic of brain tumors

Palavras-chave em Inglês: Magnetic resonance imaging, Diffusion, Brain tumors

Área de concentração: Engenharia Biomédica

Titulação: Mestre em Engenharia Elétrica

Banca examinadora: Roberto José Maria Covolan, Pedro Xavier de Oliveira

Data da defesa: 31/08/2011

Programa de Pós Graduação: Engenharia Elétrica

COMISSÃO JULGADORA - TESE DE MESTRADO

Candidata: Edna Marina de Souza

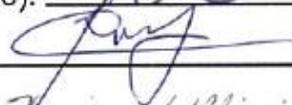
Data da Defesa: 31 de agosto de 2011

Título da Tese: "Utilização dos mapas de coeficiente aparente de difusão para o diagnóstico de tumores cerebrais in-vivo"

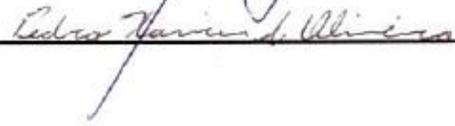
Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa (Presidente):



Prof. Dr. Roberto José Maria Covolan:



Prof. Dr. Pedro Xavier de Oliveira:



Dedicatória

Ao Criador e regente de todos os dons. À minha família, que sempre me motivou a continuar a caminhada mesmo nos momentos mais difíceis. Maria Cristina de Souza e Maria Joana de Souza, pelo extremo amor e apoio até o dia de hoje. Zilda Pires de Souza (in memoriam), que sempre me motivou a seguir os estudos e Osvaldo de Souza (in memoriam), que tanto sonhou com este trabalho e me pediu para continuar. Às pessoas que todos os dias lutam contra estas doenças.

Agradecimentos

À minha família, pelo amor e extremo apoio em todos os momentos.

Aos meus orientadores Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa e Profa. Dra. Gabriela Castellano, pela amizade, imenso apoio e oportunidade de realização do trabalho.

Aos amigos da Área de Física Médica do Centro de Engenharia Biomédica pela motivação e compreensão em todos os momentos.

Aos amigos do Laboratório de Neuroimagem, pela concessão das imagens, incentivo e ajuda ao longo do trabalho.

Ao neurocirurgião Maurício Martins Baldissin, pela amizade de vários anos, apoio aos estudos e à realização dos trabalhos.

Publicações Resultantes do Trabalho

- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2011. In uência da Região de Interesse nos Mapas de ADC de Sujeitos Normais Usados para Diagnóstico de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais do V Congresso Latinoamericano de Engenharia Biomédica, Havana, Cuba. IFMBE Proceedings.
- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2011. Influence of Brain ROI Location for ADC Maps Calculation for Reference Values to be Used in the *in vivo* Characterization of Brain Tumors MR Imaging. Annals of 18th International Conference of Medical Physics, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Trabalho aceito para publicação na Revista Brasileira de Física Médica.
- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2010. Utilização do Coeficiente Aparente de Difusão Obtido Através de Imagens de Ressonância Magnética na Diferenciação e Caracterização de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB), Tiradentes, Minas Gerais, Brasil.
- Souza E.M., Castellano G., 2009. Desenvolvimento de uma Ferramenta Computacional para o Cálculo de Mapas de ADC Aplicada ao Diagnóstico e Caracterização de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais das XVI Jornadas de Jóvenes Investigadores de La AUGM, Montevideo, Uruguay.

Resumo

Em geral, processos patológicos tais como as transformações neoplásicas das células tendem a alterar a magnitude da organização estrutural do tecido pela reorganização ou destruição de elementos membranosos ou por alterações de celularidade. Tais alterações refletem na mobilidade dos prótons que pode ser avaliada por imagens ponderadas por difusão (DW), a partir das quais são obtidos os mapas de Coeficiente Aparente de Difusão (ADC), que expressam a magnitude da difusão das moléculas de água em pontos de uma determinada região de interesse (ROI). O presente estudo teve por objetivo principal explorar a utilização destes mapas na diferenciação, em 2D e 3D, entre tecidos cerebrais saudáveis de indivíduos controle e tecidos tumorais de pacientes acometidos por glioblastoma multiforme ou meningioma, dois tipos de tumores cerebrais de grande incidência e que podem, dependendo da localização, serem confundidos entre si em imagens de ressonância magnética (RM) estruturais. Secundariamente, foi avaliada a influência da posição das ROIs 3D usadas para calcular os valores de ADC de controles, e também a influência (nos valores de ADC destes indivíduos) de incluir ou excluir os ventrículos laterais destas ROIs. Os mapas de ADC foram calculados a partir de imagens de RM ponderadas por T_2 e difusão, utilizando uma rotina computacional desenvolvida em estudos anteriores. A partir destes mapas, verificou-se que em 2D as médias dos valores de ADC encontrados para glioblastomas, meningiomas e tecidos saudáveis do grupo controle foram, respectivamente, $2,6 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$, $4,88 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$ e $8,99 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$, com valor de $p < 0,05$, indicando a existência de diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, confirmadas através de um teste ANOVA e da análise de Bonferroni. Nas análises 3D, as médias de valores de ADC obtidas para os mesmos três grupos foram respectivamente $2,83 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$, $5,37 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$ e $9,27 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$. Um teste ANOVA realizado entre os grupos controle e os dois grupos de pacientes demonstrou haver diferenças significantes entre eles ($p < 0,05$). A análise de Bonferroni confirma a distinção entre tecidos cerebrais saudáveis de indivíduos controle e glioblastomas, mas aponta para a indistinção entre tecidos cerebrais saudáveis

e meningiomas. A análise dos valores de ADC 3D do grupo controle com e sem presença de porções dos ventrículos laterais nas ROIs mostrou que pequenas porções de ventrículos não interferem significativamente na possibilidade de distinção entre tecidos cerebrais saudáveis e os tumores estudados.

Palavras-chave: imagens de ressonância magnética, difusão, cérebro - tumores.

Abstract

In general, pathologic processes, such as neoplastic cell changes, tend to alter the magnitude of structural organization by destruction or reorganization of membranous elements or by a change in cellularity. These changes will also have an impact on proton mobility, which can be followed up by Diffusion-Weighted Imaging (DWI). From DWI is obtained the ADC (Apparent Diffusion Coefficient) map, which is a representation of the magnitude of water diffusion at points of a given region of interest (ROI). The present study explored the use of 2D and 3D ADC maps for the distinction between healthy brain tissue of controls and tumor tissue of patients with glioblastoma multiforme or meningioma. These high-incidence brain tumors can be confused in structural MR images. Secondly, we evaluate the influence of ROI location in the brain regarding ADC control values, and the influence of position of 3D ROIs used for calculate ADC values of controls and evaluate the effect of inclusion or exclusion of lateral ventricles in these ROIs. ADC maps were calculated from MRI T_2 and DWI using a computational tool developed in previous studies. From the 2D ADC maps, the mean ADC values found for glioblastomas, meningiomas and healthy brain tissue were $2.6 \times 10^{-4} mm^2/s$, $4.88 \times 10^{-4} mm^2/s$ and $8.99 \times 10^{-4} mm^2/s$, respectively. The analysis of variance (ANOVA) resulted in p-value $< 0,05$, indicating the existence of significant differences between these groups, confirmed by using of the Bonferroni analysis. In the 3D analysis, the mean ADC values obtained for the same three groups were respectively $2.83 \times 10^{-4} mm^2/s$, $5.37 \times 10^{-4} mm^2/s$ and $9.27 \times 10^{-4} mm^2/s$. The ANOVA resulted in p-value < 0.05 . In this case, the Bonferroni analysis confirms the distinction between healthy brain tissue and glioblastoma, but points to the difficulty of distinction between healthy brain tissue and meningioma. The analysis of 3D ADC values in the control group with and without the presence of portions of the lateral ventricles in the ROIs showed that small amounts of the ventricles does not significantly interfere with the ability to distinguish between healthy brain tissue and tumors studied.

Key-words: magnetic resonance imaging, diffusion, brain tumors.

Lista de Siglas e Abreviaturas

- *ADC* - Coeficiente Aparente de Difusão (do inglês Apparent Diffusion Coefficient)
- *ANOVA* - Análise da Variância
- *AVC* - Acidente Vascular Cerebral
- *CT* - Tomografia Computadorizada (do inglês Computed Tomography)
- *DW* - Ponderação por Difusão (do inglês Diffusion-Weighted)
- *DWI* - Imagens Ponderadas por Difusão (do inglês Diffusion-Weighted Imaging)
- *EPI* - Imagens Eco-Planares (do inglês Echo-Planar Imaging)
- *FLAIR* - Inversão-Recuperação com Atenuação de Fluido (do inglês Fluid Attenuation Inversion-Recovery)
- G_{diff} - Gradiente de Ponderação por Difusão
- *GF* - Gradiente de Codificação de Frequência
- *GP* - Gradiente de Codificação de Fase
- *GS* - Gradiente de Seleção da Fatia
- *MIM* - Maximização da Informação Mútua
- *MLM* - Modelo Logístico Modificado
- *MPA* - Modelo Migração-Proliferação-Apoptose
- *PET* - Tomografia por Emissão de Pósitrons (do inglês Positron Emission Tomography)

-
- *RF* - Radiofrequência
 - *RM* - Ressonância Magnética
 - *ROI* - Região de Interesse (do inglês Region of Interest)
 - *SNC* - Sistema Nervoso Central
 - *SPECT* - Tomografia por Emissão de Fótons de Única Energia (do inglês Single Photon Emission Computed Tomography)
 - *SUV* - Valor Padrão de Captação (do inglês Standard Uptake Value)
 - *TA*- Transformação Afim
 - *TE* - Tempo de Eco
 - *TR* - Tempo de Repetição

Lista de Figuras

Figura 3.1: Etapas de desenvolvimento do SNC humano.

Figura 3.2: Localização dos lobos cerebrais.

Figura 5.1: Células piramidais.

Figura 5.2: Representação esquemática de um axônio.

Figura 6.1: Sequência de Pulsos SE para Aquisição de imagens de RM.

Figura 6.2: Sequência de Pulsos SE para Aquisição de imagens DW.

Figura 7.1: Exemplo de uma imagem digital em níveis de cinza.

Figura 7.2: Segmentação de imagens utilizando Morfologia Matemática.

Figura 7.3: Fusão de uma imagem estrutural de CT com uma imagem funcional de PET.

Figura 7.4: Exemplos de diferentes tipos de transformações aplicadas a um quadrado.

Figura 8.1: Diagrama de blocos que sintetiza as etapas de desenvolvimento do trabalho.

Figura 9.1: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 2D.

Figura 9.2: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por glioblastoma multiforme - ROIs 2D.

Figura 9.3: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por meningioma - ROIs 2D.

Figura 9.4: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados.

Figura 9.5: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 3D - com inuência dos ventrículos laterais.

Figura 9.6: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 3D - sem inuência dos ventrículos laterais.

Figura 9.7: Distribuição das diferenças entre os valores de ADC médios calculados para indivíduos controle com e sem a influência dos ventrículos laterais.

Figura 9.8: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por glioblastoma multiforme - ROIs 3D.

Figura 9.9: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por meningeoma - ROIs 3D.

Figura 9.10: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados, considerando-se os valores de ADC obtidos em ROIs 3D. Análise feita considerando os valores de ADC do grupo controle com influência dos ventrículos laterais.

Figura 9.11: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados, considerando-se os valores de ADC obtidos em ROIs 3D. Análise feita considerando os valores de ADC do grupo controle sem influência dos ventrículos laterais.

Figura A1.1: Fatias selecionadas para determinação dos valores de ADC - 2D para o grupo controle.

Figura A1.2: Fatias selecionadas para determinação dos valores de ADC - 2D para os pacientes acometidos por glioblastoma.

Figura A1.3: Fatias selecionadas para determinação dos valores de ADC - 2D para os pacientes acometidos por meningeoma.

Figura A2.1: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 1 acometido por glioblastoma.

Figura A2.2: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 3 acometido por glioblastoma.

Figura A2.3: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 8 acometido por meningeoma.

Figura A2.4: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 1, acometido por glioblastoma multiforme.

Figura A2.5: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 3, acometido por glioblastoma multiforme.

Figura A2.6: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 7, acometido por glioblastoma multiforme.

Figura A2.7: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 4 acometido por meningioma.

Figura A2.8: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 5 acometido por meningioma.

Figura A2.9: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 6 acometido por meningioma.

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Valores de ADC médios encontrados na literatura para tecidos cerebrais saudáveis, glioblastomas e meningiomas.

Tabela 8.1: Características da população estudada.

Tabela 8.2: Características das imagens utilizadas no estudo.

Tabela 8.3: Programas utilizados para o desenvolvimento do estudo e suas correspondentes funções.

Tabela 9.1: Resultados da análise da variância dos valores de ADC obtidos em 2D e 3D.

Tabela 9.2: Comparação dos valores médios de ADC obtidos em 2D e 3D no estudo com aqueles encontrados na literatura.

Tabela 9.3: Análise de Bonferroni realizada para o grupo controle - ROIs 3D.

Tabela 9.4: Resultados das análises de Bonferroni realizadas para os valores de ADC obtidos em 2D e 3D para pacientes e controles.

Sumário

Dedicatória	v
Agradecimentos	vii
Publicações Resultantes do Trabalho	ix
Resumo	xi
Abstract	xiii
Lista de Siglas e Abreviaturas	xv
Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
1 Introdução e Objetivos	1
2 Revisão da Literatura	5
3 Sistema Nervoso Central	15
3.1 O Cérebro	16

SUMÁRIO

4	Tumores Cerebrais	21
4.1	Glioblastoma Multiforme	22
4.2	Meningeoma	25
5	Difusão	29
5.1	Leis de Fick	30
5.1.1	Primeira Lei de Fick	30
5.1.2	Equação de Continuidade	30
5.1.3	Segunda Lei de Fick: Equação de Difusão	31
5.2	Difusão em Presença de Convecção e Reações Químicas	32
5.3	Aspectos Microscópicos da Difusão	33
5.4	Difusão de Moléculas de Água no Sistema Nervoso Central	34
6	Difusão e Ressonância Magnética	37
6.1	Noções Básicas de Ressonância Magnética	37
6.2	Imagens de Ressonância Magnética Ponderadas por Difusão	41
7	Processamento de Imagens	45
7.1	Imagens Digitais	45
7.2	Segmentação de Imagens	46
7.3	Corregistro de Imagens (Fusão de Imagens)	47
7.3.1	Transformações de Corpo Rígido (Transformações Afins)	49
7.3.2	Entropia	50
7.3.3	Maximização da Informação Mútua	51
8	Metodologia	53
8.1	Aspectos Éticos, População Estudada e Aquisição das Imagens	53
8.1.1	Aspectos Éticos da Pesquisa	53
8.1.2	População Estudada	53
8.1.3	Imagens Utilizadas	54

SUMÁRIO

8.2	Processamento de Imagens, Cálculo dos Mapas de ADC e Análise de Dados	55
8.2.1	Processamento das Imagens T_2 e DW	55
8.2.2	Cálculo dos Mapas de ADC	57
8.2.3	Determinação do Valor Médio de ADC 2D para o Grupo Controle e Pacientes	58
8.2.4	Determinação do Valor Médio de ADC 3D para o Grupo Controle e Pacientes	59
8.2.5	Análise de Dados	60
9	Resultados e Discussão	63
9.1	Valores de ADC obtidos em ROIs 2D	63
9.2	Valores de ADC obtidos em ROIs 3D para o Grupo Controle	67
9.3	Valores de ADC obtidos em ROIs 3D para pacientes e controles.	68
9.4	Discussão Geral dos Resultados	68
10	Conclusões e Perspectivas Futuras	77
	Referências Bibliográficas	81
11	Apêndice 1 - Mapas de ADC 2D	89
12	Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D	91

Introdução e Objetivos

No Brasil, mais de 500 mil casos de câncer foram registrados no ano de 2010 e em torno de 150 mil brasileiros morreram em decorrência da doença (INCA, 2010). Trata-se da segunda maior causa de óbitos no país, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Dada a constante elevação da incidência da doença é necessário o desenvolvimento e utilização de técnicas e ferramentas diagnósticas que viabilizem sua detecção e caracterização em estágios iniciais, aumentando a probabilidade de cura e contribuindo para a melhoria na qualidade de vida dos pacientes.

Em relação ao Sistema Nervoso Central (SNC), os tumores cerebrais são os que apresentam maior incidência, destacando-se dentre eles o glioblastoma multiforme e os meningiomas. O primeiro é extremamente agressivo, podendo levar o paciente a óbito em poucos meses. Por outro lado, meningiomas são benignos na maioria dos casos, sendo o grau histológico determinado de acordo com os padrões celulares e de secreção encontrados. Em imagens de ressonância magnética (RM) estruturais, o glioblastoma pode ser visualizado como uma lesão superficial em contato com as leptomeninges e a dura-máter, assemelhando-se a um meningioma. Desta forma, torna-se necessária a utilização de outros métodos diagnósticos para a distinção entre estes dois tipos de tumores.

Atualmente, o estudo de tumores pode ser realizado com a utilização de combinações de técnicas de aquisição de imagens estruturais e funcionais do paciente, exemplos das quais são o

1. Introdução e Objetivos

PET-CT (Tomografia por Emissão de Pósitrons combinada com Tomografia Computadorizada) e o SPECT-CT (Tomografia por Emissão de Fóton de Única Energia combinada com Tomografia Computadorizada). A combinação de técnicas de medicina nuclear (SPECT e PET), que fornecem imagens funcionais, com a Tomografia Computadorizada, que fornece imagens estruturais, possibilita a localização de atividades metabólicas em órgãos ou tecidos do organismo. Para a realização destes estudos é necessária a administração de radiofármacos (fármacos associados a radioisótopos) no organismo do paciente. Para a aquisição de imagens de RM, por outro lado, não é necessária a administração de agentes de contraste na maioria dos casos. Isso porque a manipulação dos parâmetros de aquisição possibilita a obtenção de imagens estruturais de alta resolução espacial, bem como de imagens funcionais. O grande número de parâmetros envolvidos na aquisição destas imagens possibilita a adequação do método aos mais variados problemas clínicos.

Dentre a grande diversidade de técnicas disponíveis, a aquisição de imagens de RM ponderadas por Difusão (DWI - Diffusion Weighted Imaging) possibilita a obtenção de informações anatômicas e funcionais mediante a quantificação da difusão, ou seja, movimentação dos prótons de água no organismo. Nesta técnica, o contraste é determinado pelo movimento randômico (movimento Browniano) dos prótons através e ao longo dos tecidos. Em processos patológicos, tais como alterações neoplásicas das células, ocorrem modificações na organização estrutural e funcional dos tecidos, com a formação e destruição de diversas barreiras e compartimentos intra e extracelulares e/ou alterações de celularidade. Estas alterações, por sua vez, impactam na mobilidade das moléculas de água, que pode ser avaliada através das imagens DW e dos mapas de Coeficiente Aparente de Difusão (ADC), obtidos a partir dessas imagens.

Em estudos do Sistema Nervoso Central (SNC), imagens DW e mapas de ADC aumentaram a habilidade diagnóstica em diversas condições patológicas que acometem o cérebro e a medula espinhal, dentre as quais se destacam a detecção e a caracterização do acidente vascular cerebral (AVC) na fase aguda, quando ainda é possível evitar ou ao menos a minimizar a ocorrência de sequelas. No entanto, atualmente, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas explorando o potencial da técnica para a diferenciação entre diferentes tipos de tecidos cerebrais saudáveis, bem como entre tecidos cerebrais saudáveis e patológicos, mostrando-se de grande utilidade para fins de diagnóstico de tumores cerebrais. Grande parte dos mais avançados centros de diagnóstico adquirem

1. Introdução e Objetivos

imagens DW não somente em situações específicas, mas sim como parte da maioria dos protocolos de aquisição de imagens da rotina clínica, especialmente na investigação de patologias cerebrais. A informação derivada das medidas de difusão pode melhorar a compreensão dos processos patológicos e conseqüentemente influenciar a abordagem terapêutica a ser empregada, sendo pois de extremo interesse o conhecimento e a exploração desta técnica tanto em protocolos clínicos quanto em pesquisas.

Dado o potencial dos mapas de ADC, obtidos a partir de técnicas de RM, para a investigação e compreensão de processos patológicos, o presente estudo teve por objetivo principal explorar a utilização destes mapas na diferenciação entre tecidos cerebrais sadios de indivíduos controle e tecidos tumorais de pacientes acometidos por glioblastoma multiforme ou meningioma, dois tipos de tumores cerebrais de grande incidência e que podem, dependendo da localização, ser confundidos entre si em imagens de RM estruturais. Secundariamente, foi avaliada a influência dos ventrículos laterais nas regiões de interesses (ROI's - Regions of Interest) utilizadas para cálculo dos valores de ADC de tecidos cerebrais sadios de indivíduos controle.

Revisão da Literatura

De maneira simplificada, difusão é um fenômeno tridimensional observado na natureza, no qual partículas são transportadas de regiões de maior concentração de soluto para regiões de menor concentração. Ela é descrita pelas Leis de Fick, que apresentam sua dependência com a concentração e o fluxo de partículas entre dois compartimentos (FRIEDMAN, 2008). No caso de partículas livres, a difusão é regida pelo movimento browniano (randômico), cujas bases físicas para a compreensão foram dadas por Einstein (EINSTEIN, 1956), que computou a magnitude esperada do movimento de pequenas partículas de soluto em um líquido.

Com relação à RM, a descrição matemática da influência dos fenômenos de difusão nas Equações de Bloch foi apresentada em 1956 por H.C. Torrey. Ele adicionou a estas equações os termos provenientes da transferência de magnetização por difusão, sendo as equações resultantes da modificação conhecidas como Equações de Bloch-Torrey (TORREY, 1956). O sinal obtido nestas equações, decorrente do decaimento da magnetização transversal, apresenta pela primeira vez a constante de difusão, além de possuir uma dependência cúbica com o tempo. Isso mostra que, mediante a ocorrência de difusão, o decaimento da magnetização transversal é mais acentuado. A recuperação da magnetização longitudinal não apresenta dependência considerável com o fenômeno de difusão.

No SNC, a manutenção da homeostasia está intimamente relacionada aos processos de difusão. O transporte de organelas celulares como a mitocôndria pode ser efetuado através dos

2. Revisão da Literatura

axônios por difusão (HOLLENBACK et al., 2005). Vesículas contendo neurotransmissores também são transportadas em direção às fendas sinápticas pelo mesmo mecanismo. Estes processos sofrem influência de fatores físico-químicos como o peso molecular, interações intermoleculares e temperatura do meio, além da presença de barreiras e compartimentos (intra e extracelulares, neurônios, axônios, células gliais etc) criados pela própria microestrutura celular dos tecidos. A presença destas estruturas faz com que o coeficiente de difusão medido através de imagens de RM não seja uma medida absoluta, dada a dependência com interações entre moléculas que se difundem em estruturas vizinhas em determinado intervalo de tempo. Em função disso, o coeficiente de difusão obtido através de imagens de RM é denominado Coeficiente Aparente de Difusão (ADC) (NORRIS, 2001).

Em sistemas biológicos, a difusão pode ocorrer de forma isotrópica (homogênea em todas as direções) ou anisotrópica (seguindo uma direção preferencial). Inicialmente acreditava-se que a difusão anisotrópica ocorria, no SNC, somente em tractos e fibras axonais revestidos por mielina, na substância branca do cérebro. No entanto, atualmente sabe-se que a substância cinzenta também apresenta estruturas onde a difusão de moléculas de água ocorre de forma anisotrópica, sendo exemplo destas a célula piramidal (NORRIS, 2001).

Imagens ponderadas por difusão (DW) pertencem à categoria de imagens funcionais por revelarem aspectos microscópicos relacionados à fisiologia dos tecidos, com base nas características de difusão das moléculas de água através deles. Toma-se como base esta molécula em função de sua abundância no organismo humano e o fato de o hidrogênio apresentar spin nuclear diferente de zero, condição esta necessária para a obtenção de imagens de RM. Imagens DW e mapas de ADC tiveram sua consagração na prática clínica para o diagnóstico de Acidentes Vasculares Cerebrais (AVCs) na fase aguda (EVERDINGEN et al., 1998), bem como para classificar o AVC como isquêmico ou não isquêmico. Nessa fase é possível a realização de intervenções terapêuticas como a trombólise, caso não haja focos hemorrágicos significativos. Estas intervenções têm por objetivo evitar ou minimizar sequelas da doença. Imagens de Tomografia Computadorizada (CT) ou mesmo imagens de RM estruturais só são capazes de detectar o AVC várias horas após a sua ocorrência, quando a chance de sucesso das intervenções mencionadas é extremamente baixa ou as mesmas passam a ser de alto risco para o paciente. Além desta aplicação, mapas de ADC mostram

2. Revisão da Literatura

sua importância no diagnóstico e caracterização de tumores cerebrais, possibilitando a distinção entre esta e outras patologias, bem como a distinção entre diferentes tipos de tumores, sendo esta aplicação descrita nos parágrafos seguintes, com base em informações contidas na literatura atual.

