

Ressonância magnética funcional: mapeamento do córtex motor através do efeito BOLD

Patrícia R. Nunes¹⁻², Sandra R. Tecelão³, Rita G. Nunes⁴

1. Mestrado em Radiações Aplicadas às Tecnologias da Saúde – Área de especialização: Ressonância Magnética, Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa.
2. Serviço de Imagiologia, Quadrantes – Clínica Médica e de Diagnóstico. pn_1985@hotmail.com
3. Departamento das Ciências da Saúde, Universidade Atlântica.
4. Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa.

RESUMO: Introdução – A ressonância magnética funcional (RMf) é hoje uma ferramenta fundamental na investigação funcional do cérebro humano, quer em indivíduos saudáveis quer em doentes com patologias diversas. É uma técnica complexa que necessita de uma aplicação cuidada e rigorosa e uma compreensão dos mecanismos biofísicos, de modo a serem obtidos resultados fiáveis e com melhor aceitação clínica. O efeito BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*), que se baseia nas propriedades magnéticas da hemoglobina, é o método mais utilizado para medir a atividade cerebral por RMf. **Objetivos** – Otimizar um protocolo de RMf por efeito BOLD em voluntários saudáveis para mapeamento do córtex motor, de modo a que possa ser aplicado no futuro em doentes com patologias diversas. **Metodologia** – Foram estudados 34 voluntários saudáveis divididos em 2 grupos de estudo: BOLD 1 e BOLD 2. Com vista à otimização, foram testados no subgrupo BOLD 1 diferentes paradigmas e no subgrupo BOLD 2 foi estudada a influência do tempo de eco (TE). Para as várias condições foram comparados os volumes da região ativada e os níveis de ativação obtidos. **Resultados/Discussão** – O córtex motor foi identificado em todos os voluntários estudados. Não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas quando comparados os resultados obtidos com os diferentes parâmetros de aquisição. **Conclusão** – O protocolo foi otimizado tendo em conta o nível de conforto reportado pelos voluntários. Uma vez que se pretende aplicar este mesmo protocolo no estudo de doentes, este fator torna-se particularmente relevante.

Palavras-chave: BOLD, córtex motor, paradigma, ressonância magnética funcional (RMf), TE (tempo de eco).

Mapping the motor cortex with BOLD functional magnetic resonance imaging

ABSTRACT: Introduction – Functional magnetic resonance imaging (fMRI) is currently an essential tool for the study of human brain function, both in healthy volunteers and in patients suffering from multiple types of pathology. fMRI is a complex technique which needs to be applied in a careful and rigorous manner, requiring an understanding of its biophysical mechanisms so that reliable results with clinical acceptance can be obtained. The BOLD effect (*Blood Oxygenation Level Dependent*) is based on the magnetic properties of haemoglobin and it is the most used approach for measuring brain activity using MRI. **Goals** – To optimise a BOLD fMRI protocol on healthy volunteers for mapping the motor cortex, so that it can be applied to patients in the clinic. **Methods** – 34 healthy volunteers were divided into 2 study groups: BOLD 1 and BOLD 2. To optimise the acquisition, different paradigms were tested on sub-group BOLD 1. The influence of the echo time (TE) was studied on sub-group BOLD 2. The volume and activation level of the activated regions were compared under the different sets of conditions. **Results/Discussion** – It was possible to identify the motor cortex on all studied individuals. No significant statistical differences were detected when comparing the results obtained with the different acquisition parameters. **Conclusion** – The protocol

was optimised taking into account the level of comfort reported by the volunteers. Given that the goal is to use this protocol to study patients, comfort is a particularly important factor.

Keywords: BOLD, motor cortex, functional magnetic resonance imaging (fMRI), echo time (TE).

Introdução

A ressonância magnética funcional (RMf) reflete o nível de atividade das células nervosas em cada região. O princípio fisiológico fundamental subjacente é a relação existente entre a atividade destas células e a dinâmica dos vasos sanguíneos na sua proximidade, sendo que esta foi originalmente postulada por Roy e Sherrington no século XIX¹.

A imagem funcional permite medir indiretamente a atividade cerebral, pois é sensível às alterações na oxigenação, fluxo e volume sanguíneo que ocorrem em resposta à atividade neuronal – resposta hemodinâmica².