Segundo Moritani e colaboradores (MORITANI et al., 2005), para tecidos cerebrais saudáveis o valor médio de ADC encontrado em regiões do cérebro onde há substâncias branca e cinzenta situa-se em torno de $(7,6 \pm 1,3 \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s})$ para indivíduos adultos. Pequenas variações deste valor são encontradas na literatura. Os mesmos autores afirmam que glioblastomas multiformes são hiperintensos nas imagens DW e apresentam valores de ADC reduzidos, refletindo uma redução no volume do espaço extracelular. Estes achados vêm sendo correlacionados com a celularidade e o grau do tumor. Tumores de maior celularidade são mais densos, sem padrão definido, dificultando assim a passagem de moléculas de água através deles e nos arredores. A diminuição dos valores de ADC destes tumores em relação a outros e em relação aos tecidos cerebrais saudáveis é atribuída também ao aumento do tamanho do núcleo das células tumorais. Kwee e colaboradores encontraram, para estes tumores, valores de ADC em torno de $(1,14 \pm 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s})$ (KWEE et al., 2010). Gliomas de baixo grau, por outro lado, apresentam valores de ADC maiores, podendo estes até serem próximos aos obtidos para tecidos cerebrais saudáveis.

As características dos meningiomas nas imagens DW variam bastante, dada a grande variabilidade de meningiomas descritos. Segundo Cabada et al. (CABADA et al., 2009), meningiomas benignos são isointensos nas imagens DW e nos mapas de ADC, podendo-se encontrar também alguns levemente hiperintensos tanto nas imagens DW quanto nos mapas de ADC. No caso de meningiomas malignos ou atípicos, fatores como a presença de áreas multifocais de necrose, numerosas áreas de elevada atividade mitótica e o pleomorfismo citológico podem fazer com que estes tumores sejam hiperintensos nas imagens DW e tenham valores de ADC baixos. Os valores de ADC para meningiomas benignos também são bastante próximos aos encontrados para tecidos cerebrais saudáveis (em torno de $(7,6 \pm 1,3) \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$). A Tabela 2.1 apresenta os valores de ADC médios encontrados na literatura para tecidos cerebrais saudáveis, glioblastomas e meningiomas.

Para o diagnóstico de gliomas, valores de ADC médios dos tumores calculados anteriormente à realização de intervenções cirúrgicas foram correlacionados com a densidade de células neoplásicas extraídas por meio de biópsia estereotáxica. Os resultados obtidos mostram que

2. Revisão da Literatura

Tabela 2.1: Valores de ADC médios encontrados na literatura para tecidos cerebrais saudáveis, glioblastomas e meningiomas.

	ADC MÉDIO (mm²/s)	REFERÊNCIA
Tecidos cerebrais saudáveis	$7,6 \times 10^{-4}$	(Moritani et al 2005)
Glioblastoma	$1,14 \times 10^{-4}$	(Kwee et al 2010)
Meningioma	$7,6 \times 10^{-4}$	(Kono et al 2001)

a densidade de células tumorais é inversamente proporcional ao valor de ADC médio no tumor. A sensibilidade média calculada, considerando-se um intervalo de confiança de 95%, foi de $1,01 \times 10^{-7} [mm^2/s] / [nucleo/mm^2]$ (ELLINGSON et al., 2010).

Kono e colaboradores aplicaram mapas de ADC e imagens DW na tentativa de inferir o grau histológico de tumores cerebrais. Foram estudados 56 pacientes com diagnóstico clínico e/ou histologicamente confirmado de tumores cerebrais, sendo 17 gliomas (9 glioblastomas e 8 gliomas de grau II), 21 tumores metastáticos e 18 meningiomas (8 fibrosos, 8 meningoteliais e 2 transicionais). Os mapas de ADC foram obtidos diretamente do equipamento de RM utilizado, sendo os valores de ADC médios dos tumores determinados em ROIs 2D desenhadas manualmente na estação de processamento do scanner de RM. Neste estudo, foi possível a distinção entre meningiomas, metástases e os gliomas. No entanto, questionou-se a utilização da técnica para a distinção entre gliomas de vários graus, dado que os valores de ADC de 3 dos 8 gliomas de grau II estudados eram inferiores aos dos glioblastomas. A distinção entre vários tipos de meningiomas também não foi possível. Contudo, como os valores de ADC médios dos tumores diminuem com o aumento da celularidade dos mesmos, a técnica mostrou-se útil para a inferência do grau histológico dos tumores KONO et al., 2001).

Em imagens de RM e CT estruturais, glioblastomas multiformes podem apresentar aspectos semelhantes às lesões metastáticas solitárias. Contudo, em DWI observa-se no caso destes gliomas, a ocorrência de infiltração de células malignas na região peritumoral, concomitantemente à ocorrência de edema vasogênico. No caso das metástases, a região peritumoral é constituída somente por edema vasogênico. Dadas as características destes tumores, foi realizado um estudo

2. Revisão da Literatura

com o objetivo de determinar um valor mínimo de ADC que pudesse ser empregado para a diferenciação entre eles, com base nos níveis de celularidade e realce das imagens na região peritumoral (MA et al., 2010). Foram adquiridas imagens de RM estruturais e de difusão de 17 pacientes (10 glioblastomas e 7 metástases) anteriormente à realização de qualquer modalidade de terapia. Para verificar a existência de diferenças significativas entre os valores de ADC da região peritumoral destes dois grupos utilizou-se o valor mínimo e a razão entre os valores de ADC médios obtidos para cada um dos grupos, sendo determinado um valor de corte do ADC com melhor sensibilidade e especificidade para a distinção entre estes tumores. Obteve-se o valor mínimo de ADC igual a $1,302 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/s$, com 82,9% de sensibilidade e 78,9% de especificidade, possibilitando a distinção entre metástases solitárias e glioblastomas.

Chenevert e colaboradores realizaram um estudo para avaliar o potencial das imagem DW como marcadoras da resposta ao tratamento de tumores cerebrais com Carmustina. Este composto causa o cross-link nas fitas de DNA e RNA, evitando a replicação dos mesmos e levando à morte celular (CHENEVERT et al., 2000). Para isso, foram adquiridas imagens DW de ratos que apresentavam tumores de células gliais decorrentes da implantação de células tumorais em seus cérebros. A efetividade da terapia foi avaliada entre 6 e 8 semanas após a conclusão do ciclo de tratamento do tumor. Como resultado, observou-se a existência de uma elevada correlação entre os valores de ADC e as alterações na celularidade do tumor. Quanto maior a redução na celularidade, maior o valor de ADC encontrado, sugerindo que mapas de ADC podem ser potenciais marcadores da resposta às terapias, contribuindo tanto para o conhecimento da fisiologia da lesão quanto para a definição das abordagens terapêuticas.

O cálculo dos valores de ADC pode também ser realizado com a utilização de máscaras obtidas a partir de imagens de RM de outras modalidades, tais como imagens ponderadas por $T1$ com aplicação de contraste à base de gadolínio. O realce dos efeitos de suscetibilidade magnética pode ser associado aos valores de ADC para a distinção entre tumores cerebrais primários, necrose e outras lesões causadas por radioterapia e quimioterapia. A suscetibilidade magnética fornece informações clínicas bastante úteis sobre alterações microvasculares que ocorrem na periferia do tumor, o grau de necrose intratumoral e a ocorrência de danos à barreira hemato-encefálica. Um estudo analisou 17 pacientes com diagnóstico de glioma de alto grau e que apresentavam novas

2. Revisão da Literatura

lesões hiperintensas nas imagens ponderadas por $T1$ realçadas por contraste à base de gadolínio, realizadas durante e após o tratamento. Todas as imagens foram normalizadas no espaço-padrão e a partir das imagens ponderadas por $T1$ contrastadas obteve-se, para cada paciente, uma máscara correspondente à lesão detectada visualmente (LI et al., 2011). As imagens de RM ponderadas por difusão foram então corregistradas nas imagens $T1$ contrastadas e a máscara obtida aplicada à imagem resultante do corregristo, de maneira a se obter o ADC médio na lesão. Dos 17 pacientes acompanhados, 11 apresentavam sintomatologia que sugeria recorrência do tumor. Destes 11 pacientes, 10 apresentaram redução significativa nos valores de ADC na região de aplicação da máscara, ainda que não tenha sido constatado aumento de volume tumoral na volumetria baseada em voxels (VBM). Destes 10 pacientes, 5 apresentavam tumor recorrente. Os 6 pacientes que não apresentavam sintomatologia condizente com a recorrência do tumor apresentaram aumento de volume na região de aplicação da máscara e valores de ADC um pouco superiores aos obtidos anteriormente ao tratamento, caracterizando a presença de edema peritumoral. Estes pacientes tiveram confirmação de danos causados pelo tratamento radioterápico e quimioterápico. A recorrência do tumor ou a presença de uma lesão causada pela radioterapia foi posteriormente confirmada por meio de análises histológicas, quando possível a realização de biópsia, ou em longo prazo, pelo acompanhamento do paciente.

Além dos mapas de ADC propriamente ditos, o cálculo do histograma dos valores de ADC vem sendo utilizado na avaliação da resposta de tumores cerebrais a diversas modalidades terapêuticas. Um estudo realizado com pacientes que apresentavam gliomas de alto grau empregou histogramas de valores de ADC para a avaliação da resposta à terapia anti-angiogênica baseada em anticorpos monoclonais (POPE et al., 2010). Dos 14 pacientes estudados, 6 apresentavam glioblastoma multiforme. Todos os pacientes recebiam a cada duas semanas 10 mg de Bavacizumab por quilograma de massa corporal. Este medicamento, que pode ser incluído na quimioterapia, reduz consideravelmente a angiogênese (formação de vasos sanguíneos) no tumor, privando-o de oxigênio e nutrientes, o que pode levar à redução de sua atividade mitótica. Após o tratamento, os pacientes foram separados em dois grupos (responsivos e não responsivos à terapia), com base na evolução clínica e nos mapas de ADC calculados. Observou-se que a assimetria dos histogramas dos valores médios de ADC dos tumores dos pacientes responsivos ao tratamento era positiva, ou

2. Revisão da Literatura

seja, na maioria dos casos se obteve redução dos valores médios de ADC dos tumores. O contrário foi observado no grupo de pacientes não responsivos.

Embora grande parte dos trabalhos que empregam mapas de ADC para o estudo de tumores cerebrais esteja voltada para o diagnóstico de glioblastomas no estágio inicial da doença (OYAMA et al., 2010; LI et al., 2011), a técnica pode ser utilizada na caracterização de tumores raros e de comportamento pouco conhecido, tais como os astrocitomas protoplasmáticos. Apesar de serem categorizados como gliomas de baixo grau, sugere-se que eles apresentem diferenças biológicas em relação aos demais tumores de mesmo grau. Em imagens de RM ponderadas por T_2 e FLAIR (do inglês Fluid Attenuation Inversion-Recovery), estes tumores apresentam supressão de sinal na porção mais interna, podendo ser confundidos com tumores neuroepiteliais disemбриoplásicos (DNTs), sendo ambos comuns em pacientes jovens que apresentam crises epiléticas como principal sintoma. Na análise histológica estes tumores também podem ser confundidos. Um estudo mostrou que astrocitomas protoplasmáticos apresentam no mapa de ADC uma região em forma de anel que apresenta valores de ADC reduzidos em relação aos tecidos vizinhos, o que sugere tratar-se de uma região de elevada celularidade. DNTs, por outro lado, apresentam uma região triangular de valores de ADC reduzidos, sendo estas prováveis configurações celulares condizentes com achados histológicos característicos destes tumores (TAY et al., 2010).

Apesar da utilidade para inferência do grau do tumor, o uso de mapas de ADC para demarcação da extensão da infiltração do tumor é controversa, principalmente em relação a tumores de baixo grau. Nestes casos, a imprecisão na delimitação é gerada por efeitos da combinação entre as imagens T_2 e DW. Isso porque embora estas imagens sejam adquiridas sequencialmente, com o paciente na mesma posição, pequenos deslocamentos gerados até mesmo por movimentos fisiológicos podem desalinhar os voxels de uma imagem em relação à outra, efeito este que pode ser minimizado com o emprego do corregristo das imagens DW nas imagens T_2 , tal como foi realizado no presente trabalho. Para tumores biologicamente diferentes, mas que podem apresentar características semelhantes em imagens de CT e RM estruturais, tais como os glioblastomas e os meningiomas, Bastin e colaboradores mostraram que os valores de ADC da porção sólida dos tumores e dos edemas peritumorais são distintos (BASTIN et al., 2002).

Imagens DW e mapas de ADC também vêm sendo utilizados para classificação de ede-

2. Revisão da Literatura

mas cerebrais (acúmulo do excesso de fluido no interior de células ou no espaço extracelular). Os edemas podem ser vasogênicos, citotóxicos (celulares) ou intersticiais, sendo que os dois primeiros usualmente coexistem em condições patológicas como AVCs, traumas ou esclerose múltipla. Imagens de RM estruturais ponderadas por $T2$ possibilitam a detecção do edema, mas não a sua caracterização, sendo esta de extrema importância para conhecimento da fisiologia da lesão a ele associada. Segundo Ebisu e colaboradores, edemas vasogênicos são maiores e mais anisotrópicos, enquanto edemas citotóxicos apresentam menor anisotropia e menores valores de ADC quando comparados à substância branca normal. Edemas intersticiais, tais como os observados em pacientes com hidrocefalia, são fortemente anisotrópicos e apresentam valores de ADC muito maiores que os da substância branca normal (EBISU et al., 1993).

Fora as aplicações clínicas mencionadas, imagens DW também estão sendo utilizadas como entrada inicial para a modelagem matemático-computacional da proliferação de tumores cerebrais. A vantagem na utilização destas imagens em relação às imagens estruturais está na possibilidade de consideração de parâmetros como a taxa líquida de invasão dos tecidos circundantes, nível de hipóxia e o impacto mecânico do crescimento do tumor sobre as células vizinhas. Com a inserção dos dados obtidos através das imagens DW de tumores cerebrais em modelos matemáticos de desenvolvimento do tumor torna-se possível fazer inferências com relação ao comportamento da doença em suas diferentes fases. Dois exemplos de modelos da proliferação de células de tumores cerebrais atualmente em desenvolvimento são o Modelo Logístico Modificado (MLM) e o Modelo Migração-Proliferação-Apoptose (MPA) (NKIRUKA et al., 2010). O MLM considera a existência de três camadas de células tumorais: um anel de proliferação celular, um anel de células quiescentes e uma porção central necrótica. De acordo com este modelo, à medida que o tumor se desenvolve, boa parte dele passa a ser constituída por células necróticas, o que é observado, por exemplo, em gliomas de alto grau. O MPA, além de imagens DW também pode ter como input inicial parâmetros obtidos a partir de imagens de PET (Tomografia por Emissão de Pósitrons), das quais o mais relevante é o SUV (Valor Padrão de Captação). Este parâmetro descreve o nível de atividade celular em determinado ponto em relação ao restante do organismo, sendo bastante utilizado para estadiamento e restadiamento de tumores. No MPA admite-se que as células tumorais podem ser quiescentes ou necróticas dependendo de sua posição e do número de células que as circundam.

2. Revisão da Literatura

Um tumor de dimensões pequenas (tipicamente 5×5 voxels de uma imagem de RM) inicializa a simulação de acordo com um mapa de parâmetros gerado com base nas informações obtidas através de imagens DW e PET do paciente. Calcula-se então o nível de hipóxia do tumor, sucedendo-se a partir daí várias iterações computacionais nas quais as células tumorais podem crescer, morrer ou dispersar para outros voxels (LI et al., 2011).

Além das aplicações acima descritas, uma aplicação promissora para as imagens DW é sua utilização em neuronavegação, realizada com o emprego de scanners de RM em ambiente cirúrgico. Estes sistemas melhoram a exatidão na definição da porção de tecido tumoral a ser extraída para biópsia, além de permitir a visualização em tempo real da posição do tumor em três dimensões sem a influência da caixa craniana, melhorando a definição do caminho cirúrgico mais seguro para a ressecção da lesão (HALL et al., 2009).

Além das aplicações ao estudo da fisiologia normal e patológica do SNC, trabalhos recentes apontam para o potencial das imagens DW e mapas de ADC também para a avaliação de outras partes do corpo. Neste contexto, Lambregts e colaboradores adquiriram imagens DW de corpo inteiro de pacientes acometidos por tumores colorretais com o intuito de comparar esta técnica com o PET para o estadiamento da doença. 11 pacientes acometidos por estes tumores e 6 indivíduos controle foram avaliados utilizando-se ambas as técnicas. A sensibilidade das imagens DW foi de 81% para a detecção de lesões colorretais malignas, contra 87% de sensibilidade do PET para as mesmas lesões. Para o grupo de pacientes estudados, todos os tumores colorretais primários foram visualmente detectados nas imagens DW, bem como 77% das metástases hepáticas, 72% das metástases nodais distantes e 75% das metástases pulmonares (LAMBREGTS et al., 2011).

Apesar do grande potencial diagnóstico apresentado pelas imagens DW, a técnica apresenta desafios referentes à resolução espacial, que ainda é pobre, se comparada à de imagens de RM estruturais; às correntes elétricas induzidas (especialmente no caso de aquisições EPI), que geram artefatos nas imagens; à sensibilidade ao movimento microscópico das moléculas de água nos tecidos, que deve ser melhorada e à ocorrência de movimentos macroscópicos durante as aquisições (HAGMANN et al., 2006). Estes desafios deverão ser solucionados à medida que os conhecimentos dos princípios físicos envolvidos nas técnicas de aquisição de imagens de RM e no fenômeno de difusão forem cada vez mais correlacionados com a fisiologia do organismo.

Sistema Nervoso Central

O Sistema Nervoso Central (SNC) dos vertebrados é constituído pelo cérebro e pela medula espinhal. Seu desenvolvimento tem início com a formação de uma camada fina de células denominada placa neural. Com aproximadamente 20 dias de gestação as células das bordas da placa neural migram através da linha média. No 23º dia de desenvolvimento, as células da placa neural se fundem dando origem ao tubo neural. Na quarta semana gestacional, a porção anterior do tubo neural começa a se especializar em regiões do cérebro, sendo notáveis três divisões, denominadas prosencéfalo (encéfalo anterior), mesencéfalo (encéfalo médio) e rombencéfalo (encéfalo posterior). O prosencéfalo e o rombencéfalo sofrem estrangulamento, dando origem, cada um deles, a duas outras vesículas. O mesencéfalo não se divide. Desse modo, o encéfalo do embrião é constituído por cinco vesículas em linha reta. O prosencéfalo divide-se em telencéfalo (hemisférios cerebrais) e diencéfalo (tálamo e hipotálamo); o mesencéfalo não sofre divisão e o rombencéfalo divide-se em metencéfalo (ponte e cerebelo) e mielencéfalo (bulbo). Em condições normais de desenvolvimento, as divisões do SNC já se definem na sexta semana de vida fetal. A Figura 3.1 ilustra as etapas de desenvolvimento do SNC (ZULCH, 1986).

Tanto o SNC quanto o Sistema Nervoso Periférico (SNP) são constituídos por neurônios e células gliais, que dão suporte aos neurônios. Segundo estudos recentes, a glia também possui a capacidade de processamento de informações. Do ponto de vista microscópico, os tecidos do SNC são divididos em substância branca e substância cinzenta. A substância branca é composta

3. Sistema Nervoso Central

por axônios mielinizados e contém muitos corpos celulares. Já a substância cinzenta possui corpos celulares não mielinizados, dendritos e terminais axonais (SILVERTHORN, 2010).

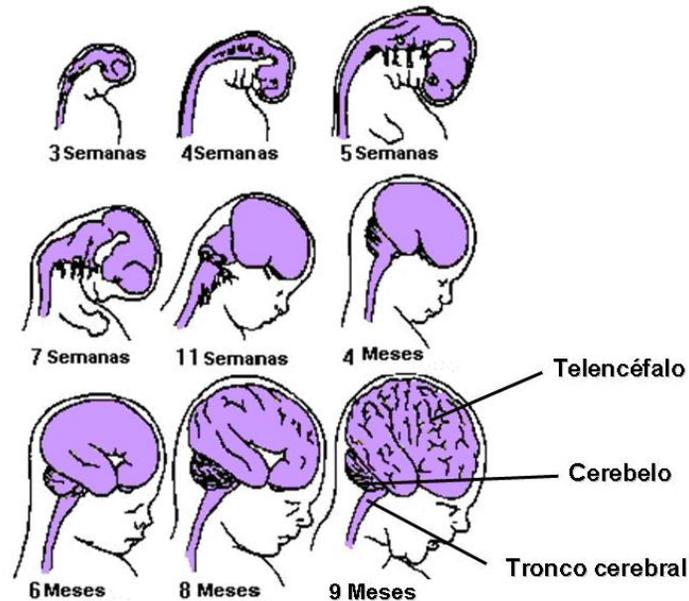


Figura 3.1: Etapas de desenvolvimento do SNC humano. Modificado de SILVERTHORN, 2010.

3.1 O Cérebro

Durante séculos a descrição do cérebro se restringiu aos seus aspectos anatômicos. Contudo, atualmente, com o desenvolvimento de técnicas de biologia molecular aliadas mais recentemente às técnicas de RM funcional é possível descrever o cérebro utilizando uma abordagem anátomo-fisiológica. Contudo, observa-se que até mesmo uma tarefa simples como movimentar um dedo podem envolver múltiplas regiões do cérebro (KANDELL et al., 2000).

O cérebro está localizado no interior da caixa craniana e é revestido externamente pelas meninges. No interior de seus ventrículos flui o líquido cefalorraquidiano (líquor) que confere proteção mecânica a este órgão, que apresenta diversas estruturas e regiões dotadas de funções específicas mas que atuam em conjunto para o processamento de informações e elaboração de respostas a estímulos externos ou internos ao organismo. O tronco cerebral é a mais antiga e primitiva

3. Sistema Nervoso Central

região do cérebro, sendo dividido em mesencéfalo, bulbo e ponte, que apresentam as substâncias branca e cinzenta. Alguns tractos nervosos ascendentes passam através desta estrutura, enquanto outros fazem sinapse nesta região. Os tractos descendentes, originários de porções superiores do cérebro passam pelo tronco cerebral em direção à medula espinhal. Além disso, 9 dos 12 pares de nervos cranianos (II-XII) têm origem no tronco cerebral (KANDELL et al., 2000).

O cerebelo é a segunda maior estrutura do cérebro, localizada na base do crânio. Boa parte das células nervosas do cérebro se encontra no cerebelo, sendo ele especializado no processamento da informação sensorial e na coordenação e execução de movimentos. O diencéfalo é uma estrutura localizada entre o tronco cerebral e o cerebelo, sendo constituído pelo tálamo e hipotálamo e duas outras estruturas endócrinas, a glândula pineal e a hipófise. O tálamo recebe fibras sensoriais do tracto óptico, orelhas e medula espinhal, além de informações motoras do cerebelo. O hipotálamo é uma estrutura localizada abaixo do tálamo que controla toda a homeostasia do organismo, apesar de corresponder a menos de 1 % do volume total do cérebro. O hipotálamo controla diversas glândulas endócrinas, além de ser responsável por respostas como a fome e a sede além de outras funções do Sistema Nervoso Autônomo (SNA). A hipófise é uma glândula endócrina responsável pela produção de prolactina (PRL- controla a produção de leite nas mamas das mulheres), hormônio do crescimento, hormônio tireoestimulante (TSH - controla a síntese e secreção de hormônios pela glândula tireóide), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH- controla a síntese e liberação de cortisol pelas glândulas adrenais), dentre outras ações. A glândula pineal é responsável pela secreção do hormônio melatonina com base no ciclo claro-escuro (dia-noite). A melatonina tem ação anti-oxidante e equilibra o funcionamento do sistema imunológico (SILVERTHORN, 2010).

O encéfalo é a maior porção do cérebro humano, preenchendo a maior parte da cavidade craniana. Sua superfície externa possui diversos sulcos e giros, apresentando diversas porções de substâncias branca e cinzenta. A substância cinzenta do cérebro pode ser dividida em três regiões maiores: córtex cerebral, gânglio basal e sistema límbico. A córtex é a camada mais externa do cérebro, de poucos milímetros de espessura. Seus neurônios estão arranjados em distintas colunas verticais e camadas horizontais. É ao longo destas camadas que se dão as funções cerebrais mais complexas. As diferentes porções da córtex são divididas em 4 áreas denominadas lobos cerebrais

3. Sistema Nervoso Central

sendo seus nomes designados pelos ossos do crânio próximos e que os recobrem. O lobo frontal está associado ao planejamento de ações e movimentos, bem como ao pensamento abstrato. Os lobos temporais estão relacionados ao processamento de estímulos auditivos e à memória. Os lobos parietais processam estímulos sensoriais provenientes do restante do organismo, sendo responsáveis pela combinação de impressões relacionadas à forma, textura e peso. Os lobos occipitais, por sua vez, estão relacionados principalmente ao processamento de estímulos visuais (interpretação e entendimento do que é visto). A Figura 3.2 ilustra a localização destes lobos (SILVERTHORN, 2010).

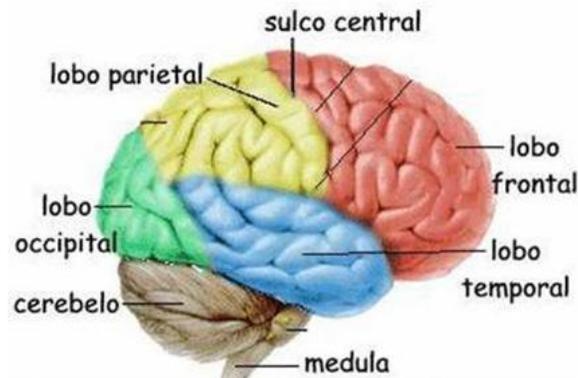


Figura 3.2: Localização dos lobos cerebrais. Modificado de SILVERTHORN, 2010.