Existem vários métodos para obter informação da resposta hemodinâmica: o efeito BOLD (*blood-oxygen-level-dependent*), o mais frequentemente utilizado² e ASL (*arterial spin labeling*). Este último permite o estudo de perfusão cerebral utilizando as moléculas de água como marcador endógeno³. O efeito BOLD deteta variações da oxigenação sanguínea ao tirar partido das propriedades magnéticas da hemoglobina². Esta molécula é diamagnética quando transporta oxigénio (HbO₂) e é paramagnética quando não o transporta (dHb)^{2,4}. Assim, a presença de dHb causa uma distorção do campo magnético BO, levando a um aumento local da heterogeneidade deste e a uma redução do sinal em imagens ponderadas em T2*.

Para aplicação do efeito BOLD, a aquisição de imagens de RMf é efetuada de forma contínua, alternando períodos durante os quais o sujeito realiza uma determinada tarefa (períodos de ativação), com períodos de repouso – paradigmas em bloco representados na Figura 1. A definição da tarefa, a duração e número de períodos de repouso e de ativação constituem o paradigma de ativação⁵. Para obter o contraste suficiente e de modo a comparar o sinal de RMf durante a ativação e o período de repouso, o conjunto dos dois períodos é repetido diversas vezes⁶⁻⁸.

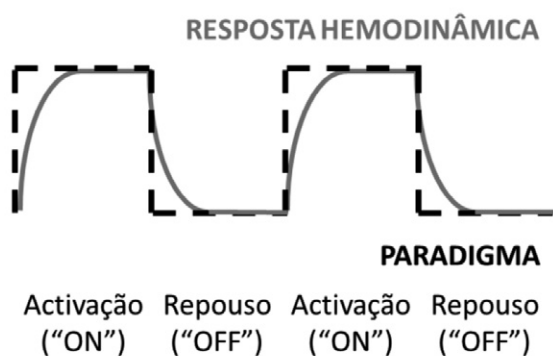


Figura 1: Diagrama do paradigma em blocos. A função da resposta hemodinâmica é tida em conta para modelar o tempo de transição entre os períodos de atividade e os períodos de repouso ou vice-versa.

O objetivo da utilização do paradigma em bloco, em que a tarefa é continuamente executada durante um período de ativação relativamente longo, é manter o sinal BOLD no máximo, por um período de tempo considerável, de modo a que haja uma maior diferença entre o sinal medido durante a ativação e o sinal medido durante a linha de base^{4,6-8}. A duração dos períodos de ativação deve ser suficientemente longa, de modo a ter em conta o atraso no aumento de sinal de RMf devido à resposta hemodinâmica após o início da execução da tarefa. De forma a detetar o sinal de RMf máximo, o período de ativação deve ter uma duração mínima de 8 segundos⁶.

Por outro lado, é importante evitar que o período de ativação seja demasiadamente longo se isso resultar em cansaço e implicar que a tarefa em causa acabe por não ser executada de forma correta. O resultado seria uma menor diferença entre o nível médio de sinal durante os períodos de atividade e os de repouso, podendo não ser considerada significativa. A variação da duração dos blocos tem ainda consequências a nível do pré-processamento. É usual aplicar um filtro temporal passa-alto para remover a contribuição no sinal de RMf das frequências baixas que não sejam consideradas de interesse. Blocos mais longos implicam, em geral, a utilização de frequências de corte mais baixas, o que pode resultar numa menos eficiente remoção do ruído e, portanto, num menor poder estatístico do paradigma.

Para medir o efeito BOLD são utilizadas sequências ponderadas em T2*, sendo importante a escolha de um TE adequado para aumentar a sensibilidade da medição à atividade neuronal⁹⁻¹¹. Se o TE for muito curto não haverá muita diferença entre as curvas de decaimento em T2* correspondentes aos estados de repouso e de ativação, logo o contraste BOLD é reduzido. No entanto, se o TE for demasiado longo não haverá sinal de qualquer um dos estados. De forma a obter o contraste máximo por efeito BOLD, o valor do TE deve ser aproximadamente igual ao T2* da substância cinzenta⁹.

Vários autores referem também que TEs curtos reduzem os artefactos de susceptibilidade e levam a um aumento da relação sinal-ruído, o que permite obter um melhor sinal BOLD em regiões afetadas por este tipo de artefactos⁹⁻¹⁰.

Os estudos funcionais têm grande utilidade para o mapeamento cortical do cérebro em voluntários saudáveis e em pacientes com patologia diversa. Em pacientes com doença oncológica, a RMf, usando o efeito BOLD, tem demonstrado ser uma mais-valia na avaliação pré-cirúrgica no estudo do córtex motor⁶.

Esta avaliação pode ser utilizada como um método auxiliar no planeamento pré-operatório, mapeando as funções

das zonas adjacentes a lesões. Desta forma, pretendem poupar-se as regiões funcionalmente ativas, de forma a minimizar o impacto da cirurgia⁶.