O gânglio basal está diretamente relacionado ao controle do movimento. Já o sistema límbico está relacionado às funções cognitivas, à razão e às respostas emocionais primitivas, tais como o medo. As maiores porções deste sistema são a amígdala e o giro cingulado, ligadas às emoções e à memória, e o hipocampo, associado à memória e aprendizagem. É por esta razão que pacientes acometidos por epilepsia de lobo temporal, com ou sem atrofia hipocampal, podem apresentar déficit de memória e dificuldades de aprendizado (KANDELL et al., 2000).

Como observado na literatura, imagens DW e mapas de ADC estão sendo cada vez mais aplicados ao estudo das patologias do SNC. Desde sua aplicação inicial ao diagnóstico de AVCs ainda na fase aguda, técnicas de aquisição e processamento de imagens DW e cálculo de mapas de ADC vêm sendo desenvolvidas com sucesso, permitindo a adequação do método aos mais variados

3. Sistema Nervoso Central

problemas clínicos, bem como ao estudo de condições fisiológicas normais do SNC e de outras partes do organismo (FERDA et. al., 2010; JAKAB et al., 2010; JOLAPARA et al., 2010).

Tumores Cerebrais

Tumores cerebrais são patologias originadas pela proliferação desenfreada de células no interior do crânio e/ou canal espinhal central. Pode haver proliferação desenfreada de células neuronais, glia, células de Schwann, tecidos linfáticos, vasos sanguíneos, meninges ou células da glândula pineal, dentre outras. A gravidade da doença é definida de acordo com o grau histológico do tumor (ZULCH, 1986).

O grau histológico classifica o tumor segundo suas características celulares que possibilita a previsão de seu comportamento biológico. É um fator-chave para a definição da abordagem terapêutica, principalmente em relação à escolha de protocolos específicos de quimioterapia e ao emprego adjuvante desta técnica e a radioterapia (ZULCH, 1986; ASAI et al., 1989). A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica os tumores do SNC em graus de malignidade que variam de I a IV, sendo os tumores de grau I benignos e de grau IV malignos. Serão descritos abaixo os critérios para o enquadramento do tumor em cada um destes graus. No presente trabalho considera-se a última versão da classificação dos tumores do SNC, publicada pela OMS no ano de 2007 (LOUIS et al., 2007).

Tumores de grau I: Lesões com baixo potencial de proliferação e possibilidade de cura após a ressecção cirúrgica, sem o emprego de radioterapia e quimioterapia.

Tumores de grau II: Tumores geralmente infiltrativos e apesar do baixo nível de proliferação pode haver recorrência. Alguns tumores de grau II podem evoluir para graus maiores. Como

4. Tumores Cerebrais

exemplo disso tem-se os astrocitomas difusos de baixo grau que podem se transformar em astrocitomas anaplásicos e glioblastomas.

Tumores de grau III: Lesões com evidência histológica de malignidade, apresentando atipia dos núcleos celulares e elevada atividade mitótica. Na grande maioria dos casos pacientes com tumores deste grau recebem tratamento radioterápico e quimioterápico adjuvantes.

Tumores de grau IV: Tumores de elevada malignidade que apresentam alta atividade mitótica e diversas regiões necróticas. A evolução da doença é bastante rápida antes e após a remoção cirúrgica da lesão e uso da radioterapia e quimioterapia adjuvantes. A elevada propensão à infiltração dos tecidos arredores e propensão à disseminação cranio-espinhal das células tumorais caracteriza alguns tumores de grau IV.

Apesar da gravidade da doença ser maior no caso de tumores de grau IV, todos os tumores cerebrais precisam ser tratados rapidamente, pois crescem em um espaço limitado no interior da caixa craniana, podendo comprometer áreas cerebrais relacionadas ao controle de funções vitais como a respiração e os batimentos cardíacos, bem como para minimizar sequelas causadas pela destruição de tecidos cerebrais de áreas relacionadas à cognição e movimento, dentre outras (KRABBE et al., 1997).

4.1 Glioblastoma Multiforme

É o tumor cerebral primário mais frequente e de maior malignidade, com predominante diferenciação astrocítica. Ele corresponde a 12-15% dos tumores intracranianos e a 60-75% dos tumores astrocíticos (LOUIS et al., 2007). No Brasil não existe uma estatística oficial referente à incidência deste tumor, mas sabe-se que na Europa e América do Norte são diagnosticados anualmente 3 a 4 casos por 100.000 habitantes (NOWOSIELSKI et al., 2010). Suas características histopatológicas incluem atipia nuclear, pleomorfismo celular, elevada atividade mitótica, trombose vascular, proliferação microvascular e necrose. Pode se manifestar em qualquer idade, no entanto afeta tipicamente indivíduos adultos, do sexo masculino, com idade superior a 50 anos. A maioria destes tumores se manifesta rapidamente sem que sejam encontradas possíveis lesões primárias precursoras, sendo neste caso classificados como glioblastomas primários.

4. Tumores Cerebrais

Glioblastomas secundários se desenvolvem lentamente a partir de um astrocitoma difuso (grau II) ou um astrocitoma anaplásico (grau III). Por serem de natureza extremamente invasiva, estes tumores não podem ser ressecados completamente com o emprego de técnicas cirúrgicas, sendo também necessárias as abordagens quimioterápica e radioterápica. Tratam-se de tumores de grau IV, sendo a história clínica da doença usualmente curta (inferior a 3 meses em mais de 50 % dos casos de glioblastoma primário). A idade elevada de ocorrência da doença é um dos principais fatores que definem o prognóstico (ZULCH, 1986).

Com relação à sintomatologia, estes tumores levam ao aparecimento de sinais e sintomas relacionados à hipertensão intracraniana, tais como dores de cabeça, náuseas, vômitos e a presença de papiledema (inchaço do disco óptico causado pela hipertensão intracraniana). Ao menos um terço dos pacientes apresenta também crises epiléticas. Dependendo da localização do tumor podem ser detectados outros sintomas neurológicos mais específicos, tais como alterações de personalidade, que podem ocorrer quando há comprometimento do lobo frontal, e alterações cognitivas e motoras. Em alguns pacientes ocorrem Acidentes Vasculares Cerebrais (AVCs), sendo eles algumas vezes a primeira manifestação clínica da doença. Apesar da curta duração dos sintomas antes da procura por atendimento médico, estes tumores, quando diagnosticados, são comumente grandes e ocupam uma grande porção do lobo no qual se localizam. A lesão é frequentemente unilateral, no entanto, lesões localizadas no corpo caloso e tronco cerebral tendem a ser bilateralmente simétricas. A extensão bilateral supratentorial é gerada pelo rápido crescimento do tumor ao longo de estruturas mielinizadas, particularmente ao longo do corpo caloso e fórnix, indo em direção ao lobo temporal (OKAMOTO et al., 2000).

Na análise visual, glioblastomas apresentam-se como massas pouco delineadas, sendo de coloração bastante variável a porção supostamente limítrofe com tecidos saudáveis, com massas acinzentadas e porções centrais amareladas, em função da necrose devida à destruição da mielina. A necrose central pode ocupar mais de 80 % da massa total do tumor (SAYYARI et al., 2010). As porções periféricas apresentam grande concentração de células tumorais, formando um aro ou banda cinzenta. Contudo, tecidos necróticos podem também ser encontrados nas bordas da lesão. Ao redor desta são também vistos frequentemente focos vermelhos ou marrons de hemorragias recentes ou remotas, respectivamente. Cistos macroscópicos, quando presentes, contêm um

4. Tumores Cerebrais

líquido turvo e representam o tecido tumoral necrótico liquefeito, sendo esta uma característica que difere estes tumores dos astrocitomas difusos grau II, que apresentam cistos bem delineados (SUGAHARA et al., 1999; YAMASAKI et al., 2010; LEE et al., 2011).

A maioria dos glioblastomas dos hemisférios cerebrais é claramente intraparenquimatosa, com epicentro na substância branca. Muitas vezes o tumor é visualizado em imagens estruturais de RM ou TC como uma lesão superficial em contato com leptomeninges e com a dura-máter, podendo levar o neuroradiologista ou neurocirurgião a interpretá-los como uma lesão extra-axial, tal como um meningioma. Na ocorrência de infiltração cortical observa-se um anel giriforme preservado de substância cinzenta espessa sobreposta a uma zona necrótica contendo substância branca (TIEN et al., 1994).

Apesar de todos os tumores astrocíticos difusos serem bastante infiltrativos, o glioblastoma é notório por sua elevada capacidade de invasão de estruturas cerebrais vizinhas. É comum a extensão do tumor através do corpo caloso para o hemisfério contralateral ao da lesão primária (condição conhecida como glioma borboleta) (MAIER et al., 2010). Similarmente, a rápida proliferação das células tumorais é observada na cápsula interna, fórnix, comissura anterior e quiasma óptico. Tais estruturas podem ser alargadas ou distorcidas conforme a lesão cresce, mas continuam servindo como caminho para a passagem de células e desenvolvimento de novas massas tumorais, caracterizando nas imagens radiológicas os glioblastomas multifocais. Um grande número de células tumorais deixa os limites da massa tumoral e se aloca em outras regiões, dificultando o tratamento cirúrgico e radioterápico (SAYYARI et al., 2010). Apesar de seu desenvolvimento rápido e infiltrativo, o tumor não invade o espaço subaracnóideo, sendo, pois, muito raras as metástases via fluido cerebrospinal (líquor). No entanto, um modo típico de infiltração é através dos espaços perivasculares, apesar de ser rara a infiltração do lúmen dos vasos sanguíneos pelas células tumorais (ZULCH, 1986).

Atualmente, são descritos na literatura diversos mediadores moleculares relacionados ao crescimento, proliferação e propagação das células do glioblastoma. Um importante fator que promove a propagação das células deste tumor é a elaboração de uma matriz extracelular fortalecida no processo de migração celular, bem como a secreção de enzimas proteolíticas que permitem a invasão dos tecidos vizinhos por esta matriz (LOUIS et al., 2007). Consistentemente com este

4. Tumores Cerebrais

aspecto estão os estudos de perfis de expressão gênica que identificaram subclasses de tumores com elevada expressão de componentes da matriz extracelular, bem como de proteínas intracelulares associadas com a motilidade. O aumento na expressão de componentes da matriz extracelular aliado à ativação de vias de sinalização que facilitam a invasão dos tecidos sadios pelas células tumorais está sendo vista como uma consequência composta e dinâmica da alteração de adesão célula-célula e remodelagem proteolítica, expressão seletiva e ativação de integrinas. O mecanismo de ativação da migração das células tumorais está diretamente relacionado à taxa de proliferação das mesmas, sendo a sua compreensão de extrema importância no desenvolvimento de estratégias terapêuticas (SCHIFFER, 1997).

4.2 Meningeoma

Trata-se de um tumor das células meningoteliais (aracnóideas) tipicamente ligado à superfície interna da dura-máter. A maioria destes tumores é benigna, de grau I. Meningeomas com combinações específicas de parâmetros morfológicos estão associados a respostas clínicas menos favoráveis, fazendo com que os tumores sejam classificados como sendo de grau II (meningeoma atípico) ou grau III (meningeoma anaplásico e maligno). Meningeomas correspondem a 24-30% dos tumores intracranianos, tendo uma taxa de incidência anual nos EUA de 13 casos por 100.000 habitantes não existindo, no Brasil, estatísticas oficiais referentes à incidência destes tumores. Acometem predominantemente indivíduos a partir da quarta década de vida, com pico de incidência entre a sexta e sétima décadas. Contudo, também podem ocorrer em adultos jovens e crianças, apresentando-se de forma mais agressiva neste último grupo. Dentre os pacientes de meia idade (40 a 44 anos), há uma maior ocorrência em mulheres, numa proporção de 3.5:1 A razão de ocorrência em mulheres:homens aumenta com o aumento da idade dos indivíduos, sugerindo a existência de uma relação entre a ocorrência destes tumores e o uso prolongado de medicamentos a base de hormônios femininos, tais como anti-concepcionais. De fato, dentre os meningeomas encontrados 88% apresentam receptores de progesterona, 40% apresentam receptores de estrógeno e somente 39% apresentam receptores de testosterona. Contudo, até o presente momento esta relação não foi provada cientificamente. Meningeomas associados a síndromes tumorais hereditárias ocorrem em pacientes jovens, em uma razão de 1:1 considerando-se homens e mulheres. Por outro lado,

4. Tumores Cerebrais

meningeomas atípicos ou anaplásicos predominam em indivíduos do sexo masculino (SCHIFFER, 1997).

Quanto à localização, meningeomas são na maioria dos casos intracranianos, intraespinhais ou intraorbitários. Variantes intraventriculares ou epidurais são bastante raras. Tais tumores já foram encontrados em quase todos os órgãos do corpo. Na caixa craniana ocorrem predominantemente sobre as convexidades cerebrais, regiões para/supraselares, tentório e fossa posterior. A maioria dos meningeomas espinhais ocorre na região torácica. Meningeomas atípicos e anaplásicos tendem a afetar as convexidades laterais. Dentre outros sítios de localização, metástases de meningeomas malignos podem ser encontradas na pleura, pulmões, ossos e fígado (FILIPPI et al., 2001).

Diferentemente dos glioblastomas, meningeomas são tumores de crescimento lento, gerando sinais e sintomas neurológicos por compressão das estruturas a eles adjacentes. A ocorrência de déficits específicos depende da localização do tumor. Dores de cabeça, tonturas e convulsões podem indicar a presença de um meningeoma (SCHIFFER, 1997).

Em imagens de RM estruturais estes tumores são tipicamente isodensos, apresentando massas durais realçadas por contraste. Alguns meningeomas microcísticos são pouco realçados em imagens de TC e RM. Calcificações são melhor visualizadas em imagens de TC. Uma característica marcante dos meningeomas em imagens é a chamada cauda dural em torno do perímetro dural da massa. Este sinal familiar de meningeomas nas imagens pode ou não indicar a extensão dural da lesão, bem como corresponder a um anel de tecido fibrovascular reativo. O edema peritumoral é ocasionalmente proeminente, particularmente ao redor das variantes atípicas ou anaplásicas. Isso também tem sido descrito em associação com a variante secretora da doença, bem como em meningeomas meningoteliais. Na periferia do tumor podem também ser visualizadas formações císticas. Apesar dos sinais peculiares que muitos meningeomas apresentam os achados visuais de neuroimagem ainda não constituem o padrão-ouro para a confirmação do diagnóstico, sendo necessária para isso a análise histopatológica dos tecidos tumorais (FILIPPI et al., 2001).

Macroscopicamente, a maioria dos meningeomas apresenta-se como uma massa rígida, bem demarcada e algumas vezes lobulada, sendo comum a invasão da dura-máter e dos sinus durais. No crânio pode ser observada a hiperostose (espessamento do osso) indicando invasão

4. Tumores Cerebrais

do mesmo. Pode haver envolvimento das artérias cerebrais, porém é rara a infiltração de suas paredes pelas células tumorais. Em alguns casos pode haver infiltração na pele e extensão para compartimentos extracranianos, tais como a órbita dos olhos. Estruturas adjacentes ao cérebro podem ser comprimidas, mas raramente seus parênquimas são invadidos pelo tumor. Em regiões como a alça do esfenoide, meningiomas benignos podem crescer como uma camada fina de células tumorais (meningioma em placas). Já os meningiomas malignos tendem a ser mais espessos que os benignos, apresentando diversas áreas de necrose. De acordo com suas características histológicas diferentes tipos de meningiomas são classificados entre os graus I e III segundo a OMS (LOUIS et al., 2007).

Difusão

De maneira simplificada, difusão é o processo pelo qual uma população de partículas (moléculas) é transportada de regiões de alta concentração de soluto para regiões de baixa concentração, de maneira a reduzir o gradiente de concentração. Basicamente, o fenômeno é descrito pelas seguintes variáveis: concentração e fluxo de partículas (FRIEDMAN, 2008). Em uma dimensão é possível definir a concentração de partículas num ponto x em determinado instante de tempo t como $c(x, t)$, sendo esta descrita, por exemplo, em mol/cm^3 . A concentração é definida como o limite do número de mols por unidade de volume conforme o elemento de volume tende a zero. As leis macroscópicas da difusão descritas nas próximas seções são válidas para elementos de volume cujas dimensões são pequenas quando comparadas à distância ao longo da qual a concentração varia consideravelmente, mas são suficientemente grandes para conter um grande número de partículas do soluto (FRIEDMAN, 2008). O fluxo de partículas, $\overrightarrow{\phi(x, t)}$, é o vetor resultante correspondente ao número de partículas que cruzam uma unidade de área perpendicular ao eixo x em um dado instante de tempo t (considerando-se o caso unidimensional). As unidades que descrevem esta grandeza são $mol/cm^2/s$. Matematicamente, o fenômeno da difusão molecular pode ser descrito pelas Leis de Fick, apresentadas nas seções seguintes, baseado em (FRIEDMAN, 2008).

5.1 Leis de Fick

5.1.1 Primeira Lei de Fick

A primeira lei de Fick estabelece que o fluxo de partículas na direção x positiva $\overrightarrow{\phi(x, t)}$ é proporcional ao gradiente espacial de concentração $c(x, t)$, ou seja:

$$\overrightarrow{\phi(x, t)} = -D \frac{\partial c(x, t)}{\partial x} \quad (5.1)$$

onde D é denominado coeficiente de difusão ou difusividade. Assume-se $D \geq 0$. De acordo com Equação 5.1, quanto maior o gradiente de concentração, maior o fluxo de partículas. Há uma relação entre o sinal do gradiente de concentração e o sinal do fluxo. Um gradiente de concentração negativo indica que ela é uma função decrescente de x , o que leva a um aumento do fluxo de partículas na direção x positiva. A extensão da primeira lei de Fick para três dimensões resulta em:

$$\overrightarrow{\phi(x, t)} = -D \nabla c \quad (5.2)$$

onde $\overrightarrow{\phi(x, t)}$ é o vetor de fluxo e ∇c é o gradiente espacial de concentração. Tanto no caso unidimensional quanto no tridimensional é possível fazer uma analogia entre as leis de Fick, de fluxo de calor de Fourier e as leis de Ohm de condutividade elétrica (FRIEDMAN, 2008).

5.1.2 Equação de Continuidade

Considerando-se que haja conservação de partículas, ou seja, em qualquer ponto do espaço elas não são criadas nem destruídas, pode-se encontrar uma relação entre $\overrightarrow{\phi(x, t)}$, o vetor de fluxo, e a concentração de partículas c . Tomando-se um pequeno elemento de volume retangular, cujas dimensões são tais que a concentração não varia apreciavelmente com a posição, têm-se que o influxo líquido de partículas do soluto para o interior deste elemento, em um intervalo de tempo $(t, t + \Delta t)$ é dado por:

$$I = (\phi(x, t) - \phi(x + \Delta x, t)) A \Delta t \quad (5.3)$$

5. Difusão

onde A é a área superficial das duas faces do elemento de volume. O aumento líquido no número de partículas no interior do mesmo neste intervalo de tempo pode ser expresso da seguinte forma, em termos da concentração:

$$\Delta N = (c(x + \Delta x/2, t + \Delta t) - c(x + \Delta x/2, t))A\Delta x \quad (5.4)$$

Assumindo que a largura do elemento de volume é Δx , considera-se que a concentração média no volume é aproximada pela concentração no centro do volume. Havendo conservação de partículas, pode-se igualar as equações 5.3 e 5.4:

$$\frac{\phi(x + \Delta x, t) - \phi(x, t)}{\Delta x} = \frac{-(c(x + \Delta x/2, t + \Delta t) - c(x + \Delta x/2, t))}{\Delta t} \quad (5.5)$$

No limite em que $\Delta x \rightarrow 0$ e $\Delta t \rightarrow 0$,

$$\frac{\partial \phi(x, t)}{\partial x} = -\frac{\partial c(x, t)}{\partial t} \quad (5.6)$$

que é a equação de continuidade ou conservação de partículas em uma dimensão. Generalizando para três dimensões, têm-se (FRIEDMAN, 2008):

$$\nabla \cdot \vec{\phi} = -\frac{\partial c}{\partial t} \quad (5.7)$$

5.1.3 Segunda Lei de Fick: Equação de Difusão

Quando combinada com a equação de continuidade, a primeira lei de Fick resulta numa equação diferencial satisfeita por $c(x, t)$, eliminando-se a dependência de $\phi(x, t)$. Diferenciando a equação 5.1 com relação a x , tem-se (FRIEDMAN, 2008):

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = -D \frac{\partial}{\partial x} \left(-D \frac{\partial c}{\partial x} \right) \quad (5.8)$$

Pela regra da cadeia das derivadas, tem-se:

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = -\left(\frac{\partial D}{\partial x} \frac{\partial c}{\partial x} + D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right) \quad (5.9)$$

5. Difusão

Assumindo-se que o coeficiente de difusão D é uma constante relacionada à mobilidade do soluto tem-se:

$$\frac{\partial D}{\partial x} = 0 \quad (5.10)$$

substituindo a Equação 5.9 na Equação 5.6 obtém-se:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (5.11)$$

que é a segunda lei de Fick da difusão. Generalizando para o caso tridimensional (FRIEDMAN, 2008):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \nabla^2 c \quad (5.12)$$

5.2 Difusão em Presença de Convecção e Reações Químicas

Em sistemas biológicos, a difusão ocorre em presença de outros processos físico-químicos. Como exemplo, as partículas do soluto podem estar em um líquido sendo transportado, em resposta a variações de pressão hidráulica. Neste caso, além da difusão há, pois, convecção a uma velocidade v . O fluxo do soluto é então dado pela soma dos fluxos de difusão e convecção, ou seja:

$$\phi(x, t) = -D \frac{\partial c(x, t)}{\partial x} + vc \quad (5.13)$$

onde v é a velocidade de convecção, D é o coeficiente de difusão do soluto e $\frac{\partial c(x, t)}{\partial x}$ expressa a variação da concentração de soluto com seu deslocamento na direção x .

Se as partículas do soluto estão sujeitas a forças que atuam sobre o corpo, sendo estas geradas por campos gravitacionais e elétricos, além da difusão ocorre a migração ou drift (arrasto) das partículas. A mais simples descrição de drift de partículas num meio assume que elas apresentam velocidade proporcional à força que atua sobre elas, sendo o fluxo de partículas expresso por:

$$\phi(x, t) = -D \frac{\partial c(x, t)}{\partial x} + ufc \quad (5.14)$$

5. Difusão

neste caso, u é a mobilidade mecânica molar e f é a força que atua no corpo por mol de partículas. Em outra situação, a partícula pode estar reagindo quimicamente com o solvente, se ligando a algum de seus componentes. Se a taxa de reação é α , então a equação de continuidade é alterada pela taxa na qual as partículas do soluto estão sendo removidas, de modo que:

$$\frac{\partial \phi}{\partial x} = -\frac{\partial c}{\partial t} - \alpha c \quad (5.15)$$

Se tanto as reações químicas quanto a convecção ocorrem simultaneamente e $v = uf$, a equação de difusão toma a seguinte forma:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} - v \frac{\partial c}{\partial x} - \alpha c \quad (5.16)$$

onde α é uma constante.

Em presença de eletrólitos, além do gradiente de concentração existente entre os compartimentos é necessário considerar também o gradiente de potencial elétrico através da membrana que os separa. Para a obtenção de um modelo matemático que melhor represente o fenômeno de difusão que ocorre em um determinado sistema biológico é importante considerar também parâmetros como a temperatura, mobilidade do soluto, potencial elétrico e permeabilidade da membrana existente entre dois compartimentos (FRIEDMAN, 2008).

5.3 Aspectos Microscópicos da Difusão

Em 1828 o botânico Robert Brown observou ao microscópio que pequenas partículas no interior de grãos de pólen exibiam movimentos aleatórios, posteriormente denominados movimentos brownianos (BEAULIEU & ALLEN, 1994). Estes movimentos foram inicialmente associados ao caráter biológico dos grãos de pólen, mas posteriormente foram observados também em corpos inanimados. As bases físicas para a compreensão deste movimento foram dadas por Einstein (EINSTEIN, 1956), que computou a magnitude esperada do movimento de pequenas partículas do soluto em um líquido. Tal movimento resulta da agitação térmica das moléculas. Como a matéria é composta de moléculas em contínua vibração por conta de suas energias térmicas, uma dada partícula está sujeita a um grande número de colisões com outras partículas. A velocidade

5. Difusão

quadrática média da partícula é diretamente proporcional à temperatura absoluta e inversamente proporcional à sua massa. Experimentos que quantificam o livre caminho médio de partículas em um meio demonstram o caráter randômico de seus movimentos, melhor descritos em termos probabilísticos. Um estudo detalhado dos fenômenos de difusão deve, pois, associar as leis de Fick a modelos probabilísticos do movimento das partículas em um meio específico (FRIEDMAN, 2008).

5.4 Difusão de Moléculas de Água no Sistema Nervoso Central

A manutenção da homeostasia do SNC está intimamente relacionada aos processos de difusão. Quando neurônios e outras células do cérebro necessitam de maior demanda energética, mitocôndrias são transportadas rapidamente até ela por difusão através de microtúbulos, localizados no interior do axônio (HOLLENBACK et al., 2005). Este movimento pode também ser regulado por cinesinas. Outro exemplo do processo de difusão é o transporte de vesículas contendo neurotransmissores para as regiões sinápticas. Alguns dos principais fatores que interferem nestes processos são: peso molecular, interações intermoleculares e temperatura (NORRIS, 2001).