Objetivos

- Otimizar um protocolo BOLD para mapeamento do córtex motor em voluntários saudáveis para aplicação futura em doentes.
- Investigar o impacto dos parâmetros de aquisição. Estudar o impacto do paradigma utilizado, fazendo variar o número (2, 3 ou 5) e duração dos períodos de ativação, mantendo o tempo total do exame constante. Estudar o efeito da variação do TE (45, 50, 55ms).

Metodologia

Amostra e população

Foram estudados 34 voluntários saudáveis (23 mulheres e 11 homens) com idades entre os 18 e 63 anos. O estudo teve um período de duração de 4 meses (junho a setembro de 2011) e foi realizado na Clínica Quadrantes – Grupo Joaquim Chaves. A clínica possui um equipamento de RM 1,5 T, MAGNETOM Symphony a Tim System – Siemens, com uma bobina de receção de crânio com 8 canais.

Foram considerados os seguintes critérios de exclusão: homens ou mulheres com doenças neurológicas, com tratamentos que pudessem interferir com a função cognitiva, com *pacemaker* ou com material metálico. Foram ainda excluídos sujeitos que fossem claustrofóbicos ou que tivessem dificuldade em colaborar na correta realização do exame. Após a realização dos exames, as imagens estruturais foram inspeccionadas para excluir a existência de lesões cerebrais.

Considerações éticas

Antes da realização do exame, os voluntários foram esclarecidos sobre todos os detalhes do exame e responderam a um questionário específico para realizar a RM. O consentimento informado foi obtido de todos os voluntários. Este estudo foi autorizado pelo Conselho de Administração da Clínica Quadrantes e aprovado em comissão de ética.

Protocolos de aquisição de imagens

Neste estudo foram analisados dois protocolos diferentes: protocolo BOLD 1 (variação do paradigma com 15 voluntários) e protocolo BOLD 2 (variação do valor de TE com 19 voluntários). Em ambos os protocolos foram utilizados paradigmas em bloco.

No protocolo BOLD 1 pretendeu-se escolher o paradigma que permitisse obter de forma mais consistente, entre sujeitos, ativação no córtex motor correspondente à mão dominante. Os vários paradigmas utilizados neste protocolo tinham em comum o número de volumes adquiridos: 60 + 3 (para estabilização do sinal). Partindo deste valor foram testados 3 tipos de paradigma (2, 3 e 5 repetições

– cf. Tabela 1), de forma a perceber qual seria o mais indicado para este estudo, tendo em conta os constrangimentos já discutidos.

Tabela 1: Parâmetros técnicos utilizados para a aquisição dos protocolos

Protocolo	TE (ms)	Paradigma	Nº volumes durante cada bloco de ativação
BOLD 1	50	2 Repetições	15
	50	3 Repetições	10
	50	5 Repetições	6
BOLD 2	45	3 Repetições	10
	50	3 Repetições	10
	55	3 Repetições	10

O paradigma com 2 repetições tinha períodos de ativação e de repouso com uma duração de 60 segundos cada, o de 3 repetições tinha períodos de 40 segundos cada e, por último, o paradigma com 5 repetições tinha períodos de ativação e repouso mais curtos (24 segundos).

Foi pedido aos voluntários estudados com o protocolo BOLD 1 que comparassem a dificuldade em cumprir cada um dos paradigmas. Como a maioria referiu que o paradigma com 3 repetições é o mais confortável de se realizar, o protocolo BOLD 2, para estudo da influência do valor de TE, foi realizado utilizando o paradigma com 3 repetições (cf. Tabela 1).

Neste protocolo foram utilizados os valores de TE de 45, 50 e 55ms. O valor intermédio de 50ms correspondia ao pré-definido no equipamento de RM. Quanto aos restantes, foram selecionados com um intervalo simétrico para avaliar de que forma varia a ativação do córtex motor em função do valor de TE.

Aquisição de imagens

Neste estudo foram adquiridas imagens anatómicas e imagens de RMf. As imagens anatómicas foram adquiridas utilizando uma sequência FLAIR – *Fluid Attenuation Inversion Recovery* (TE=85ms, TR=9000 ms, *Field of View* – FOV de 230x230mm² e matriz de 154x256) e T1 axial de alta resolução (TE=3.48ms, TR=1910ms, FOV de 256x256mm² e matriz de 154X256). As imagens foram necessárias para avaliar a anatomia cerebral, excluir eventuais lesões cerebrais e também auxiliar no co-registo das imagens funcionais ao espaço *standard* do McConnell Brain Imaging Centre (MNI)¹².