A microestrutura celular dos tecidos influi no movimento das moléculas, criando uma série de barreiras e compartimentos intra e extracelulares (neurônios, axônios, células gliais, piramidais etc). A presença destas estruturas faz com que o coeficiente de difusão medido através das imagens de RM não seja uma medida absoluta, pois depende das interações entre as moléculas que se difundem e estruturas celulares vizinhas, considerando um intervalo de tempo específico. A ocorrência de processos ativos nos tecidos também influencia o coeficiente de difusão (BEAULIEU, 2002). Dadas estas características, este coeficiente é denominado coeficiente aparente de difusão ou em inglês *Apparent Diffusion Coefficient* (ADC). Tempos de difusão muito curtos, e medidas nestes intervalos de tempo refletiriam diretamente a viscosidade intrínseca local; no caso de tempos mais longos os efeitos das barreiras são consideráveis. Em um líquido puro onde não há barreiras à difusão ou em uma amostra onde as barreiras não estão coerentemente orientadas, a difusão é a mesma em todas as direções, sendo então denominada isotrópica. Já em regiões contendo

5. Difusão

barreiras altamente orientadas a difusão segue uma direção preferencial, sendo então denominada anisotrópica. Com base nas propriedades descritas, subtipos estruturais podem ser identificados a partir de suas características de difusão, estando a anisotropia relacionada diretamente à geometria das fibras (BEAULIEU & ALLEN, 1994).

O grau de penetração da água ao longo dos tecidos é determinado pelo tamanho, forma e composição das barreiras por ela encontradas, bem como pela distância entre as barreiras. A difusão paralela aos vasos e fibras nervosas ocorre a uma taxa elevada quando comparada à difusão que ocorre perpendicularmente a tais estruturas, sendo, pois, anisotrópica nestes casos. Os primeiros estudos referentes à difusão de moléculas de água no SNC classificavam a substância branca como anisotrópica, dada a presença de tratos e fibras axonais e a substância cinzenta como isotrópica. No entanto, estudos recentes apontam as células piramidais, presentes na substância cinzenta, como determinantes da anisotropia também nesta região (NORRIS, 2001). Como mostra a Figura 5.1, tais células apresentam padrões radiais de ramificação, através dos quais há uma maior taxa de difusão de moléculas de água. No caso da substância branca, estudos mais antigos apontam a mielina como principal fator determinante da anisotropia em axônios. No entanto, como mostra o esquema da Figura 5.2, além da mielina, os axônios contêm membranas axonais e neurofibrilas (microtúbulos e neurofilamentos), a contribuição dos quais não pode ser desprezada para o cálculo do ADC. As estruturas mencionadas estão orientadas longitudinalmente ao longo do axônio, fazendo com que a difusão ocorra preferencialmente nesta direção. Estudos mais recentes mostram que a mielina não é o fator determinante da anisotropia. Fibras nervosas não mielinizadas do nervo olfatório, nervo trigêmeo mielinizado com células de Schwann e o nervo óptico mielinizado apresentam maior difusividade na direção longitudinal às fibras. Para avaliar a anisotropia nas substâncias branca e cinzenta deve-se pois levar em conta as contribuições dos vários componentes que as constituem para o cálculo do ADC. Apesar de a mielina ter uma grande contribuição para a anisotropia na substância branca, sua presença não deve ser considerada um fator determinante para tal, como apontam trabalhos mais recentes (BEAULIEU, 2002).

5. Difusão

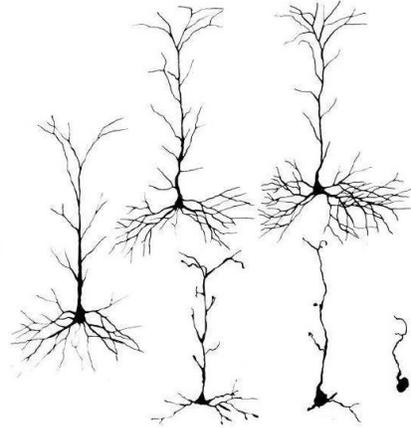


Figura 5.1: Células piramidais em diferentes estágios de desenvolvimento do SNC. A difusão de moléculas de água segue a trajetória de seus ramos. Modificado de BEAULIEU & ALLEN, 1994.

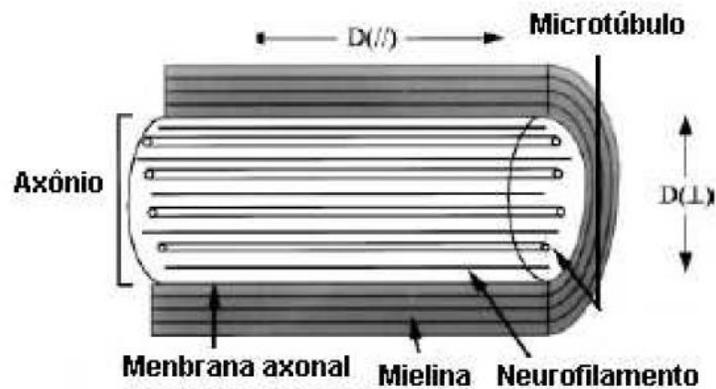


Figura 5.2: Representação esquemática de um axônio. Apesar da espessura da mielina e da membrana axonal, microtúbulos e neurofilamentos contribuem consideravelmente para que o fluxo de moléculas de água ocorra predominantemente na direção longitudinal (paralela às fibras). Modificado de BEAULIEU & ALLEN, 1994.

Difusão e Ressonância Magnética

6.1 Noções Básicas de Ressonância Magnética

A ressonância magnética (RM) é um fenômeno observado em determinados núcleos atômicos, tais como o núcleo de 1H . Para sua ocorrência, o núcleo deve apresentar uma propriedade denominada spin. Núcleos que possuem spin diferente de zero podem entrar em ressonância em presença de um campo magnético externo. Quando um campo magnético externo \vec{B}_0 é aplicado a um conjunto de spins, eles se alinham paralela ou anti-paralelamente a este campo, sendo o número de spins alinhados paralelamente ao campo \vec{B}_0 um pouco maior que o número de spins alinhados anti-paralelamente a ele. Este excedente de spins alinhados com \vec{B}_0 gera um vetor magnetização \vec{M} resultante na direção deste campo. Por conveniência, assume-se o eixo de aplicação do campo \vec{B}_0 como sendo o eixo z do sistema de coordenadas cartesianas. Os spins alinhados a \vec{B}_0 precessionam em torno dele com uma frequência $\vec{\omega}_0$ proporcional à intensidade deste campo, ou seja:

$$\vec{\omega}_0 = \gamma \vec{B}_0 \quad (6.1)$$

onde γ é a razão giromagnética, específica para cada núcleo. Para o núcleo de hidrogênio, γ é igual a $42,57 \text{ MHz/T}$. A equação acima é conhecida como equação de Larmor (MORI & BARKER, 1999).

O fenômeno de ressonância ocorre quando um objeto é exposto a uma perturbação cuja

6. Difusão e Ressonância Magnética

frequência é muito próxima de sua frequência natural de oscilação. Para que os núcleos atômicos de interesse entrem em ressonância, é necessária, pois, a aplicação de um pulso de radiofrequência (RF) cuja frequência seja muito próxima da frequência de Larmor destes núcleos. A aplicação do pulso de RF que faz com que os spins dos núcleos atômicos de interesse entrem em ressonância é denominada excitação da amostra. Este pulso lança o vetor \vec{M} em direção ao plano transversal à direção de \vec{B}_0 . O ângulo formado entre o vetor \vec{M} e o plano longitudinal depende da amplitude e da duração de aplicação do pulso de RF. Tipicamente, utilizam-se pulsos de RF de 90° , que fazem com que o vetor magnetização \vec{M} esteja a 90° em relação ao eixo de \vec{B}_0 , ou seja, no plano transversal em relação à \vec{B}_0 (MORITANI et al., 2005).

Cessada a aplicação do pulso de RF, o vetor magnetização \vec{M} tende a se alinhar novamente com \vec{B}_0 , sendo este processo denominado *relaxação*. Nele ocorre a recuperação da magnetização longitudinal e o decaimento da magnetização transversal, processos que apresentam uma dependência exponencial com o tempo mas são independentes entre si. Denomina-se $T1$ a constante de tempo associada ao processo de recuperação da magnetização longitudinal e $T2$ a constante de tempo associada ao processo de decaimento da magnetização transversal, sendo estas constantes específicas para cada tipo de tecido, de acordo com sua constituição molecular. No tempo de relaxação $T1$ ocorre a recuperação exponencial da intensidade da magnetização longitudinal, como consequência da dissipação da energia dos spins excitados para o meio no qual se situam (relaxação spin-rede). O tempo $T2$, por sua vez, é aquele no qual ocorre a perda de coerência de fase entre os spins em decorrência da interação com spins vizinhos (relaxação spin-spin). Em geral, o tempo $T1$ é aproximadamente 10 vezes maior que $T2$, sendo este último da ordem de dezenas de milisegundos, considerando-se os tecidos biológicos estudados. Heterogeneidades do campo magnético fazem com que sua intensidade seja diferente em diferentes conjuntos de spins, fazendo com que o tempo de relaxação transversal de um tecido seja dado por $T2^* < T2$. A recuperação da magnetização longitudinal e a perda da magnetização transversal são fenômenos independentes. Conforme a amplitude da magnetização transversal diminui, ocorre, pelo Princípio de Indução de Faraday, a indução de uma voltagem numa bobina receptora. Este sinal captado é conhecido como FID (do inglês *Free Induction Decay*) (MORI & BARKER, 1999).

Para a localização do sinal gerado são aplicados gradientes de campo magnético ao longo

6. Difusão e Ressonância Magnética

das direções x , y e z , possibilitando assim a obtenção de sinais com frequências diferentes para diferentes localizações dos spins. Eles introduzem uma pequena variação positiva ou negativa no campo magnético \vec{B}_0 , de acordo com a posição. Estes gradientes são gerados tipicamente por três bobinas localizadas no interior do magneto principal, sendo nomeados de acordo com o eixo no qual atuam. A aplicação de gradientes de campo magnético na direção z , por exemplo, gera uma variação linear em B_z com a posição, resultando em uma variação na frequência de ressonância dos spins. O conteúdo do sinal obtido reflete a codificação em fase e frequência realizada pelos gradientes. Esta codificação estabelece uma correspondência entre frequência espacial e posição dos spins que geraram o FID (SCHAEFER et al., 2000).

Para a formação da imagem de RM, o FID é amostrado e submetido à Transformada de Fourier Discreta (DFT), que o converte do domínio das frequências espaciais para o domínio espacial, ou domínio da imagem, facilitando o processamento da localização espacial dos spins, sendo posteriormente realizada a codificação das intensidades do sinal correspondente a cada ponto do objeto estudado para uma escala de visualização, das quais a mais comum é a escala de cinza (MORI & BARKER, 1999).

Denomina-se *sequência de pulsos* a sequência temporal de aplicação dos pulsos de RF de excitação e gradientes para localização e leitura do sinal de RM gerado. A Figura 6.1 apresenta uma sequência de pulsos Spin-Eco (SE) empregada na aquisição das imagens ponderadas por T_2 utilizadas neste estudo.

Esta sequência se inicia com a aplicação de um pulso de RF de excitação de 90° simultaneamente ao gradiente de seleção de fatia (GS). Cessada a aplicação deste pulso, os spins começam a perder coerência de fase. Para refocalizá-los, aplica-se então um segundo pulso de excitação de 180° , juntamente com o gradiente de seleção de fatia, para que a refocalização seja aplicada à mesma fatia na qual se aplicou o pulso de 90° . Posteriormente a este pulso são aplicados os gradientes de codificação de fase (GP) e frequência (GF), sendo este o gradiente de leitura do sinal. O pulso de 180° faz com que no tempo $t = TE$ todos os spins da amostra estejam em fase, fazendo com que o FID apresente sua máxima amplitude (CHANG et al., 2003).

A manipulação dos tempos TE e TR (tempo de repetição do pulso de excitação de 90°) possibilita a obtenção de imagens com diferentes ponderações. A utilização de TR e TE curtos (TR

6. Difusão e Ressonância Magnética

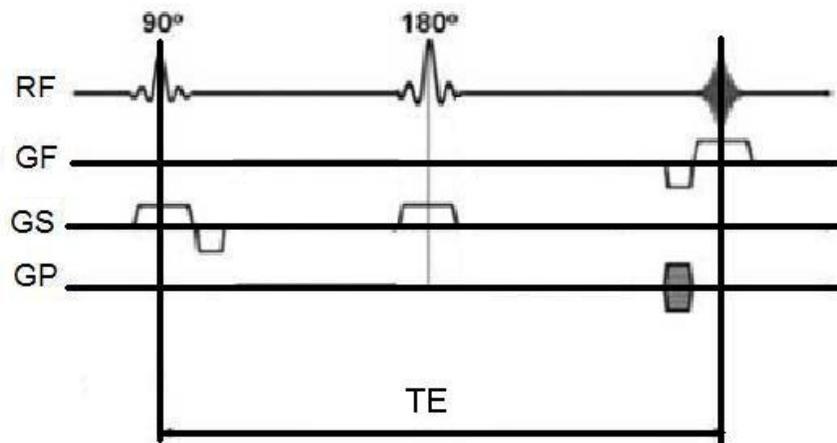


Figura 6.1: Sequência de pulsos SE para a aquisição de imagens de RM. RF: pulsos de RF; GS: gradiente de seleção da fatia; GP: gradiente de codificação de fase; GF: gradiente de codificação de frequência; TE: tempo ao eco. Modificado de BAMMER, 2003.

da ordem dos $T1s$ dos tecidos do corpo) possibilita a obtenção de imagens ponderadas por $T1$. O TR curto implica em um curto intervalo de tempo entre a aplicação do primeiro e do segundo pulso de excitação, enquanto o TE curto faz com que o eco ocorra e seja detectado rapidamente, antes da ocorrência do decaimento da magnetização transversal. Por outro lado, para a obtenção de imagens ponderadas por $T2$, deve-se utilizar TR longo e TE da ordem dos $T2s$ dos tecidos da amostra, para que ocorra a recuperação completa (ou quase completa) da magnetização longitudinal a cada ciclo, eliminando assim a dependência do sinal em relação ao tempo $T1$. Imagens ponderadas por densidade de prótons (sem as influências das ponderações $T1$ e $T2$) podem ser obtidas utilizando-se TE curto e TR longo. A ponderação por difusão, descrita na seção seguinte, tem como base imagens ponderadas por $T2$, pois este decaimento ocorre em um intervalo de tempo curto quando comparado a $T1$, considerando-se os tecidos biológicos estudados. Desta forma, esta ponderação mostra-se mais sensível a movimentos sutis de prótons de água que possam ocorrer ao longo da aquisição da imagem (MORI & BARKER, 1999).

6.2 Imagens de Ressonância Magnética Ponderadas por Difusão

Para um único spin estático, a fase acumulada em presença de um gradiente de campo magnético é dada por:

$$\phi(t) = \gamma \vec{B}_0 t + \gamma \int_0^t \vec{G}(t') \vec{x}(t') dt' \quad (6.2)$$

onde o primeiro termo representa a fase acumulada em presença do campo magnético estático \vec{B}_0 e o segundo termo é gerado pelos efeitos do gradiente de campo magnético G aplicado. A fase acumulada é proporcional à intensidade e à duração da aplicação do gradiente, bem como à localização espacial do spin. A Equação 6.2 mostra que é possível rotular a posição de um spin em função da diferença na frequência de Larmor deste em relação aos demais, sendo esta gerada pela aplicação do gradiente. Utilizando o mesmo princípio, é possível distinguir entre spins estáticos e em movimento, pertencentes a moléculas de água estáticas ou que se difundem através dos tecidos (BAMMER, 2003).

A abordagem mais comum para a aquisição de imagens de RM ponderadas por difusão (DWI - do inglês *Diffusion-Weighted Imaging*) tem como base a sequência de pulsos Spin-Eco (SE), apresentada na Figura 6.2, na qual gradientes retangulares de mesma magnitude são aplicados antes e após o pulso de refocalização de 180° . Para um spin individual que se move, as fases acumuladas com as aplicações dos gradientes anterior e posterior ao pulso de 180° são distintas e proporcionais ao deslocamento do spin na direção dos campos gradientes neste período. Quando o eco é formado, o deslocamento de fase total de um spin particular é dado por:

$$\phi(TE) = \gamma \int_{t_1}^{t_1+\delta} \vec{G}(t') \vec{x}(t') dt' - \gamma \int_{t_1+\Delta}^{t_1+\Delta+\delta} \vec{G}(t') \vec{x}(t') dt' \quad (6.3)$$

onde δ é o tempo de aplicação do gradiente de campo magnético e Δ é o tempo entre os inícios das aplicações dos gradientes anterior e posterior ao pulso de 180° , respectivamente. Na ausência de movimento do spin, a variação de fase após as aplicações do primeiro e do segundo gradiente é nula. Por outro lado, se todos os spins estão se movendo coerentemente eles acumulam fases idênticas

6. Difusão e Ressonância Magnética

(BAMMER, 2003). Na ocorrência de difusão, o deslocamento descrito por $x(t')$ é randômico, e diferentes núcleos acumulam diferentes fases. Nesta condição, considerando-se uma sequência de pulsos SE como a da Figura 6.2, ocorre uma atenuação do sinal (do eco) gerado descrita por:

$$M_{(b,TE)} = M_0 e^{-\frac{TE}{T_2}} e^{-bADC} \quad (6.4)$$

onde M_0 é a intensidade da magnetização sem influência dos processos de difusão, ADC é o coeficiente aparente de difusão cujas unidades são tipicamente mm^2/s , b é o fator de sensibilização à difusão, em unidades de s/mm^2 , T_2 é o tempo de relaxação transversal do tecido em questão e TE é o tempo ao eco. O coeficiente de sensibilização à difusão b é dependente das características do equipamento e da sequência de pulsos utilizada, sendo descrito da seguinte forma para a sequência SE:

$$b = \gamma^2 G^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3} \right) \quad (6.5)$$

Neste caso, δ é a duração de um lobo de gradiente de ponderação por difusão, Δ é o intervalo de tempo entre a aplicação de dois lobos de gradiente de ponderação por difusão, G é a magnitude destes gradientes e γ é a razão giromagnética do núcleo estudado.

Com a utilização da Equação 6.4, que caracteriza a atenuação do sinal de RM na ocorrência de difusão, é possível calcular o valor do ADC a partir de duas medidas, com o emprego de dois valores de b distintos, ou seja:

$$ADC = \frac{1}{b_1 - b_0} \ln \left(\frac{M(b_0)}{M(b_1)} \right) \quad (6.6)$$

Tipicamente o valor de b_0 é igual a zero, ou seja, utiliza-se uma imagem ponderada somente por T_2 , e uma imagem ponderada por difusão (com b_1 diferente de zero) (BAMMER, 2003).

Nas imagens ponderadas por difusão, a substância branca é geralmente hiperintensa quando comparada à substância cinzenta. Contudo, os valores de ADC médios de ambas são bastante próximos para indivíduos adultos ($7,6 \pm 1,3 \times 10^{-4} mm^2/s$ para a substância cinzenta e $7,7 \pm 1,8 \times 10^{-4} mm^2/s$ para a substância branca) (MORITANI et al., 2005). De maneira geral, regiões hipointensas nas imagens de difusão são hiperintensas nos mapas de ADC, e vice-versa.

6. Difusão e Ressonância Magnética

Alguns trabalhos relacionam o aumento da idade ao aumento do valor de ADC dos tecidos cerebrais, mas trata-se de um aumento mínimo e observado em todas as regiões do cérebro (BAMMER, 2003).

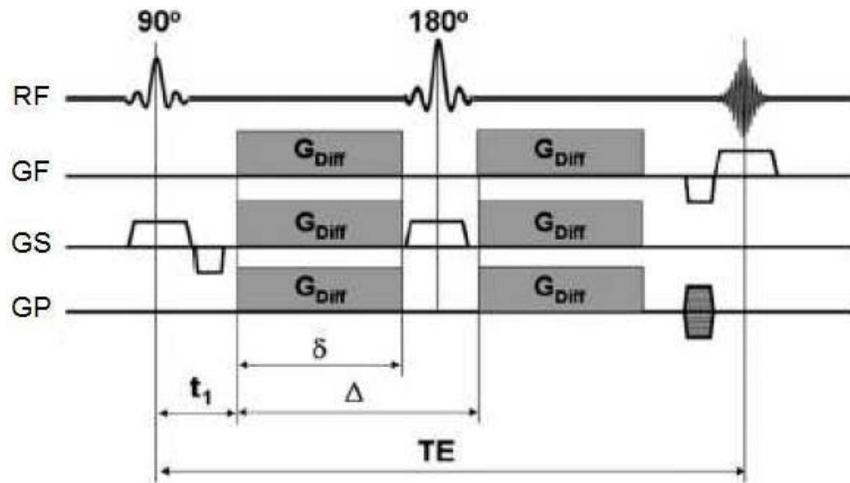


Figura 6.2: **Sequência de Pulsos SE para Aquisição de imagens DW.** RF: pulso de radiofrequência; GS: gradiente de seleção da fatia; GP: gradiente de codificação de fase; GF: gradiente de codificação de frequência; G_{Diff} : gradiente de ponderação por difusão; TE: tempo ao eco; Δ : tempo entre a aplicação de dois gradientes de ponderação por difusão; δ : duração do gradiente de ponderação por difusão; t_1 : tempo entre as aplicações do pulso de excitação de RF e o primeiro gradiente de ponderação por difusão. *Modificadode[?]* (BAMMER, 2003).

Na aquisição de imagens ponderadas por difusão uma das maiores dificuldades está na eliminação de efeitos de movimentos macroscópicos e manutenção da sensibilidade da sequência de pulsos utilizada ao movimento microscópico. Deslocamentos de centésimos de milímetros durante a codificação de fase geram grandes variações nos sinais correspondentes aos ecos. Como os movimentos macroscópicos (movimento involuntário da cabeça ou movimento pulsátil do cérebro) não apresentam padrões bem definidos, os sinais de eco são perturbados de diferentes maneiras. Estudos recentes atribuem a causa do movimento fisiológico do cérebro à compressão sistólica dos ventrículos e à movimentação caudal das estruturas da linha média. O movimento macroscópico gera artefatos nas imagens de difusão, o que pode ser minimizado com o emprego de técnicas de

6. Difusão e Ressonância Magnética

aquisições rápidas, tais como as técnicas EPI (Echo-Planar Imaging). A utilização de gradientes de ponderação por difusão antes e após o pulso de refocalização de 180° também contribui para a minimização de artefatos de movimento fisiológico e manutenção da sensibilidade à difusão (BAMMER, 2003).

Processamento de Imagens

7.1 Imagens Digitais

Uma imagem pode ser definida como uma função bidimensional $f(x, y)$, onde x e y são as coordenadas espaciais e a amplitude de f em qualquer coordenada (x, y) é a intensidade (brilho) da imagem naquele ponto. Quando x , y e a amplitude de f são quantidades discretas e finitas têm-se uma imagem digital. Nesta, cada elemento $f(x, y)$ é denominado pixel (*picture element*) ou mais genericamente spel (*space element*). No caso de uma imagem tridimensional seu menor elemento constituinte é denominado voxel (*volume element*). Uma imagem digital pode ser representada por meio da utilização de diferentes tipos de escalas de intensidades, exemplos das quais são a escala de níveis de cinza e as escalas de cores. Na escala de cinza o brilho pode variar linearmente no intervalo $[0, 2^b - 1]$, sendo b o número de bits por pixel (profundidade da imagem). Lembrando que o bit é a menor quantidade de informação que pode ser armazenada ou transmitida digitalmente, para $b = 8$ por exemplo, cada pixel da imagem pode armazenar até 256 níveis de cinza, onde 0 corresponde ao preto e 255 corresponde ao branco. A escala de cinza mostra-se mais adequada para aquisição e análise de imagens médicas dada sua variação linear. Embora a maioria das imagens médicas utilize escalas onde a intensidade dos pixels pode variar de 0 a 256 níveis de cinza ou mais, sabe-se que o olho humano é capaz de distinguir aproximadamente 30 níveis de cinza (GONZALEZ et al., 2008). Desta forma, para melhorar a capacidade de extração de informações destas imagens

7. Processamento de Imagens

dispõe-se de diversas ferramentas de processamento, algumas das quais serão descritas nas seções seguintes. A Figura 7.1 apresenta um exemplo de uma imagem digital em escala de cinza e sua matriz numérica.

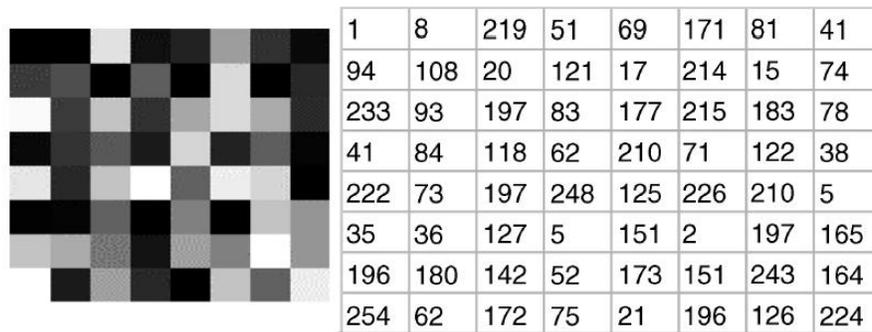


Figura 7.1: Exemplo de uma imagem digital em níveis de cinza (à esquerda) e sua correspondente matriz numérica (à direita).

As seções seguintes apresentam alguns conceitos básicos referentes à segmentação e ao corregristo de imagens, operações utilizadas neste estudo.

7.2 Segmentação de Imagens

Em algumas circunstâncias pode ser necessário destacar ou separar uma porção da imagem que contenha uma estrutura ou informação metabólica de interesse para viabilizar ou facilitar seu processamento e análise. O processo de dividir a imagem em suas regiões constituintes é denominado segmentação. Esta operação consiste de dois processos básicos: identificação e delineamento da estrutura de interesse. A identificação define a localização aproximada do objeto e o delineamento extrai sua extensão na imagem. O grau de divisão de estruturas da imagem e a forma como ela é feita dependem do problema em questão (DOUGHERTY et al., 2003). Como exemplo de situação na qual a segmentação de imagens é necessária, pode-se citar o corregristo (fusão) de imagens de PET (Positron-Emission Tomography) e CT ou PET e RM, onde é necessária a remoção do crânio e escalpo das imagens anatômicas de TC e RM via segmentação.

Os métodos de segmentação podem ser classificados de acordo com o tipo de representação

7. Processamento de Imagens

que utilizam, podendo ser baseados em bordas ou em região. Métodos baseados em bordas procuram extrair contornos fechados, sendo um contorno fechado um caminho de 4 ou 8 pixels adjacentes que separa o interior do exterior do objeto, definindo ou não uma orientação para o contorno. Já os métodos baseados em região procuram extrair o conjunto de pixels correspondente ao interior do objeto, incluindo os pixels de fronteira. Algumas abordagens denominadas híbridas utilizam estratégias baseadas em bordas e em região simultaneamente, independentemente da representação final do objeto (GONZALEZ et al., 2008).

Outra estratégia de segmentação de imagens baseia-se na Morfologia Matemática, que teve origem na década de 60 e era inicialmente aplicada apenas para imagens binárias sendo, posteriormente, estendida para as de níveis de cinza e coloridas. A palavra *morfologia* é oriunda do grego e significa estudo (*logia*) das formas (*morphos*), isto é, tem a função de extrair informações tanto geométricas quanto topográficas de um conjunto desconhecido da imagem. Esse processo é realizado através de operadores elementares denominados dilatação e erosão, sendo estes as bases da Morfologia Matemática. As dilatações e erosões são os elementos fundamentais para construção de uma ampla classe de operadores (DOUGHERTY et al., 2003). No caso de imagens binárias, os operadores são aplicados sobre subconjuntos e, para imagens em níveis de cinza, são aplicados sobre funções. A Figura 7.2 apresenta um exemplo de uma imagem de RM ponderada por $T1$ na qual foi realizada a segmentação da substância branca utilizando Morfologia Matemática. Neste estudo foi criada uma máscara baseada nesta estratégia para que os mapas de ADC fossem calculados apenas no interior do crânio, evitando assim operações matemáticas indevidas, como o cálculo do logaritmo de zero, e minimizando o custo computacional da operação.

7.3 Corregistro de Imagens (Fusão de Imagens)

O corregistro de imagens é um processo de alinhamento que possibilita a relação entre características correspondentes das imagens de interesse. O termo também se refere ao alinhamento de imagens adquiridas por um sensor com imagens geradas por um modelo computacional ou o alinhamento entre uma imagem e um sistema de coordenadas no espaço físico. As imagens podem ser adquiridas utilizando um mesmo tipo de sensor ou sensores diferentes, bem como o mesmo sensor em instantes diferentes (MAES et al., 1997). O processo envolve a busca por transformações

7. Processamento de Imagens

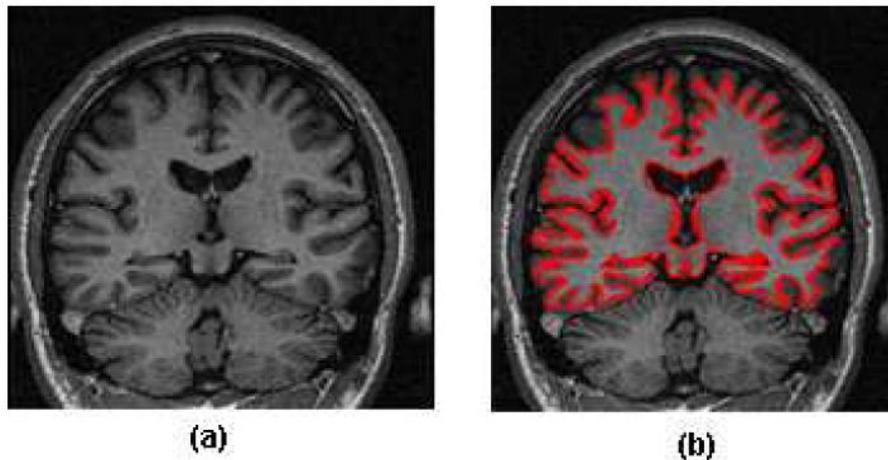


Figura 7.2: **Segmentação de imagens utilizando Morfologia Matemática.** (a) Imagem de RM cerebral ponderada por T1 de um indivíduo controle, corte coronal. (b) Segmentação da substância branca utilizando Morfologia Matemática (contorno vermelho).

que relacionem as informações contidas em uma imagem com as informações contidas em outra, sendo utilizado na área médica para correlação anatômico-funcional, exemplo da qual é o corregristo de imagens de PET ou SPECT em imagens de CT ou RM estrutural, ou o corregristo entre imagens funcionais de RM em imagens anatômicas desta mesma modalidade. A Figura 7.3 apresenta um exemplo clássico de fusão de imagens médicas, onde uma imagem funcional de PET é corregristada com uma imagem anatômica de CT.

No presente trabalho, utilizou-se o corregristo de imagens intra-sujeito para o alinhamento entre as imagens ponderadas por difusão e as imagens ponderadas por T2 anteriormente ao cálculo dos mapas de ADC. Isso porque, apesar de as imagens ponderadas por T2 e as imagens de difusão serem adquiridas sequencialmente, com o paciente mantido na mesma posição, pequenos movimentos de cabeça podem resultar em deslocamento dos voxels entre as aquisições. As imagens foram corregristadas utilizando o software RIGREG (QASI, 2008) , que utiliza o algoritmo de Maximização da Informação Mútua (MIM) e Transformações Afins (TAs), descritos nas seções seguintes.

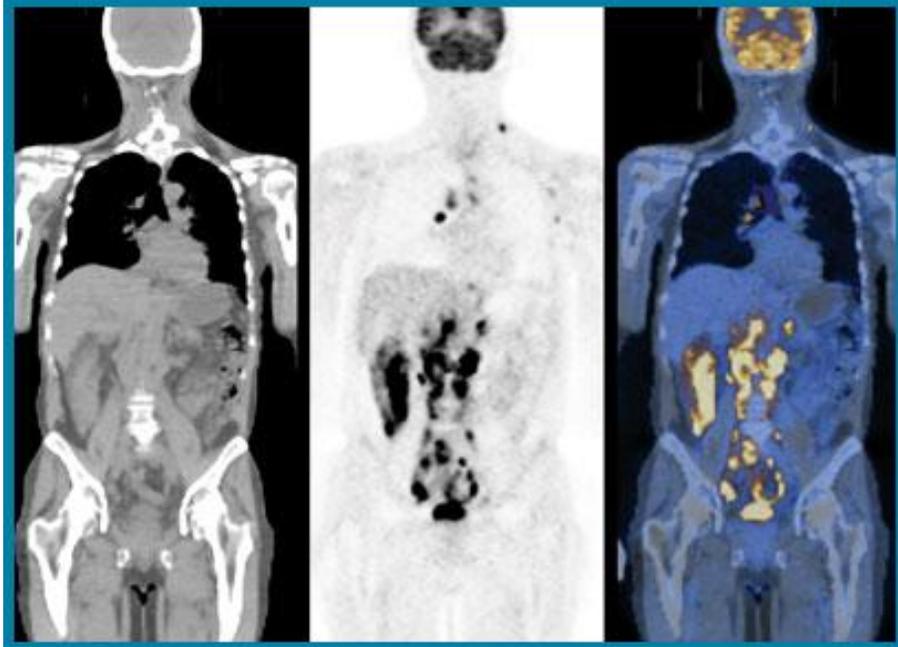


Figura 7.3: **Fusão de uma imagem estrutural de CT com uma imagem funcional de PET.** Esquerda: imagem de CT de corpo inteiro (anatômica). Meio: Imagem de PET de corpo inteiro, apresentando lesões tumorais hipercaptantes. Direita: imagens corregistradas (fundidas), onde é possível se obter uma localização anatômica das lesões ativas. Imagem extraída de www.siemens.com/healthcare/petct.

7.3.1 Transformações de Corpo Rígido (Transformações Afins)

O objetivo do corregristo de corpo rígido é encontrar seis graus de liberdade (três rotações e três translações) da transformação $T:(x,y,z) \rightarrow (x',y',z')$ que mapeie qualquer ponto da imagem fonte na imagem alvo. As transformações afins são uma extensão deste modelo e têm como base uma matriz com 12 graus de liberdade utilizada nas operações de escalamento e cisalhamento. Estas transformações estão generalizadas na Equação 7.1.

$$\mathbf{T} \begin{pmatrix} x & y & z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} x' \\ y' \\ z' \\ 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a_{00} & a_{01} & a_{02} & a_{03} \\ a_{10} & a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{20} & a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} x \\ y \\ z \\ 1 \end{pmatrix} \quad (7.1)$$

7. Processamento de Imagens

Estas TAs ou modelos de transformações lineares são utilizadas para correção de imagens das quais alguns dos parâmetros de aquisição, tais como tamanho do voxel ou tilt do gantry, são desconhecidos, bem como para acomodar na imagem uma variabilidade de formas geométricas. Adicionando-se graus de liberdade à matriz apresentada, as transformações lineares se estendem a não-lineares. A Figura 7.4 apresenta alguns exemplos de diferentes tipos de transformações comumente utilizadas no correção de imagens (MAES et al., 1997).

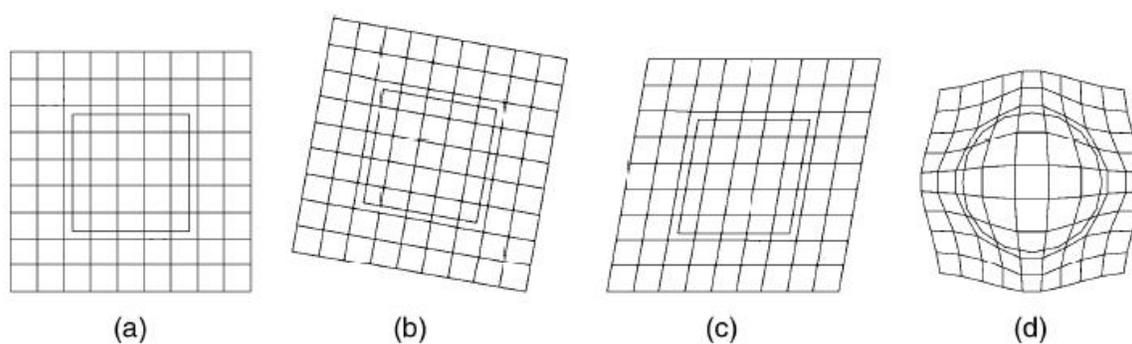


Figura 7.4: Exemplos de diferentes tipos de transformações aplicadas a um quadrado. (a) Transformação de identidade. (b) Transformação rígida. (c) Transformação afim. (d) Transformação não-rígida. Modificado de MAES et al., 1997.

7.3.2 Entropia

O conceito de entropia foi introduzido com o intuito de demonstrar o caráter direcional dos processos físicos. No entanto, ele foi posteriormente aplicado à descrição de sistemas de informação. Neste caso, quando aplicada a uma fonte de informação, a entropia seria capaz de determinar a capacidade do canal para a transmissão da informação em bits codificados. Em processamento de imagens, a entropia é utilizada principalmente em algoritmos de segmentação e compressão. Nos métodos de binarização, uma função critério é definida como base no cálculo da entropia da imagem e um nível ou limiar ótimo é definido através da maximização ou minimização da função, dependendo do algoritmo adotado. Por se tratar de uma medida estatística de aleatoriedade, ela pode ser útil para a classificação dos pixels de uma imagem, sendo um dos parâmetros calculados também na análise estatística de textura (MAES et al., 1997).

7.3.3 Maximização da Informação Mútua

A Maximização da Informação Mútua (MIM) ou Entropia Relativa é utilizada para descrever a dispersão presente em histogramas 2D das imagens a serem corregistradas. A MIM é um conceito básico da Teoria da Informação que mede a dependência estatística entre duas variáveis aleatórias ou a quantidade de informação que uma variável possui a respeito da outra. Para corre-gistro de imagens médicas da mesma modalidade, mas de naturezas distintas, tais como imagens de RM anatômicas e funcionais, considera-se que a maximização da informação referente às intensidades de pares de voxels correspondentes é máxima quando as imagens estiverem alinhadas geometricamente. Como nenhuma consideração referente à natureza da relação entre as intensidades das imagens é feita, este é um critério geral, podendo ser aplicado automaticamente sem o emprego de segmentação ou normalizações (MAES et al., 1997).

Metodologia

8.1 Aspectos Éticos, População Estudada e Aquisição das Imagens

8.1.1 Aspectos Éticos da Pesquisa

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, segundo o CAAE 054.0.146.000-07. Por tratar-se de um estudo retrospectivo com a utilização de imagens clínicas adquiridas em outros protocolos de pesquisa, houve dispensa da assinatura, pelos participantes, do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

8.1.2 População Estudada

Para o desenvolvimento do presente trabalho foram utilizadas imagens de RM ponderadas por $T2$ e imagens DW de indivíduos-controle e pacientes acometidos por glioblastoma multiforme ou meningioma, sendo estas pertencentes à base de dados do Laboratório de Neuroimagem (LNI) do Hospital das Clínicas da UNICAMP. Trata-se, pois, de uma análise retrospectiva. A população estudada foi constituída por 10 indivíduos-controle com idade entre 22 e 48 anos (média = $33,5 \pm 3,8$ anos), 60% homens, 10 pacientes acometidos por glioblastoma multiforme, com idade entre 42 e 64 anos (média = $49,6 \pm 4,5$ anos), 60% homens, e 10 pacientes acometidos por meningiomas,

8. Metodologia

com idade entre 36 e 54 anos (média = $42,5 \pm 2,8$ anos), 40% homens. Todos os diagnósticos e as classificações dos tipos de tumores foram obtidos através de análises histopatológicas, realizadas após a aquisição das imagens e ao longo do tratamento dos pacientes. A Tabela 7.1 apresenta uma síntese das características da população participante do estudo.

Tabela 8.1: Características da população estudada.

INDIVÍDUOS	NÚMERO	IDADE	SEXO
Controles	10	($33,5 \pm 3,8$) anos	60% homens
Glioblastoma	10	($49,6 \pm 4,5$) anos	60% homens
Meningeoma	10	($42,5 \pm 2,8$) anos	40% homens

8.1.3 Imagens Utilizadas

As imagens utilizadas foram adquiridas entre abril de 2003 e fevereiro de 2006 no scanner de RM de *2T Prestige*, produzido pela empresa Elscint (Aifa, Israel). As imagens ponderadas por T_2 foram obtidas com o emprego da sequência de pulsos SE-EPI, sendo as imagens DW adquiridas com a utilização de uma variante desta sequência na qual dois gradientes de ponderação por difusão são aplicados antes e após o pulso de refocalização de 180° . Os parâmetros de aquisição das imagens T_2 e DW foram, respectivamente $TR/TE = 550/10$ ms e $TR/TE = 500/10$ ms. Cada imagem era constituída por 16 fatias com matrizes de 208×130 pixels, sendo cada pixel de dimensão $3,18mm^2$ e a profundidade da imagem $7,2mm$ (dimensão do voxel = $22,9mm^3$). As imagens ponderadas por difusão foram adquiridas ao longo de três direções (x, y, z) com um único valor de $b = 700s/mm^2$ (coeficiente de sensibilização à difusão, apresentado na Equação 6.5). Trata-se do único valor de b possível no scanner de RM utilizado. A Tabela 8.2 sintetiza as características das imagens utilizadas.

8. Metodologia

Tabela 8.2: Características das imagens utilizadas no estudo.

Parâmetros	T2	DWI
Sequência de Pulsos	SE-EPI	SE-EPI
TR (ms)	550	500
TE (ms)	10	10
Número de Fatias	16	16
Dimensão do Voxel (mm³)	22,9	22,9

8.2 Processamento de Imagens, Cálculo dos Mapas de ADC e Análise de Dados

As seções seguintes apresentam a descrição das etapas de desenvolvimento do presente estudo, estando elas sintetizadas no diagrama de blocos da Figura 8.1. A tabela da Figura 8.2 apresenta uma lista de programas utilizados no trabalho e suas correspondentes funções.

8.2.1 Processamento das Imagens T_2 e DW

As imagens de RM ponderadas por T_2 e DW presentes na base de dados do LNI foram exportadas, em formato *DICOM* proprietário, a partir da estação de trabalho do Scanner Prestige 2T do fabricante Elscint. A visualização do cabeçalho destas imagens possibilita a obtenção de informações como a data e horário de aquisição da imagem, dimensões da matriz e tamanho de pixel, campo de visão do equipamento, TR, TE, dados do paciente, dentre outros. Para cada paciente (ou indivíduo controle) foram obtidas quatro pastas contendo cada uma delas 16 imagens bidimensionais (fatias). Uma das pastas continha as imagens ponderadas por T_2 e as três demais continham cada uma delas as aquisições de imagens DW mediante a aplicação de gradientes de ponderação por difusão nas direções x , y e z , respectivamente.

Com o emprego do software MRICro, estas imagens foram então convertidas do formato *DICOM* para o formato *ANALYZE*, sendo esta conversão necessária por ser este último o único

8. Metodologia

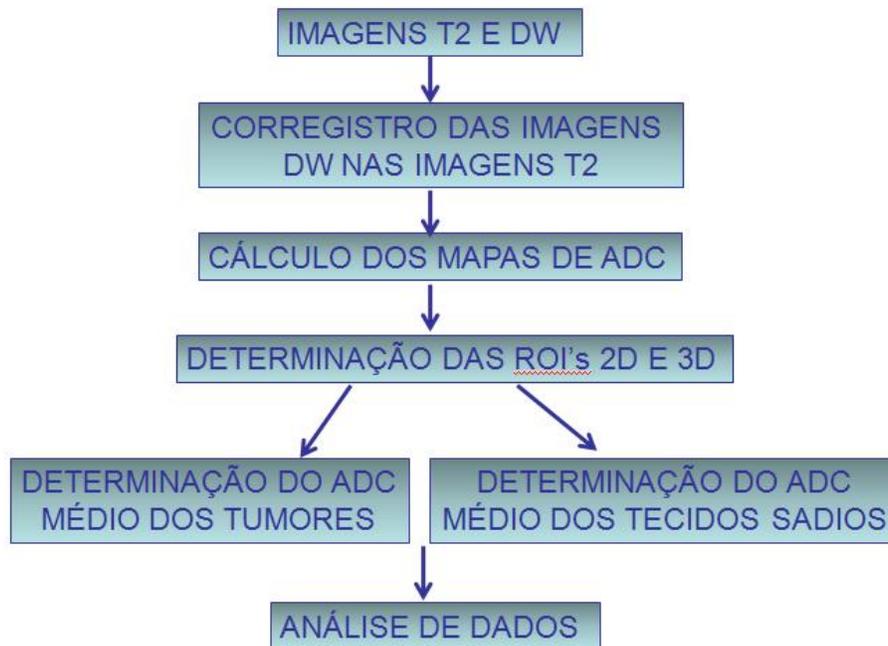


Figura 8.1: Diagrama de blocos que sintetiza as etapas de desenvolvimento do trabalho.

Tabela 8.3: Programas utilizados no estudo e suas correspondentes funções.

Software	Função
MRicro	Conversão das imagens DICOM -> ANALYZE
RIGREG	Corregistro das imagens DW nas imagens T2
XMEDCON	Conversão das imagens DW do formato ANALYZE -> DICOM
MATLAB	Cálculo dos Mapas de ADC com o emprego de rotinas desenvolvidas durante a iniciação científica
IMAGEJ	Definição de ROI's e determinação do valor médio de ADC para controles e pacientes, em 2D e 3D

Figura 8.2: Programas utilizados para desenvolvimento do estudo e suas correspondentes funções.

formato aceito pelo software de corregistro de imagens RIGREG, utilizado posteriormente. A conversão foi realizada pasta por pasta, para cada paciente ou controle. Neste processo, as 16

8. Metodologia

fatias das imagens $T2$ ou DW das 4 pastas de imagens 2D obtidas para cada paciente foram convertidas em 4 volumes (imagens 3D) que correspondiam respectivamente à imagem $T2$ e às imagens DW adquiridas nas direções x , y e z .

No software RIGREG (QASI, 2008) foi realizado para cada paciente o corregristo de cada uma das imagens DW na imagem $T2$ correspondente. Esta operação teve por objetivo alinhar as imagens DW com as imagens $T2$, tomadas como referência. Embora estas imagens tenham sido adquiridas sequencialmente e com o paciente na mesma posição, estão sujeitas à ocorrência de pequenos deslocamentos dos pixels de uma em relação a outra (das imagens DW em relação à $T2$), ocorrendo variações de intensidade decorrentes destes deslocamentos. O software empregado no corregristo é de uso livre e foi desenvolvido com base em algoritmos de Transformações Afins (TAs) e Maximização da Informação Mútua (MIM), descritos na Seção 7.3. Após o corregristo, as imagens DW resultantes desta operação foram reconvertidas para o formato *DICOM* com o emprego do software XMEDCON, sendo esta conversão necessária por ser este o formato utilizado pelos programas MATLAB e IMAGEJ, empregados nas etapas subsequentes. Tanto a conversão das imagens do formato *DICOM* para o formato *ANALYZE* quanto a conversão do formato *ANALYZE* para o formato *DICOM* não alteram as informações contidas nas matrizes correspondentes às imagens.

8.2.2 Cálculo dos Mapas de ADC

A rotina implementada em Matlab para cálculo dos mapas de ADC inicialmente aplica sobre as imagens $T2$ e DW uma máscara morfológica para que as operações realizadas posteriormente contemplem somente a porção da imagem correspondente ao interior do crânio do paciente ou controle. Isso, além de minimizar o custo computacional da operação, exclui dos cálculos de valores de ADC as intensidades nulas das imagens, o que é importante pois o cálculo do ADC para cada pixel ou voxel envolve os logaritmos das intensidades das imagens $T2$ e DW, sendo inexistente o logaritmo de zero. Os cálculos dos mapas de ADC foram realizados com a utilização das imagens $T2$ e DW tridimensionais e no formato *DICOM*. A partir das imagens DW adquiridas ao longo das direções x , y e z , foi obtida uma imagem correspondente à média geométrica das três imagens DW, de acordo com a expressão:

8. Metodologia

$$DWR = \sqrt[3]{DW_x DW_y DW_z} \quad (8.1)$$

onde DW_x , DW_y e DW_z , são as imagens DW obtidas ao longo dos eixos x , y e z . Nestas, quanto maior a intensidade do sinal, menor a movimentação de moléculas de água na região correspondente. Visualmente, áreas mais claras correspondem a regiões de baixa difusão de moléculas de água, enquanto as áreas mais escuras correspondem a regiões de elevada difusão. A partir da imagem ponderada por $T2$ e da imagem DWR obtém-se o mapa de ADC, segundo a equação:

$$ADC = \frac{1}{b} \ln \frac{T2(x, y, z)}{DWR(x, y, z)} \quad (8.2)$$

onde $T2(x, y, z)$ é a intensidade de um voxel da imagem ponderada $T2$, b é o fator de sensibilização à difusão (igual a 700 s/mm^2 , neste caso) e $DWR(x, y, z)$ é a intensidade do voxel correspondente na imagem DWR, obtida na Equação 8.1. Nos mapas de ADC, áreas de maior intensidade (mais claras) correspondem a uma maior difusão das moléculas de água, enquanto áreas de menor intensidade correspondem a uma menor difusão das moléculas de água, de maneira oposta ao que é visto nas imagens DW.

8.2.3 Determinação do Valor Médio de ADC 2D para o Grupo Controle e Pacientes

Os mapas de ADC calculados para pacientes e indivíduos controle foram exportados como imagens DICOM ao programa IMAGEJ. Para o cálculo do valor médio de ADC dos tumores em duas dimensões, foi escolhida, dentre as 16 fatias do mapa de ADC calculado para um dado paciente, aquela que se mostrou visualmente mais representativa da lesão, ou seja, a fatia na qual a lesão apresentava maior área e indícios de infiltração de tecidos próximos e/ou hemisfério cerebral contralateral ao tumor.

Na fatia selecionada, foi desenhada manualmente uma região de interesse (ROI) englobando o tumor e em alguns casos porções de tecidos bastante próximas que poderiam ser possíveis vias de migração/infiltração de células neoplásicas para tecidos cerebrais vizinhos e/ou hemisfério cerebral contralateral à lesão primária. Estas ROIs foram desenhadas de acordo com as orientações

8. Metodologia

do neurocirurgião que colaborou com o estudo. Na ROI desenhada, determinou-se o valor médio de ADC com a utilização de ferramentas do IMAGEJ. Foram obtidos, portanto, 20 valores médios de ADC para os pacientes acometidos por glioblastomas e meningiomas (10 valores médios para cada grupo).

Para os indivíduos controle foi selecionada, no mapa de ADC de cada um deles, uma fatia próxima às fatias mais selecionadas para análise dos tumores, que foram as fatias 10, no caso dos glioblastomas e 11 no caso dos meningiomas, dentre as 16 fatias constituintes do mapa. Selecionou-se então a fatia na qual era possível a determinação manual de uma ROI que incluía uma mistura das substâncias branca e cinzenta do cérebro, cujas dimensões fossem próximas àquelas das ROIs utilizadas para análise dos tumores. A partir destas ROIs e com a utilização de ferramentas do programa IMAGEJ, foi determinado um valor de ADC médio para tecidos cerebrais sadios de cada um dos controles, totalizando 10 valores médios de ADC para este grupo.

8.2.4 Determinação do Valor Médio de ADC 3D para o Grupo Controle e Pacientes

Após a determinação dos valores de ADC 2D para pacientes e controles, foi questionado se estes valores se manteriam mediante a realização de uma análise tridimensional, dado o caráter 3D da difusão em tecidos biológicos. Para responder esta questão, foram obtidos, para cada um dos pacientes, volumes baseados em 3 fatias do mapa de ADC calculado, sendo a fatia central a mesma utilizada na análise 2D (fatia mais representativa da lesão). Foram então manualmente definidas, no programa IMAGEJ, as ROIs 3D para a determinação do ADC médio do tumor, sendo obtidos assim 10 valores de ADC médios 3D para glioblastomas e 10 valores para meningiomas.

No caso do grupo controle, foram aplicadas em todos os indivíduos todas as 20 ROIs 3D definidas para os pacientes, sobre as correspondentes fatias do mapa de ADC. Ou seja, foram aplicadas 20 diferentes ROIs 3D a 10 indivíduos controle, o que resultou na obtenção de 200 valores médios de ADC para tecidos cerebrais sadios neste grupo. No entanto, em decorrência da variabilidade anatômica entre os indivíduos e do fato de a maioria dos tumores ser grande, acometendo também os ventrículos laterais, muitas ROIs de tumores, quando aplicadas aos controles, se sobrepunham a estes ventrículos, onde há fluxo de líquido. Este fluxo faz com que os ventrículos laterais

8. Metodologia

tenham valores de ADC superiores àqueles encontrados para as substâncias branca e cinzenta do cérebro. A partir deste conhecimento, para os indivíduos controle, foram modificadas as ROIs 3D que se sobrepunham aos ventrículos laterais, sendo a porção sobreposta excluída, excluindo-se das análises os valores de ADC do líquido. Para este grupo, foi realizada a análise dos valores médios de ADC tanto com a utilização das ROIs 3D originais dos pacientes quanto com estas ROIs modificadas (excluindo-se os ventrículos laterais). Esta análise permitiu verificar se há ou não influência dos valores de ADC dos ventrículos laterais na distinção entre o grupo controle, e grupos de pacientes com glioblastoma e meningioma.

8.2.5 Análise de Dados

Os dados obtidos ao longo do estudo são apresentados através de gráficos de dispersão de seus valores médios para cada um dos grupos, bem como boxplots comparativos entre os grupos, sendo estes apresentados tanto para a análise 2D quanto para as análises 3D. Nos boxplots são representadas cinco grandezas, sendo elas: o menor valor observado (a amostra mínima), o quartil inferior, a mediana, o quartil superior e o maior valor obtido (amostra máxima) (ZAR, 2010).

Os valores médios de ADC obtidos nas ROIs 2D e 3D para pacientes e indivíduos controle (com e sem influência dos ventrículos laterais) foram analisados com o emprego da Análise da Variância (ANOVA) e complementarmente pelo teste de Bonferroni (ZAR, 2010). A ANOVA foi utilizada para testar a igualdade entre as médias de ADC obtidas para cada um dos grupos estudados (controles, glioblastoma e meningioma), considerando todas as abordagens empregadas (ROIs 2D e 3D, avaliando-se neste último caso se há influência dos ventrículos laterais sobre os valores de ADC médios dos controles). Basicamente, esta técnica utiliza a soma dos quadrados dos desvios dos dados em relação à média para verificar se as diferenças observadas entre as médias são provenientes de aleatoriedades ou do fato de os grupos avaliados serem realmente distintos. Para confirmação dos resultados obtidos pela ANOVA foi utilizada a análise de Bonferroni, de acordo com a qual se n hipóteses iguais ou diferentes são testadas, a única forma de manter a taxa de erro do tipo I baixa é testar cada hipótese individual a um nível de significância de $1/n$ multiplicado pelo erro que seria obtido se somente uma hipótese fosse testada. Caso se deseje que o nível de significância de todos os testes, considerando todas as hipóteses, seja no máximo α , então a

8. Metodologia

correção de Bonferroni irá avaliar cada um dos testes individuais em um nível de significância α/n (ZAR, 2010). As análises estatísticas dos dados foram realizadas com a utilização do programa SYSTAT.

Resultados e Discussão

9.1 Valores de ADC obtidos em ROIs 2D

Segundo Moritani e colaboradores (MORITANI et al., 2005), para tecidos cerebrais sadios o valor médio de ADC encontrado em regiões do cérebro onde há substâncias branca e cinzenta situa-se em torno de $(7,6 \pm 1,3 \times 10^{-4} mm^2/s)$ para indivíduos adultos. Pequenas variações deste valor são encontradas na literatura. O mesmo autor afirma que glioblastomas multiformes são hiperintensos nas imagens DW e apresentam valores de ADC reduzidos, refletindo uma redução no volume do espaço extracelular. Estes achados vêm sendo correlacionados com a celularidade e o grau do tumor. Tumores de maior celularidade são mais densos, sem padrão definido, dificultando assim a passagem de moléculas de água através deles e nos arredores (NOWOSIELSKI et al., 2010). A diminuição dos valores de ADC destes tumores em relação a outros e em relação aos tecidos cerebrais sadios é atribuída também ao aumento do tamanho do núcleo das células tumorais. Kwee et al. encontraram, para estes tumores, valores de ADC em torno de $(1,14 \pm 10^{-4} mm^2/s)$ (Kwee et al., 2010). Gliomas de baixo grau, por outro lado, apresentam valores de ADC maiores, podendo estes até ser próximos aos obtidos para tecidos cerebrais sadios (KRABBE et al., 1997).

As características dos meningiomas nas imagens DW variam bastante, dada a grande variabilidade de meningiomas descritos. Segundo Cabada et al., meningiomas benignos são isointensos nas imagens DW e nos mapas de ADC, podendo-se encontrar também alguns levemente

9. Resultados e Discussão

hiperintensos tanto nas imagens *DW* quanto nos mapas de ADC (CABADA et al., 2009). No caso de meningiomas malignos ou atípicos, fatores como a presença de áreas multifocais de necrose, numerosas áreas de elevada atividade mitótica e o pleomorfismo citológico podem fazer com que estes tumores sejam hiperintensos nas imagens *DW* e tenham valores de ADC baixos. Os valores de ADC para meningiomas benignos também são bastante próximos aos encontrados para tecidos cerebrais saudáveis (em torno de $(7,6 \pm 1,3) \times 10^{-4} \text{mm}^2/\text{s}$) (MORITANI et al., 2005). Todos os estudos citados nesta seção consideram os valores de ADC obtidos em ROIs 2D.

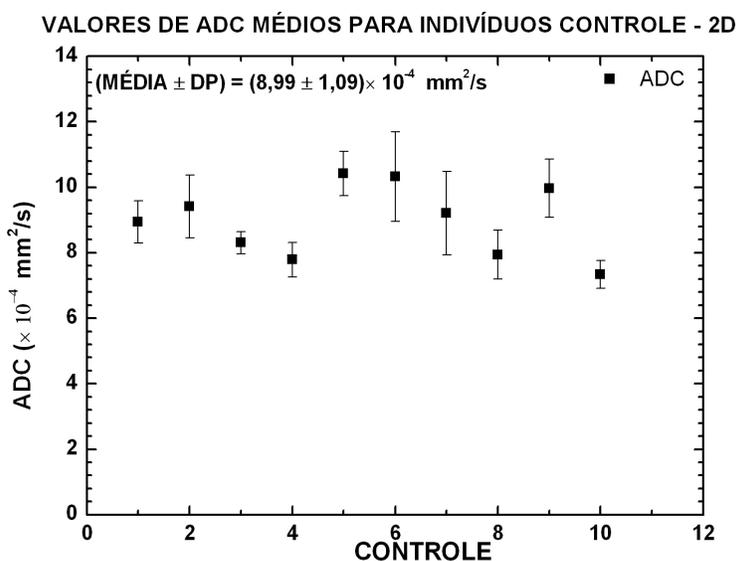


Figura 9.1: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 2D. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

Os gráficos das figuras 9.1, 9.2 e 9.3 apresentam os valores médios de ADC obtidos nas ROIs 2D para todos os indivíduos de cada um dos grupos estudados. Para o grupo controle, a média dos valores de ADC encontrada nesta análise difere em 18% do valor encontrado na literatura e adotado neste estudo como referência, enquanto para os grupos de pacientes acometidos por glioblastoma e meningioma esta diferença é de 128% e 36,8%, respectivamente. Contudo, ao comparar os três grupos estudados entre si, observa-se que a média dos valores de ADC encontrados para pacientes acometidos por glioblastoma ou meningioma difere do grupo controle em 71,1% e

9. Resultados e Discussão

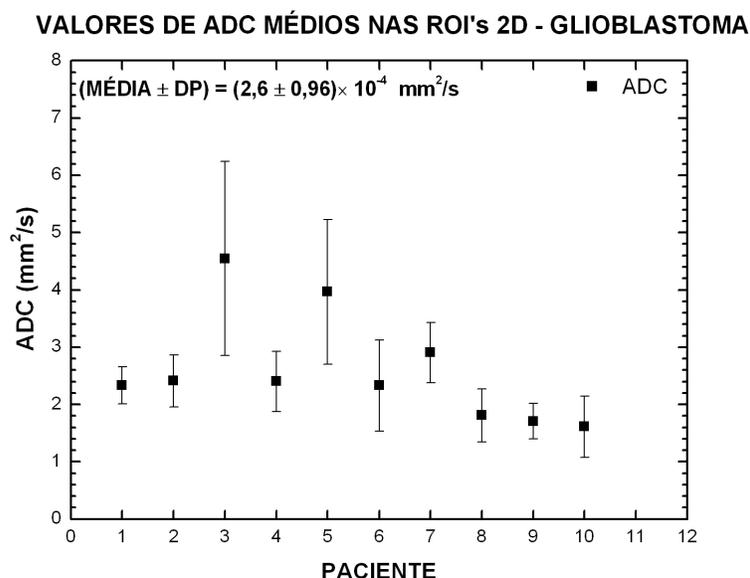


Figura 9.2: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por glioblastoma multiforme - ROIs 2D. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

45,7%, respectivamente. Ao analisar os trabalhos já realizados e tidos como referência do assunto, observa-se que a literatura busca e sugere intervalos de valores de ADC correspondentes a cada tipo de tecido, e não um valor único (MORITANI, EKHOLM & WESTESSON, 2005; POUSSAINT et al., 2011; RAJESHKANNAN et al., 2006; SUGAHARA, 1999). Isso porque a variabilidade de hardwares disponíveis, de técnicas utilizadas na aquisição e processamento das imagens $T2$ e DW , a razão sinal-ruído e variações anatômicas entre os indivíduos impossibilitam a obtenção de um único valor de referência. Mesmo neste contexto, considerando as características físicas dos processos de difusão de moléculas de água nos tecidos e de aquisição de imagens de RM, a diferenciação entre tecidos cerebrais sadios e tecidos tumorais mostra-se viável, considerando-se as lesões estudadas neste trabalho. Exemplos dos mapas de ADC calculados e correspondentes ROIs 2D para os tecidos cerebrais sadios e os tumores estudados encontram-se no Apêndice 1.

No gráfico da Figura 9.2, observa-se que os desvios-padrão do valor médio de ADC dos pacientes 3 e 5 é superior aos dos demais pacientes. O histórico clínico destes dois pacientes mostra que se trata de casos de astrocitomas de grau II que evoluíram para glioblastoma multiforme.

9. Resultados e Discussão

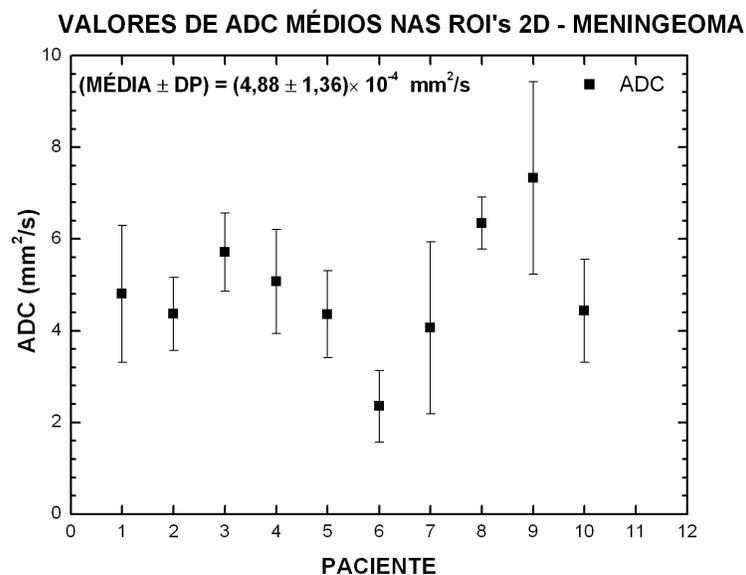


Figura 9.3: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por meningeoma - ROIs 2D. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

Os demais pacientes receberam o diagnóstico de glioblastoma já na primeira análise histológica realizada. Apesar do pequeno número de pacientes para os quais isso foi observado, estes resultados apontam para a importância da análise não somente do valor médio de ADC na ROI, mas também de seu desvio-padrão. Esta medida pode revelar aspectos importantes a respeito da evolução dos astrocitomas, alterando prognósticos e direcionando melhor a abordagem terapêutica.

Na Figura 9.3 observa-se uma grande variabilidade de valores médios e desvios-padrão de ADC dos meningeomas, também para a análise 2D. Isso está associado à grande variedade de tipos de meningeomas existentes, não tendo sido feita a seleção, para o presente estudo, de um tipo específico. Para os meningeomas, quanto maior a profundidade de penetração do tumor no cérebro, menores os valores de ADC obtidos. Esta profundidade de penetração foi avaliada qualitativamente pela observação do número de fatias nas quais o tumor era visto, bem como as estruturas cerebrais por ele acometidas. A faixa de valores médios nas ROIs 2D dos meningeomas difere daquela encontrada para os glioblastomas e tecidos cerebrais sadios do grupo controle, como mostra o *boxplot* da Figura 9.4.

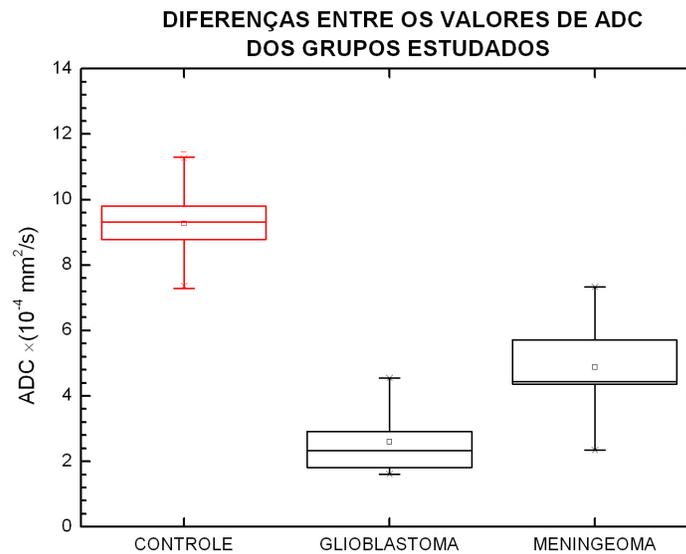


Figura 9.4: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados, considerando-se os valores de ADC obtidos em ROIs 2D.

9.2 Valores de ADC obtidos em ROIs 3D para o Grupo Controle

A determinação em 3D dos valores médios de ADC dos indivíduos controle foi realizada utilizando as mesmas ROIs dos pacientes (todas as ROIs dos pacientes foram aplicadas a todos os controles, resultando em 200 valores de ADC médios para tecidos cerebrais de indivíduos sadios). Isso na maioria dos casos implicou na sobreposição das ROIs a porções dos ventrículos laterais dos controles. Foi necessária então uma avaliação da influência desta sobreposição nos resultados, dado que o fluxo de líquido tende a aumentar o valor de ADC na ROI em questão, induzindo erroneamente a um distanciamento entre os valores de ADC do grupo controle em relação aos tumores. Para os controles onde houve sobreposição das ROIs aos ventrículos, determinou-se o valor médio de ADC com e sem a influência desta sobreposição, sendo os resultados apresentados nos gráficos das Figuras 9.5 e 9.6. A distribuição das diferenças de valores de ADC obtidos para o grupo controle

9. Resultados e Discussão

com e sem a influência dos ventrículos é apresentada na Figura 9.7. Este gráfico mostra que em 54% dos casos (108 ROIs) essa diferença não ultrapassa $1 \times 10^{-4} mm^2/s$. A partir dos gráficos das Figuras 9.5 e 9.6, observou-se que a média dos valores de ADC 3D com a sobreposição das ROIs aos ventrículos é 11% superior à obtida sem a influência dos ventrículos.

9.3 Valores de ADC obtidos em ROIs 3D para pacientes e controles.

As Figuras 9.10 e 9.11 apresentam os *boxplots* comparativos entre os valores de ADC médios dos tumores e do grupo controle com e sem a influência dos ventrículos laterais neste último grupo. Excluindo-se os ventrículos laterais, obtém-se valores de ADC para o grupo controle mais próximos dos obtidos para os meningiomas.

No entanto, neste estudo também foi avaliado o papel da utilização de ROIs 3D na determinação dos valores de ADC dos tumores. Os gráficos das Figuras 9.5, 9.6, 9.8 e 9.9 apresentam os resultados obtidos. Exemplos dos mapas de ADC calculados e correspondentes ROIs 3D para os tecidos cerebrais sadios encontram-se no Apêndice 2.

Tanto neste trabalho observou-se que os glioblastomas se mostraram hiperintensos nos mapas de ADC calculados, sendo hipointensos nas imagens DW. O mesmo padrão não foi observado para os meningiomas. Neste grupo, foram encontrados tumores hipointensos nos mapas de ADC e hiperintensos nas imagens DW, tumores isointensos e observa-se que ambas as imagens e tumores hiperintensos nos mapas de ADC e hipointensos nas imagens DW, sendo este padrão encontrado para os meningiomas malignos, segundo a análise histológica consultada. Exemplos dos mapas de ADC calculados e correspondentes ROIs 3D para os tecidos cerebrais sadios e os tumores estudados encontram-se no Apêndice 2.

9.4 Discussão Geral dos Resultados

Não foram encontrados na literatura estudos referentes à influência dos ventrículos laterais nos valores de ADC calculados. A maioria dos trabalhos referentes ao cálculo de mapas de ADC de tumores cerebrais utiliza ROIs 2D definidas manualmente para a obtenção dos valores médios

9. Resultados e Discussão

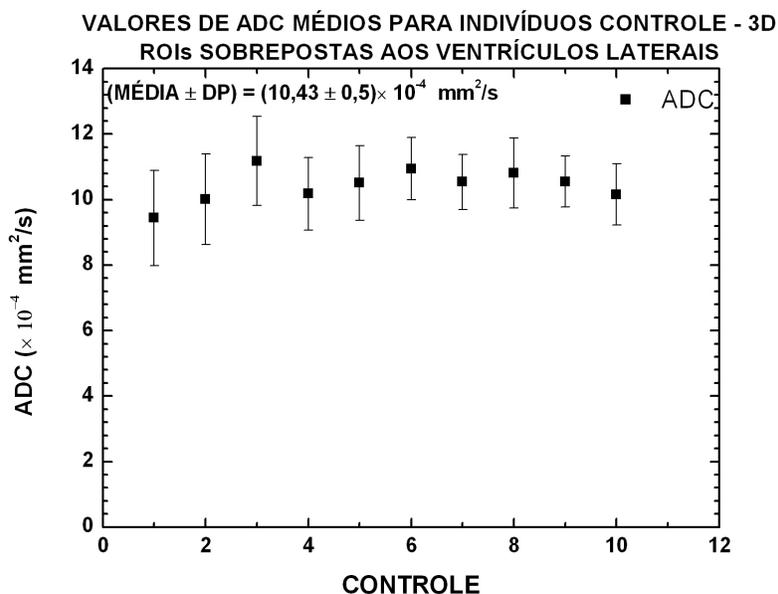


Figura 9.5: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 3D - com influência dos ventrículos laterais. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

de ADC das lesões (CHEN et al., 2010; HUANG et al., 2010; KONO et al., 2001; KRABBE et al., 1997). Uma outra abordagem propõe a utilização de histogramas de distribuição de valores de ADC ao longo de ROIs também 2D definidas manualmente (JAKAB et al., 2010).

A Tabela 9.2 sumariza as médias de valores de ADC obtidas em 2D e 3D para pacientes e controles, comparando os valores obtidos com aqueles encontrados na literatura e apresentados na Tabela 2.1 da revisão da literatura.

Além das comparações gráficas dos valores médios de ADC em 2D e 3D, mediante as quais os 3 grupos estudados parecem distintos, foi realizada a análise da variância e a análise de Bonferroni dos dados, estando os resultados destas sumarizados nas Tabelas 9.1 e 9.4, respectivamente. Tanto no caso 2D quanto no 3D, os valores de p obtidos na ANOVA são inferiores a 0,05 quando comparados os 3 grupos, indicando a existência de diferenças estatisticamente significativas entre eles, que podem ser considerados distintos por esta análise. Com relação ao grupo controle, o valor de p obtido na análise 3D é superior a 0,1, quando comparadas as 20 ROIs dos pacientes aplicadas a cada um dos 10 indivíduos controle. Isso mostra que não há diferenças estatisticamente signi-

9. Resultados e Discussão

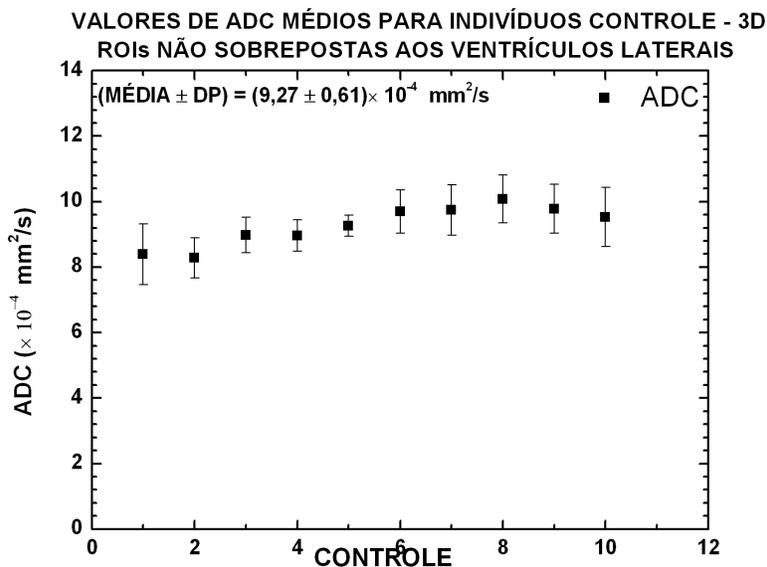


Figura 9.6: Valores de ADC médios obtidos para indivíduos controle - ROIs 3D - sem influência dos ventrículos laterais. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

ficativas entre os grupos, o que foi confirmado pela análise de Bonferroni, como mostra a Tabela 9.3. Apesar destes resultados, consideram-se na comparação com os tumores os valores de ADC do grupo controle obtidos sem influência dos ventrículos laterais.

A análise de Bonferroni aplicada à avaliação da existência de diferenças entre as médias de ADC dos três grupos estudados é apresentada na Tabela 9.4. Nela verifica-se que, em 2D, os três grupos são distintos, enquanto em 3D os meningiomas e o grupo controle não são distintos quando excluída a influência dos ventrículos laterais deste último grupo. Isso remete a alguns achados da literatura, onde meningiomas e tecidos cerebrais sadios são considerados idênticos do ponto de vista de valores de ADC. Contudo, caso fossem selecionados para estudo somente meningiomas malignos, acredita-se que tal distinção seja viável.

A maioria dos pacientes estudados neste trabalho apresentava tumores grandes, que ocupavam boa parte de um dos hemisférios cerebrais ou até mesmo já acometiam o hemisfério cerebral contralateral. Isso, de certa forma, contribuiu para que houvesse uma maior facilidade na distinção entre estes grupos de tumores e também entre estes tumores e tecidos cerebrais sadios utilizando

9. Resultados e Discussão

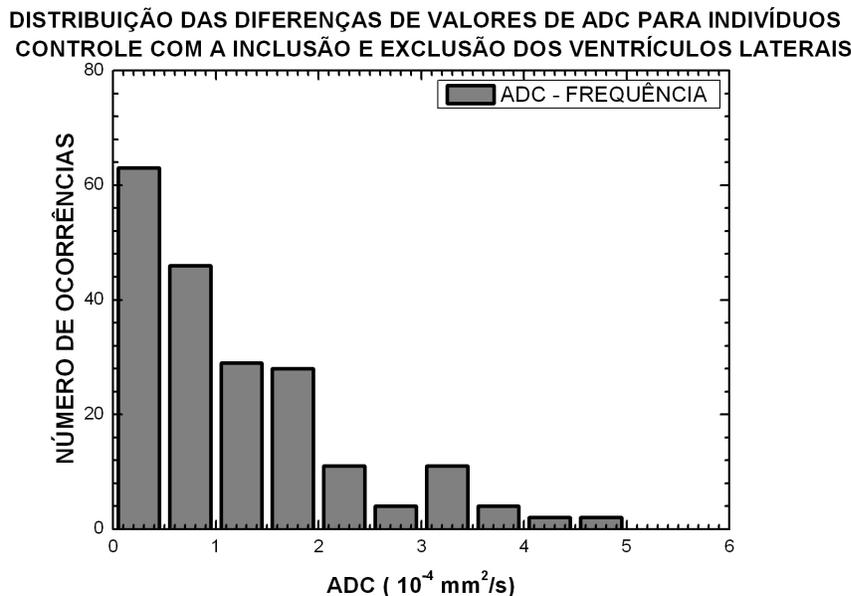


Figura 9.7: Distribuição das diferenças entre os valores de ADC médios calculados para indivíduos controle com e sem a influência dos ventrículos laterais.

o valor médio de ADC da lesão. No caso de tumores de baixa celularidade, quando muito pequenos, pode-se ainda encontrar dificuldades na distinção entre estes e tecidos cerebrais sadios, ou entre diferentes tipos de tumores, tal como ocorreu entre os meningiomas e tecidos cerebrais sadios na análise 3D. Neste caso, é possível obter um valor de ADC próximo à faixa que caracteriza determinado tipo de lesão, mas com um desvio-padrão maior que o encontrado na maioria das situações aqui apresentadas. Para tumores malignos e de alta celularidade tais como o glioblastoma multiforme, é possível a distinção entre o tumor e tecidos cerebrais sadios mesmo para lesões ainda pequenas, dificilmente detectadas mesmo em imagens de RM estruturais, em concordância com o descrito em relatos de achados incidentais deste tumor (OYAMA et al., 2010). Isso aponta a técnica apresentada neste estudo como uma ferramenta potencial para o estudo das características de desenvolvimento desta doença extremamente fatal, aprimorando ainda mais as técnicas de tratamento e dando direção à conduta clínica a ser empregada.

Análises realizadas em outro estudo dos valores médios de ADC do hemisfério contralateral dos indivíduos acometidos por glioblastoma revelou valores de ADC característicos do tumor

9. Resultados e Discussão

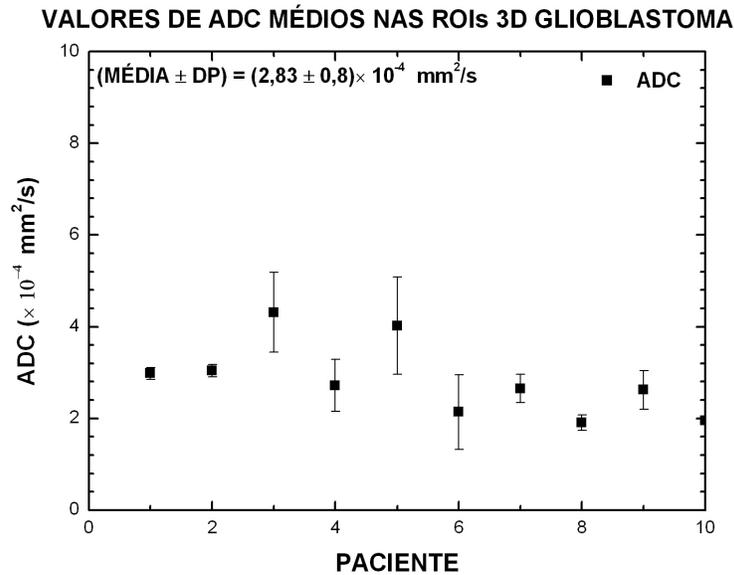


Figura 9.8: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por glioblastoma multiforme - ROIs 3D. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

também neste hemisfério para 3 dos 10 pacientes estudados (SOUZA & CASTELLANO, 2009), sem que houvesse qualquer sinal visível de infiltração por parte das células tumorais. No caso de meningiomas, esta característica não foi encontrada. Estes achados também apontam para o potencial da técnica em detectar tumores de alto grau ainda em estágios iniciais, quando não visíveis em métodos de imagens convencionais. Os demais resultados encontrados neste estudo foram publicados em um trabalho no ano de 2010 e dois trabalhos em 2011 (SOUZA et al., 2010), (SOUZA et al., 2011), sendo que não foram encontrados na literatura trabalhos anteriores referentes à avaliação do efeito dos ventrículos laterais sobre os valores de ADC de controles e pacientes com tumores.

9. Resultados e Discussão

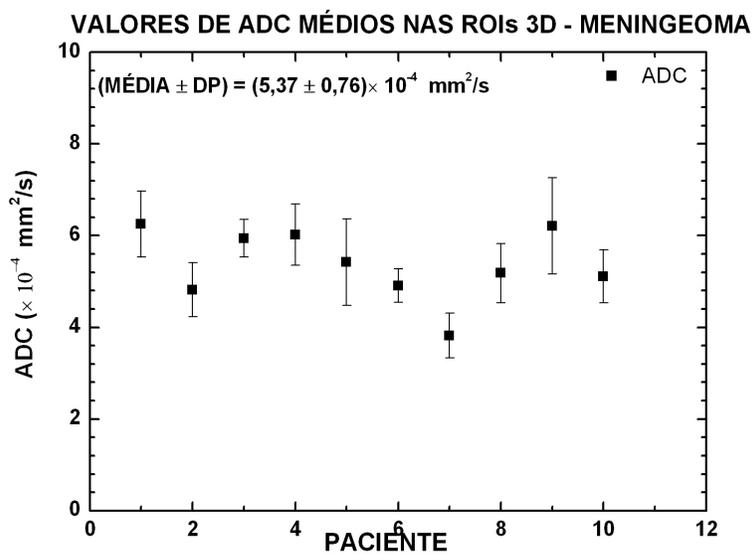


Figura 9.9: Valores de ADC médios obtidos para pacientes acometidos por meningeoma - ROIs 3D. As barras verticais correspondem a dois desvios-padrão.

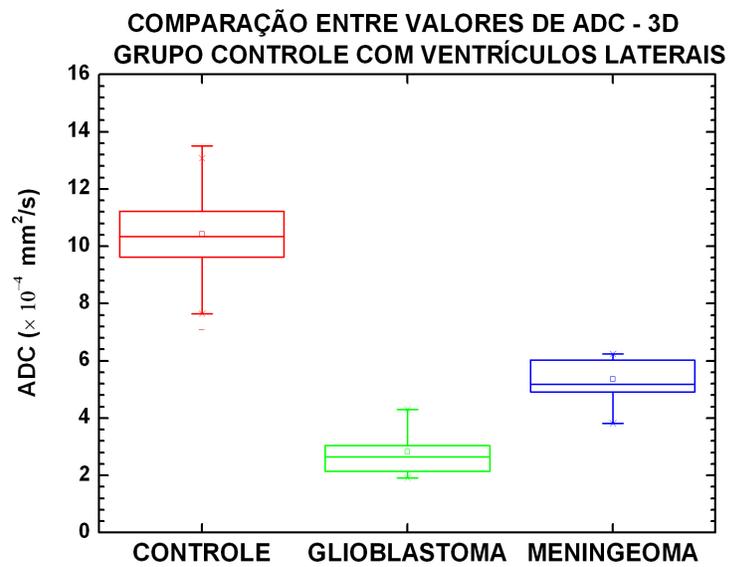


Figura 9.10: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados, considerando-se os valores de ADC obtidos em ROIs 3D. Análise feita considerando os valores de ADC do grupo controle com influência dos ventrículos laterais.

9. Resultados e Discussão

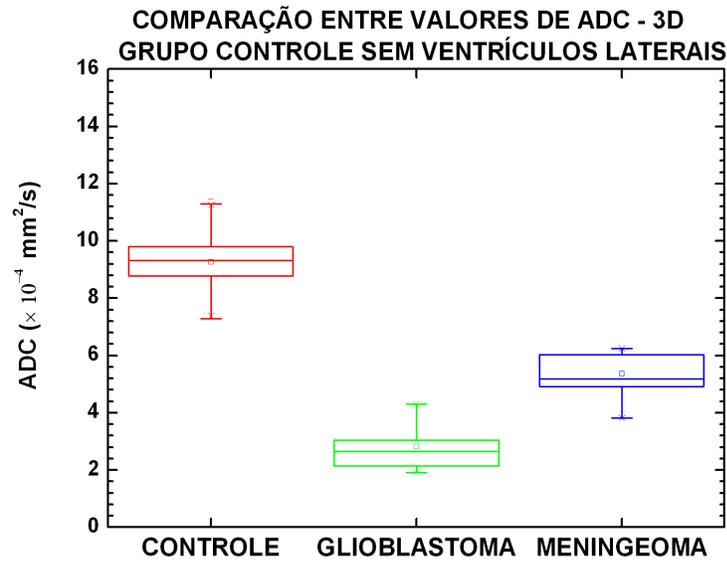


Figura 9.11: *Boxplot* comparativo entre os valores de ADC obtidos para os três grupos estudados, considerando-se os valores de ADC obtidos em ROIs 3D. Análise feita considerando os valores de ADC do grupo controle sem influência dos ventrículos laterais.

Tabela 9.1: Resultados da análise da variância dos valores de ADC obtidos em 2D e 3D.

ANOVA – VALORES DE P		
	2D	3D
controle, glioblastoma e meningioma	< 0,05	< 0,05
ROIs de todos os pacientes aplicadas a todos os indivíduos controle		> 0,1

9. Resultados e Discussão

Tabela 9.2: Comparação dos valores médios de ADC obtidos em 2D e 3D no estudo com os valores encontrados na literatura.

GRUPO	LITERATURA	ACHADOS 2D	ACHADOS 3D
CONTROLE	$7,6 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$8,99 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$9,27 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$
GLIOBLASTOMA	$1,14 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$2,6 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$2,83 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$
MENINGEOMA	$7,6 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$4,88 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$	$5,37 \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$

Tabela 9.3: Análise de Bonferroni realizada para o grupo controle - ROIs 3D.

ANÁLISE DE BONFERRONI – VALORES DE P CONTROLES

COM INFLUÊNCIA DOS VENTRÍCULOS LATERAIS X SEM INFLUENCIADOS VENTRÍCULOS LATERAIS	0,37
--	------

Tabela 9.4: Resultados das análises de Bonferroni realizadas para os valores de ADC obtidos em 2D e 3D para pacientes e controles.

	ANÁLISE DE BONFERRONI – VALORES DE P		
	2D	3D – controles: com ventrículos laterais	3D - controles: sem ventrículos laterais
controle x gliblastoma	0,0104	$3,41 \times e^{-11}$	$2,52 \times e^{-22}$
controle x meningeoma	0,011	$9,44 \times e^{-15}$	0,064
gliblastoma x meningeoma	0,0155	$5,88 \times e^{-7}$	$2,36 \times e^{-9}$

Conclusões e Perspectivas Futuras

O presente trabalho teve por objetivo principal explorar a utilização dos mapas de ADC na diferenciação em 2D e 3D entre tecidos cerebrais sadios e tecidos tumorais de pacientes acometidos por glioblastoma multiforme ou meningioma, dois tipos de tumores cerebrais de grande incidência e que podem, dependendo da localização, serem confundidos entre si em imagens de RM estruturais. Secundariamente, foi avaliada a influência dos ventrículos laterais nas ROIs utilizadas para cálculo dos valores de ADC de tecidos cerebrais sadios de indivíduos controle.

Como principais resultados, verificou-se que, em 2D as médias dos valores de ADC encontrados para glioblastomas, meningiomas e tecidos sadios do grupo controle foram, respectivamente, $2,6 \times 10^{-4} mm^2/s$, $4,88 \times 10^{-4} mm^2/s$ e $8,99 \times 10^{-4} mm^2/s$, com valor de $p < 0,05$, indicando a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, confirmada mediante a aplicação da análise de Bonferroni. Nas análises 3D, as médias de valores de ADC obtidas para os mesmos três grupos foram respectivamente $2,83 \times 10^{-4} mm^2/s$, $5,37 \times 10^{-4} mm^2/s$ e $9,27 \times 10^{-4} mm^2/s$, com valor de $p < 0,05$. Neste caso, a análise de Bonferroni confirma a distinção entre tecidos cerebrais sadios de indivíduos controle e glioblastomas, mas aponta para a indistinção entre tecidos cerebrais sadios e meningiomas. A análise dos valores de ADC 3D do grupo controle com e sem presença de porções dos ventrículos laterais nas ROIs mostrou que pequenas porções de ventrículos não interferem significativamente na possibilidade de distinção entre tecidos cerebrais sadios e os tumores estudados.

10. Conclusões e Perspectivas Futuras

Até o presente momento, não haviam sido encontrados na literatura trabalhos avaliando a influência dos ventrículos laterais sobre o cálculo de mapas de ADC em 2D ou 3D, seja para indivíduos sadios ou acometidos por patologias. A maioria dos trabalhos apresenta análises de valores de ADC realizadas somente em 2D. De acordo com as análises 2D aqui apresentadas, tecidos cerebrais sadios, glioblastomas e meningiomas apresentam valores de ADC distintos. Nas análises 3D, contudo, tecidos cerebrais sadios e meningiomas podem apresentar valores de ADC que não são estatisticamente distintos, excluindo-se a influência dos ventrículos laterais nos valores de ADC dos controles. Para a distinção entre tecidos cerebrais sadios e glioblastomas, a influência dos ventrículos laterais no ADC dos controles não é significativa.

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que possivelmente, glioblastomas multiformes possam ser diferenciados de tecidos cerebrais sadios mesmo quando as lesões ainda são pequenas, dada a celularidade do tumor. Isso seria um achado relevante, pois se trata de tumores bastante agressivos e de elevada celularidade, diagnosticados na maioria dos casos quando as lesões já são bastante grandes, de difícil ressecção e prognóstico ruim. Da mesma forma, os resultados aqui obtidos podem indicar que meningiomas de pequenas dimensões podem ser confundidos com tecidos cerebrais sadios nos mapas de ADC, havendo necessidade da realização de um estudo específico de lesões de dimensões pequenas para a obtenção de resultados mais conclusivos.

Na análise visual, glioblastomas são, em sua maioria, hiperintensos nos mapas de ADC calculados, enquanto os meningiomas podem ser isointensos, hiperintensos ou hipointensos, dada a variedade de tipos existentes.

Portanto, como principais resultados deste trabalho tem-se:

- Tanto com a utilização de ROIs 2D quanto 3D, glioblastomas apresentam valores de ADC médios distintos daqueles observados para os meningiomas e tecidos cerebrais sadios.
- Em 2D tecidos cerebrais sadios e meningiomas apresentam valores de ADC estatisticamente distintos. O mesmo não é observado em 3D.
- Pequenas porções de ventrículos laterais nas ROIs 3D não influem significativamente na distinção entre tecidos cerebrais sadios e os tumores estudados.

10. Conclusões e Perspectivas Futuras

Concluindo, mapas de ADC mostram-se como uma importante ferramenta para a classificação de tumores cerebrais *in-vivo*, de forma não-invasiva e relativamente rápida. No entanto, estudos com grupos maiores de pacientes acometidos pelos tipos de tumores aqui estudados e indivíduos controles são necessários para que se estabeleçam padrões de valores de ADC característicos de cada tipo de lesão. Também se abre o caminho para futuramente associar a técnica a outros métodos de pós-processamento, tais como a análise de textura de imagens DW e mapas de ADC, tanto para a distinção entre diferentes tipos de tumores cerebrais como para a distinção entre estes e outras patologias do SNC.

Referências Bibliográficas

- Asai A., Matsutani M., Kohno T., Nakamura O., Tanaka H., Fujimaki T., Funada N., Matsuda T., Nagata N., Takakura K., 1989. Subacute Brain Atrophy After Radiation Therapy for Malignant Brain Tumor. *Cancer* 63:1962-1974.
- Bammer R., 2003. Principles of Diffusion-Weighted Imaging. *European Journal of Radiology*, 45:169-184.
- Bastin M.E., Sinha S., Whittle I.R., Wardlaw J.M., 2002. Measurements of Water Diffusion and T1 Values in Peritumoral Oedematous Brain. *Neuroreport* 13:1335-1340.
- Beaulieu C., 2002. The Basis of Anisotropic Water Diffusion in the Central Nervous System. *NMR Biomedicine*, 15:435-455, Wiley Interscience.
- Beaulieu C., Allen P.S., 1994. Determinants of Anisotropic Water Diffusion in Nerves. *Magnetic Resonance Medicine*, 31:394-400.
- Cabada D., Caballero M.C., Insausti I., Eulate N.A., Bacaicoa C., Zazpe I., Tunón T., 2009. Papel de la Difusión en la Evaluación de los Meningiomas: Correlación Radiopatológica. *Radiología*, 51(4): 411-419, Elsevier Doyma.
- Chang Y.W. et al, 2003. MR Imaging of Glioblastoma in Children: Usefulness of Diffusion-Perfusion-Weighted MRI and MR Spectroscopy. *Journal of Pediatric Radiology*, 33:836-842.
- Chen H.J., Panigrahy A., Dall G., Finlay J.L., Nelson M.D, Bluml S., 2010. Apparent Diffusion and Fractional Anisotropy of Diffuse Intrinsic Brain Stem Gliomas. *American Journal of Neuroradiology*, 28:45-58.
- Chenevert T.L., Stegman L.D., Taylor J.M.G., Robertson P.L., Greenberg H.S., Rehemtulla A., Ross B., 2000. Diffusion Magnetic Resonance Imaging: an Early Surrogate Marker of Therapeutic Efficacy in Brain Tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, 24(92):2029-2036.
- Dougherty E.R., Lotufo R.A., 2003. Hands-on Morphological Image Processing. Spie Press,

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2003.

Ebisu T., Naruse S., Horikawa Y., Ueda S., Tanaka C., Uto M., Umeda M., Higuchi T., 1993. Discrimination Between Different Types of White Matter Edema With Diffusion-Weighted MR Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 6(3):863-868.

Einstein A., 1956. *Investigations on Theory of the Brownian Movement*. Dover Publications, United States of America.

Ellingson B.M., Malkin M.G., Rand S.D., Connelly J.M., Quinsey C., LaViolette P.S., Bedekar D.P., Schmainda K.M., 2010. Validation of Functional Diffusion Maps (fDMs) as a Biomarker for Human Glioma Cellularity. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 31:538-548.

Everdingen K.J., Grond J., Kapelle L.J., Ramos L.M.P., Mali W.P.T.M., 1998. Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging in Acute Stroke. *Stroke*, 29: 1783-1790.

Ferda J., Kastner J., Mukensnabl P., Choc M., Horemuzová J., Ferdová E., Kreuzberg B., 2010. Diffusion Tensor Magnetic Resonance Imaging of Glial Brain Tumors. *European Journal of Radiology*, 74:428-436, Elsevier.

Filippi C.G., Edgar M.A., Ulu A.M., Prowda J.C., Heier L.A, Ziemmerman R.D., 2001. Appearance of Meningiomas on Diffusion-Weighted Images: Correlating Diffusion Constants with Histopathologic Findings. *American Journal of Neuroradiology*, 22:65-72.

Friedman M.H., 2008. *Principles and Models of Biological Transport*. Capítulo 2, páginas 29-62, segunda edição Springer.

Fu C., Cho S., Kim A., Wu F., Wang D., Sian F., et al, 2009. Apparent Diffusion Coefficients for Evaluation of the Response of Brain Tumors Treated by Gamma Knife Surgery. *Neuroradiology*, 56:434-442, 2009.

Gonzalez R.C., Woods R.E., 2008. *Digital Imaging Processing*, 3th Edition, 25-44, Prentice-Hall Press.

Hall W.A., Truwit C.L., 2009. Intraoperative Magnetic Resonance Imaging. *Acta Neurochirurgica*, 15: 32-41.

Hagmann P., Jonasson L., Maeder P., Thiran J.P., Wedeen V.F., Meuli R., 2006. Understanding Diffusion-MR Imaging Techniques: From Scalar Diffusion-Weighted Imaging to Diffusion Tensor Imaging and Beyond. *Radiographics*, 26:205-224.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hollenbeck P.J., Saxton W., 2005. The Axonal Transport of Mitochondria. *Journal of Cell Science*, 118:5411-5419.
- Huang C.F., Chiou S.Y., Wu M.F., Tu H.T., Liu W.S., Chuang J.C., 2010. Apparent Diffusion Coefficients for Evaluation of the Response of Brain Tumors Treated by Gamma Knife. *Radiation Oncology*, 35:85-91.
- Instituto Nacional do Câncer (2010). Incidência de Câncer no Brasil. www.inca.gov.br/estimativa acesso em 25/04/2010.
- Jakab A., Molnár P., Emri M., Berényi E., 2010. Glioma Grade Assessment by Using Histogram Analysis of Diffusion Tensor Imaging-Derived Maps. *Neuroradiology*, 53:483-491.
- Jolapara M., Kesavadasa C., Radhakrishnanb V.V., Thomasa B., Guptaa A.K., Bodheya N., Patroa S., Saini J., Georgea U., Sarmac P.S., 2010. Role of Diffusion Tensor Imaging in Differentiating Subtypes of Meningiomas. *Journal of Neuroradiology*, 37:277-283.
- Kandel E.R., Schwartz J.H., Jessell T.M., 2000. *Principles of Neural Science*, 3th, 1019-1149, McGraw-Hill, New York, USA.
- Kono K., Inoue Y., Nakayama K., Shakudo M., Morino M., Ohata K., Wakasa K., Yamada R., 2001. The Role of Diffusion-Weighted Imaging in Patients with Brain Tumors. *American Journal of Neuroradiology*, 22:1081-1088.
- Krabbe K., Gideon P., Wagn P., Hansen U., Thomsen C., Madsen F., 1997. MR Diffusion Imaging of Human Intracranial Tumors. *Neuroradiology*, 39:483-489.
- Kwee T.C., Galba C.J., Tsien C., Junck L., Sundgren P.C., Ivancevic M.K., Johnson T.D., Meyer C.S., Rehemtulla A., Ross B.D., Chenevert T.L., 2010. Comparison of Apparent Diffusion Coefficients and Distributes Diffusion Coefficients in High-Grade Gliomas.
- Lambregts D.M.J., Maas M., Cappendijk V.C., Prompers L.M., Mottaghy F.M., Beets G.L., Beets-Tan R.G.H., 2011. Whole-Body Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging: Current Evidence in Oncology and Potential Role in Colorectal Cancer Staging. *European Journal of Cancer*, 47:2007-2016.
- Lee E.J., terBrugge K., Mikulis D., Choi D.S., Bae J.M., Lee S.K., Moon S.Y., 2011. Diagnostic Value of Peritumoral Minimum Apparent Diffusion Coefficient for Differentiation of Glioblastoma Multiforme From Solitary Metastatic Lesions. *American Journal of Roentge-*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

nology, 196:71-76.

Li Y., Lupo J.M., Polley M.Y., Crane J.C., Bian W., Cha S., Chang S., Nelson S.J., 2011. Serial Analysis of Imaging Parameters in Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme. *Neuro-Oncology*, 101(1):56-64.

Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., 2007. WHO Classification of Tumors of Central Nervous System, quarta edição, 130-155, IARC Press, USA.

Ma J.H., Kim H.S., Rim N.J., Kim S.H., Cho K.G., 2010. Differentiation among Glioblastoma Multiforme, Solitary Metastatic Tumor, and Lymphoma Using Whole-Tumor Histogram Analysis of the Normalized Cerebral Blood Volume in Enhancing and Perienhancing Lesions. *American Journal of Neuroradiology*, 31:1699-1706.

Mae F. F., Collignon A., Vandermeulen A., Marchal G., Suetens P., 1997. Multimodality Image Registration by Maximization of Mutual Information. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 16(2): 187-198.

Maier S., Sun Y., Mulkern R.V., 2010. Diffusion Imaging of Brain Tumors. *American Journal of Neuroradiology*, 29:1027-35.

Ministério da Saúde, Instituto Nacional do Câncer (2006). A Situação do Câncer no Brasil, páginas 108-110, Brasília, Brasil.

Mori S., Barker P., 1999. Diffusion Magnetic Resonance Imaging: Its Principles and Applications. *The Anatomical Record*, 257:102-109.

Moritani T., Ekholm S., Westesson P.L., 2005. Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Imaging. 1-64, Springer-Verlag, Berlim.

Nkiruka C.A., Gore J.C., Yankeelov T.E., 2010. The Integration of Quantitative Multimodality Imaging Data into Mathematical Models of Tumors. *Phys. Med. Biol.*, 55:2429-2449.

Norris D.G., 2001. The Effects of Microscopic Tissue Parameters on the Diffusion Weighted Magnetic Resonance Imaging Experiment. *NMR in Biomedicine*, 14:77-93.

Nowosielski M., Recheis W., Goebel G., Guler O., Tinkhauser G., Kostron H., Schocke M., Gotwald T., Stockhammer G., Hutterer M., 2010. ADC Histograms Predict Response to Anti-Angiogenic Therapy in Patients with Recurrent High-Grade Glioma. *Functional Neuroradiology*, 87:234-246, Springer-Verlag.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Okamoto K., Ito J., Ishikawa K., Sakai K., Toquiguchi S., 2000. Diffusion-Weighted Echo Planar MR Imaging in Differential Diagnosis of Brain Tumors and Tumor-Like Conditions. *European Radiology*, 10:1342-1350. Springer-Verlag.
- Oyama H., Ando Y., Aoki S., Kito A., Maki H., Hattori K., Tanahashi K., 2010. Glioblastoma Detected in Initial Stage in its Developmental Process. *Neurol Med Chir*, 50:414-417.
- Pope W.B., Lai A., Mehta R., Kim H.J., Qiao J., Young J.R., Xue X., Goldin J., Brown M.S., Nghiemphu P.L., Tran A., Cloughesy T.F., 2010. Apparent Diffusion Coefficient Histogram Analysis Stratifies Progression-Free Survival in Newly Diagnosed Bevacizumab-Treated Glioblastoma. *American Journal of Neuroradiology*, 24:56-71.
- Poussaint T.Y., Kocak M., Vajapeyam S., Packer I.R., Robertson R.L., Geyer R., Haas-Kogan D., Pollack I.F., Vezina G., Zimmerman R., Cha S., Patay Z., Boyett J.M., Kun L.E., 2011. MRI as a Central Component of Clinical Trials Analysis in Brainstem Glioma: a Report from the Pediatric Brain Tumor Consortium (PBTC). *Neuro-Oncology*, 101(2): 185-194.
- Quasi A.A., 2008. RIGREG - Image Registration Software. *www.diku.dk/arish* acessado em 31/03/2009.
- Rajeshkannan R., Moorthy S., Sreekumar K.P., Rupa R., Prabhu N.K., 2006. Clinical Applications of Diffusion-Weighted Imaging: A Review. *Indian Journal of Neuroradiology*, 16(4):705-710.
- Sayyari A.A., Buckley R., McHenery C. Pannek K., Couthard A., Rose S., 2010. Distinguishing Recurrent Primary Brain Tumor from Radiation Injury: A Preliminary Study Using a Susceptibility-Weighted MR Imaging-Guided Apparent Diffusion Coefficient Analysis Strategy. *American Journal of Neuroradiology*, 31:1049-54.
- Schaefer P.W., Grant E., Gonzalez R.G., 2000. Diffusion-Weighted MR Imaging of the Brain. *Radiology*, 217:331-345.
- Schiffer D., 1997. Brain Tumors. Biology, Patology and Clinical References. Second edition, 114-116. Springer-Verlag, Berlin.
- Senfta C., Franza K., Ulricha C., Binkb A., Szelenyia A., Gassera T., Seifert V., 2010. Low Field Intraoperative MRI-Guided Surgery of Gliomas: A Single Center Experience. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 112:237-243.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Silverthorn D.U., 2010. Human Physiology - An Integrated Approach, 5th Edition, 296-331. Pearson Benjamin Cummins, San Francisco, USA.
- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2011. Influência da Região de Interesse nos Mapas de ADC de Sujeitos Normais Usados para Diagnóstico de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais do V Congresso Latinoamericano de Engenharia Biomédica, Havana, Cuba.
- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2011. Influence of Brain ROI Location for ADC Maps Calculation for Reference Values to be Used in the *in vivo* Characterization of Brain Tumors MR Imaging. Annals of 18th International Conference of Medical Physics, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Trabalho aceito para publicação na Revista Brasileira de Física Médica.
- Souza E.M., Castellano G., Costa E.T., 2010. Utilização do Coeficiente Aparente de Difusão Obtido Através de Imagens de Ressonância Magnética na Diferenciação e Caracterização de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais do XXII Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica (CBEB), Tiradentes, Minas Gerais, Brasil.
- Souza E.M., Castellano G., 2009. Desenvolvimento de uma Ferramenta Computacional para o Cálculo de Mapas de ADC Aplicada ao Diagnóstico e Caracterização de Tumores Cerebrais *in vivo*. Anais das XVI Jornadas de Jóvenes Investigadores de La AUGM, Montevideo, Uruguay.
- Sugahara T. Richard F., Pope W.B., Jhonson W., Carl B., Thomson F., et al, 1999. Usefulness of Diffusion-Weighted MRI With Echo-Planar Technique in the Evaluation of Cellularity in Gliomas. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 9:53-60.
- Tay K.L., Tsui A., Phal P.M., Drummond K.J., Tress B.M., 2010. MR Imaging Characteristics of Protoplasmic Astrocytomas. Neuroradiology, 53(7): 79-85.
- Tien R.D., Felsberg G.J., Friedman H., Brown M., MacFall J., 1994. MR Imaging of High-Grade Cerebral Gliomas: Value of Diffusion-Weighted Echoplanar Pulse Sequences. American Journal of Roentegenology, 162:671-677.
- Torrey H.C., 1956. Block Equations with Diffusion Terms. Physical Review, 3(104): 563-565.
- Yamasaki F., Sugiyama K., Ohtakib M., Takeshimac Y., Abed N., Akiyamad Y., Takabad J., Amatyac V.J., Saito T., Kajiwara A., Royosuke H.R., Kurisua K., 2010. Glioblastoma Treated with Postoperative Radio-Chemotherapy: Prognostic Value of Apparent Diffusion Coefficient

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

at MR Imaging. *European Journal of Radiology*, 73:532-537.

Zar J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*. Quinta edição, capítulo 12, páginas 249-284, Pearson, New Jersey.

Zulch K.J., 1986. *Brain tumors. Their Biology and Pathology*. Third edition, Springer Verlag, Berlin.

Apêndice 1 - Mapas de ADC 2D

As Figuras A1.1, A1.2 e A1.3 apresentam as fatias selecionadas para cálculo do ADC 2D para o grupo controle, pacientes com glioblastomas e pacientes com meningiomas, respectivamente. Cada um dos grupos é constituído por 10 indivíduos. Os valores de ADC foram calculados no interior da ROI definida como um contorno branco, para cada uma das fatias.

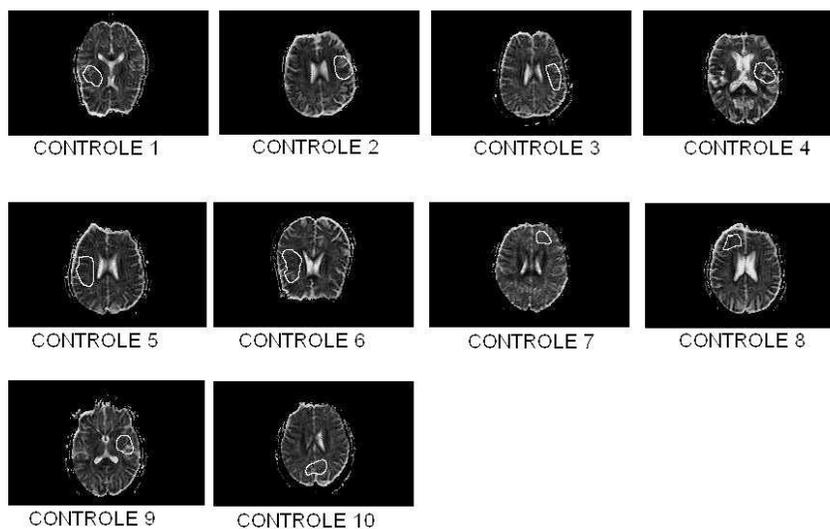


Figura A1.1: Fatias selecionadas para determinação dos valores de ADC 2D de indivíduos controle.

11. Apêndice 1 - Mapas de ADC 2D

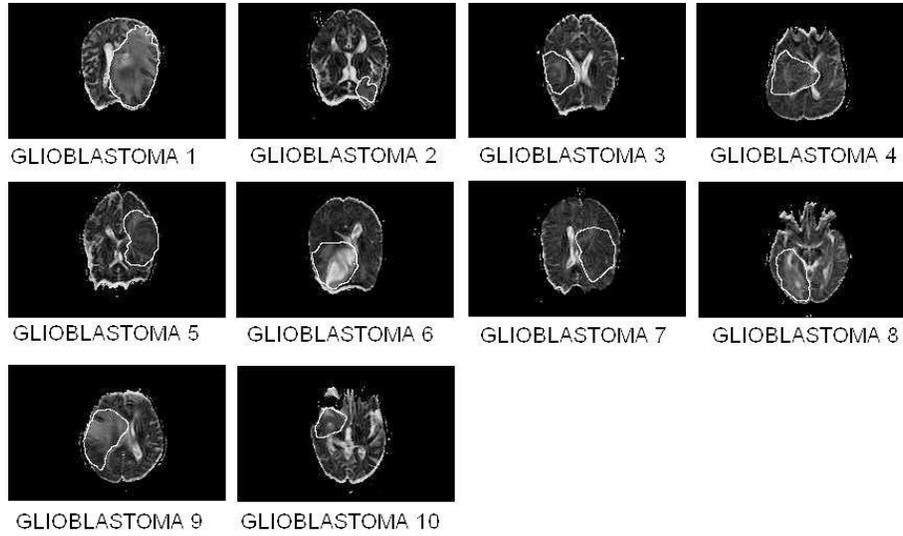


Figura A1.2: Fatias selecionadas para cálculo de ADC 2D para pacientes com glioblastoma.

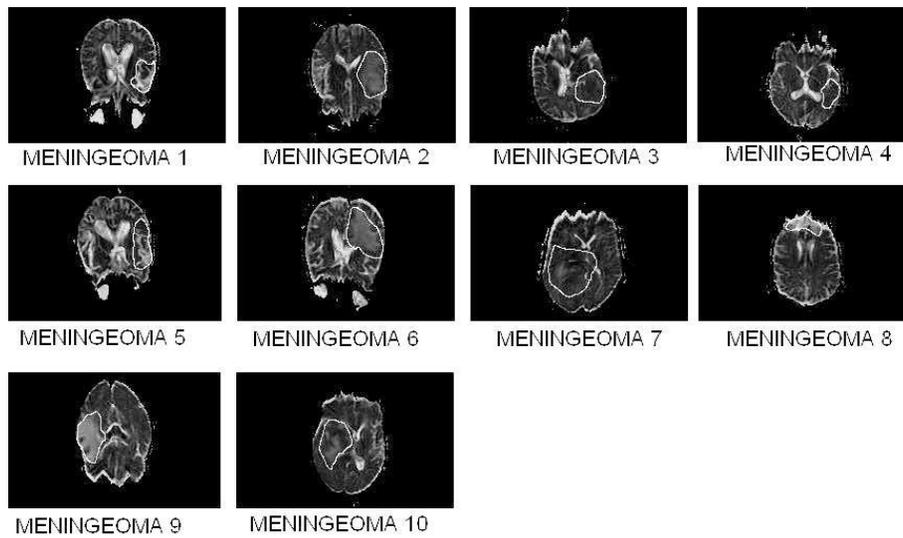


Figura A1.3: Fatias selecionadas para cálculo de ADC 2D para pacientes com meningiomas.

Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D

Esta seção apresenta exemplos das fatias utilizadas para o cálculo de valores de ADC 3D para o grupo controle e para os tumores, sendo apresentados três exemplos de imagens para cada um dos grupos estudados. O ADC médio foi calculado no interior das ROIs destacadas em branco, para controles e pacientes. Os pacientes acometidos por glioblastoma estão numerados no estudo de 1 a 10, assim como os pacientes acometidos por meningiomas. A mesma numeração se aplica ao grupo controle.

As Figuras A2.1, A2.2 e A2.3 apresentam as três fatias do mapa de ADC utilizadas no cálculo do ADC médio 3D dos tecidos cerebrais saudáveis do indivíduo controle 6. Trata-se das mesmas fatias utilizadas para o cálculo do ADC médio dos pacientes dos quais está sendo utilizada a ROI. As Figuras A2.4, A2.5 e A2.6 apresentam as três fatias utilizadas na determinação do valor médio de ADC 3D do tumor para os pacientes 1, 3 e 7 acometidos por glioblastomas. Trata-se das três fatias mais representativas da lesão. A mesma análise foi realizada para os demais pacientes deste grupo. O mesmo se segue para os meningiomas, dos quais toma-se como exemplo as imagens das Figuras A2.7, A2.8 e A2.9, que correspondem aos pacientes 14, 15 e 16.

12. Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D

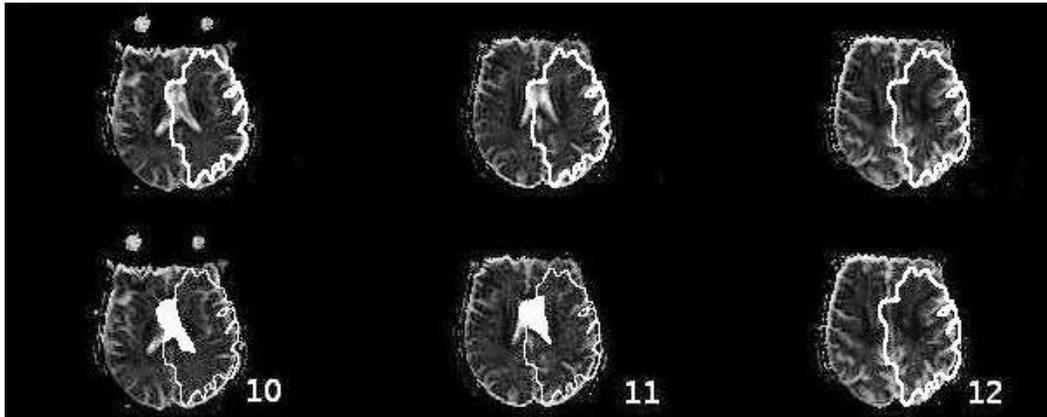


Figura A2.1: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 1, acometido por glioblastoma. A porção superior da figura apresenta as projeções da ROI 3D criada nas fatias 10, 11 e 12 utilizadas na análise. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três projeções da ROI nas correspondentes fatias, sendo excluídas as porções que se sobrepõem aos ventrículos laterais nas fatias 10 e 11 (preenchimento branco).

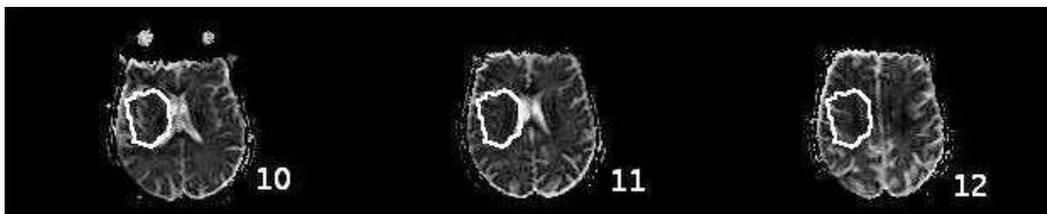


Figura A2.2: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 3, acometido por glioblastoma. Neste caso, não houve sobreposição da ROI aos ventrículos laterais.

12. Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D

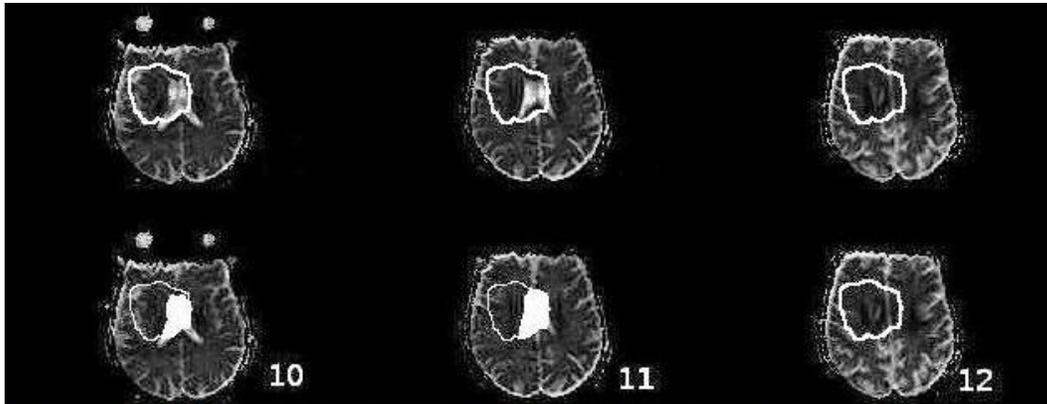


Figura A2.3: Fatias do mapa de ADC calculado para o indivíduo controle 6 com a aplicação da ROI utilizada no cálculo do ADC do tumor no paciente 8 acometido por meningioma. A porção superior da figura apresenta as projeções da ROI 3D criada nas fatias 10, 11 e 12 utilizadas na análise. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três projeções da ROI nas correspondentes fatias, sendo excluídas as porções que se sobrepõem aos ventrículos laterais nas fatias 10 e 11.

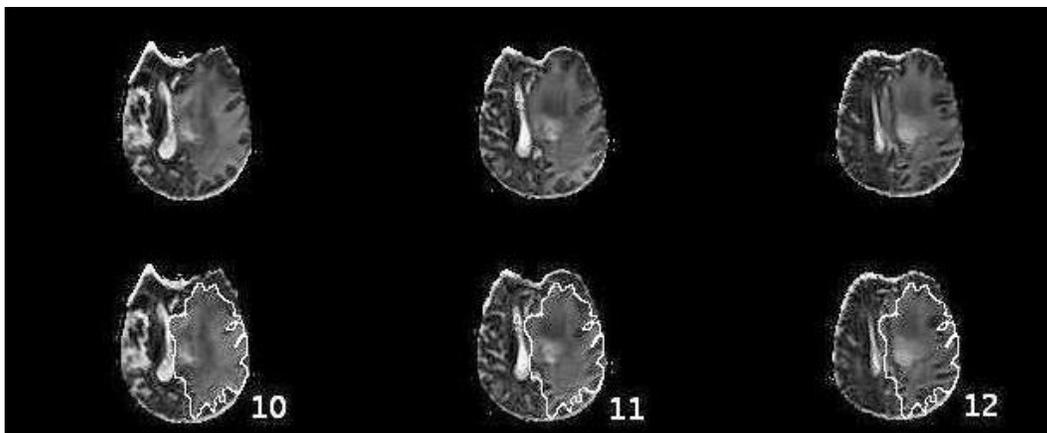


Figura A2.4: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 1, acometido por glioblastoma. A porção superior da figura apresenta as fatias 10, 11 e 12, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.

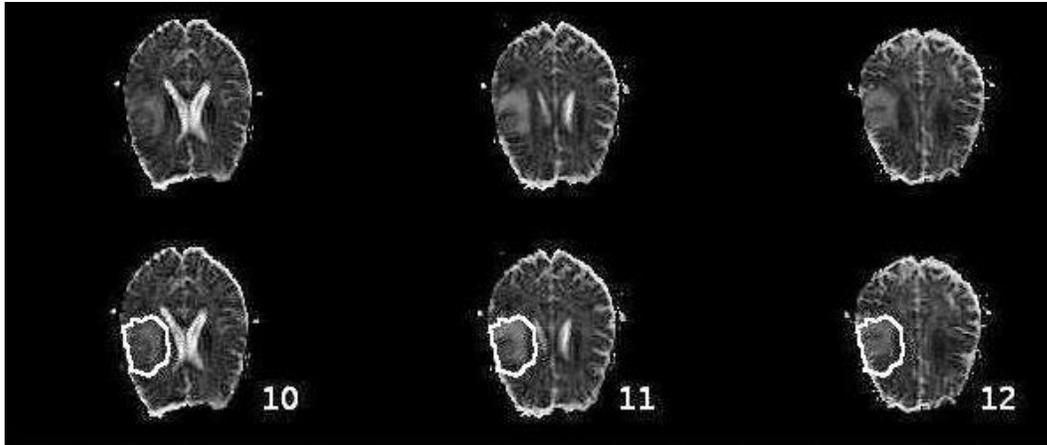


Figura A2.5: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 3, acometido por glioblastoma. A porção superior da figura apresenta as fatias 10, 11 e 12, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.

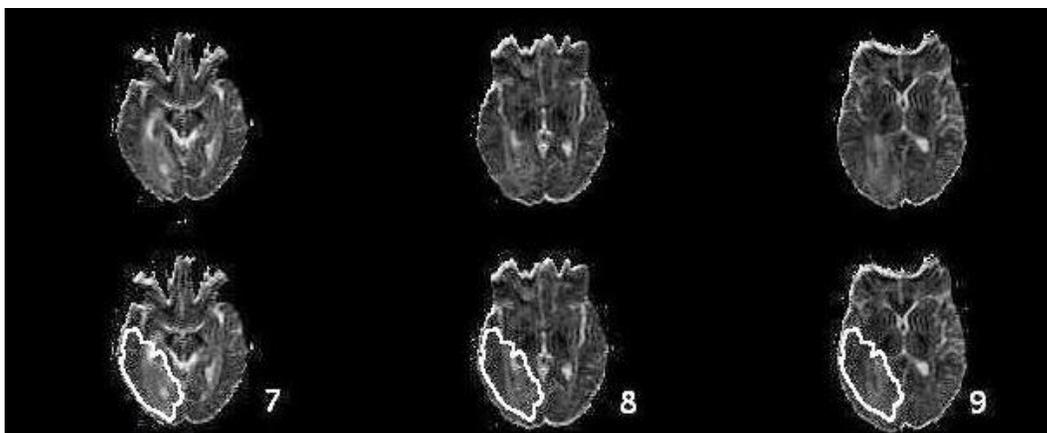


Figura A2.6: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 3, acometido por glioblastoma. A porção superior da figura apresenta as fatias 7, 8 e 9, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.

12. Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D

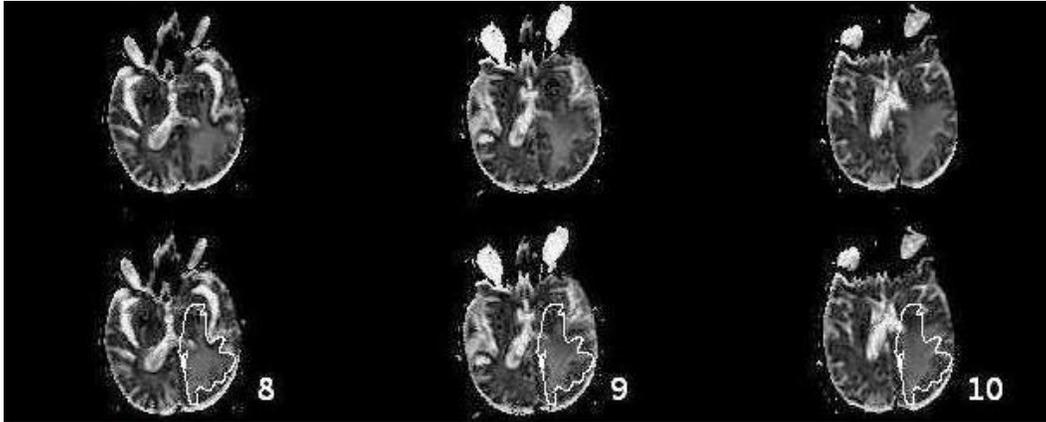


Figura A2.7: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 4, acometido por meningeoma. A porção superior da figura apresenta as fatias 8, 9 e 10, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.

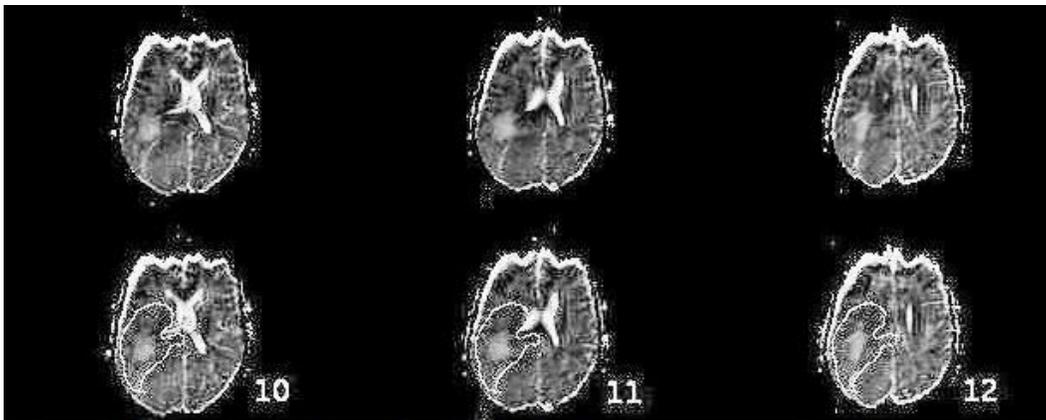


Figura A2.8: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 5, acometido por meningeoma. A porção superior da figura apresenta as fatias 10, 11 e 12, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.

12. Apêndice 2 - Mapas de ADC 3D

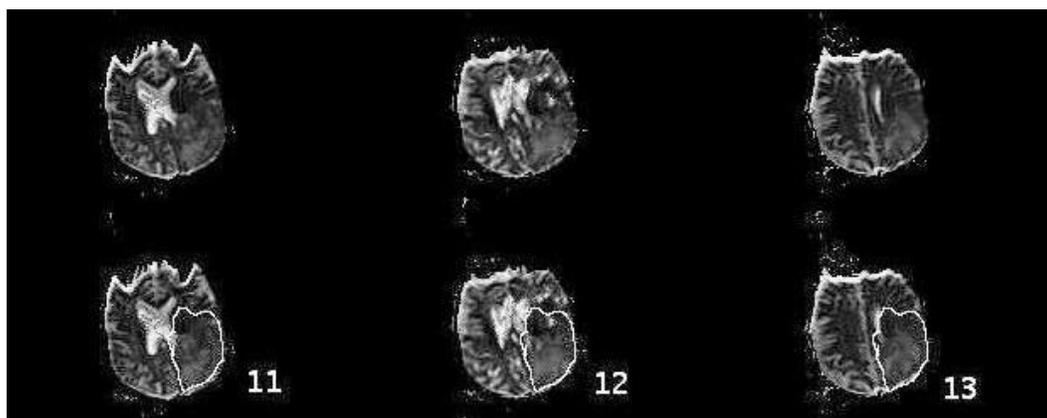


Figura A2.9: Fatias do mapa de ADC calculado para o paciente 3, acometido por meningioma. A porção superior da figura apresenta as fatias 11, 12 e 13, mais representativas da lesão. A porção inferior da figura apresenta as mesmas três fatias juntamente com as correspondentes projeções da ROI 3D que engloba o tumor.