Para a aquisição das imagens de RMf foi utilizada uma sequência EPI (*Echo Planar Imaging*) com 36 cortes de 3mm de espessura, TE (ms)=45, 50 ou 55 (de acordo com o protocolo utilizado), TR=4000ms, 63 volumes, FOV de 250X250mm² e matriz de 64X64. Estas imagens permitiram obter os mapas funcionais dos córtex motor da mão dominante. A duração total média do exame foi de 20 minutos.

Durante a aquisição das imagens funcionais, cada voluntário foi devidamente instruído relativamente à metodologia do paradigma (mexer o dedo indicador para cima e para baixo, a uma frequência constante – cerca de 1Hz), ou seja, antes de cada bloco, foram dadas as seguintes instruções aos voluntários: “mexer” para o período de actividade e “parar” para o período de repouso.

As várias sequências funcionais, com os vários valores de TE e vários paradigmas, foram executadas por ordem diferente para os vários sujeitos e com um intervalo de segurança entre elas de 2 minutos. O objetivo era de que a ordem de aquisição não influenciasse os resultados e que os movimentos fossem realizados de forma regular e preenchendo todos os períodos de ativação.

Processamento de imagem

A análise das imagens de RMf foi realizada utilizando a *FMRIB Software Library* – (FSL)¹³. O programa FSL é composto por vários módulos para a análise de imagens médicas e foi utilizado em particular o FEAT (*FMRI Expert Analysis Tool*), versão 5.98, para detetar a ativação cerebral baseada nas alterações do sinal BOLD¹³.

Para a análise dos dados de RMf existem 3 etapas fundamentais: pré-processamento, análise estatística e a apresentação das imagens de ativação. Relativamente ao pré-processamento, todos os volumes da RMf foram alinhados ao volume intermédio da série de modo a corrigir movimentos rígidos da cabeça. Foram ainda efetuadas filtrações espacial (3mm de largura) e temporal de modo a remover sinais fisiológicos de baixa frequência (com um período superior à duração dos blocos de ativação e repouso combinados), de modo a melhorar a razão sinal-ruído. Para aplicar o *general linear model* (GLM), o perfil temporal de cada paradigma (0 para volumes correspondentes a repouso, 1 para ativação) foi convolvido com a função da resposta hemodinâmica (foi usada a função gama definida por defeito no FSL: centrada em 6s com uma largura de 3s). Foi aplicada filtragem temporal ao modelo obtido após convolução com a resposta hemodinâmica e tida em conta a sua derivada temporal.

Concluída a análise efetuada pelo FEAT são obtidas as imagens resultantes do teste t de student efetuado, indicando as regiões onde o sinal variou de forma significativa quando comparados os períodos de ativação e de repouso. Todas as imagens funcionais foram alinhadas à imagem estrutural e ao espaço *standard* de modo a sobrepor os mapas de ativação.

Foi calculado, para cada pixel, o coeficiente de ativação e o correspondente *z-score*. Considerando o sinal BOLD X, correspondente à diferença de sinal de RM entre os estados de ativação e repouso, o *z-score* é calculado tendo em conta o seu valor médio (μ) e desvio padrão (σ):

$$z = \frac{X - \mu}{\sigma} \quad \text{Equação 1}$$

Foi utilizado um limiar mínimo de 2,3 (utilizado por defeito pelo FSL) para determinar que vóxeis foram ativados durante a realização da tarefa. Foi igualmente considerado um limiar

de 4,0 por ser este o utilizado pelo *software* desenvolvido pelo fabricante do equipamento utilizado – NEURO 3D, *workstation* Leonardo da Siemens. Estes valores de limiar estão associados a valores de significância muito diferentes: $p < 0,01$ e $p < 3,2 \times 10^{-5}$ para *z-scores* de 2,3 e 4,0 respetivamente. A implicação é que o volume da região de ativação deverá ser muito menor no segundo caso, uma vez que é exigida uma maior variação no sinal de RMf associada à execução da tarefa escolhida. Para evitar a deteção de pixéis isolados foi utilizado o modo *cluster* no FSL.

Sendo assim, apenas vóxeis onde foi obtido um *z-score* superior ao limiar definido foram considerados na definição da região de ativação. Na determinação do volume de ativação foram apenas contabilizados vóxeis que se encontrassem no córtex motor. Para tal foi utilizada a região de interesse (ROI) apropriada, definida no atlas cortical de Harvard-Oxford e disponível no FSL. Como esta região se encontrava no espaço *standard*, foi transformada para o espaço funcional de cada sujeito, utilizando um programa em linguagem *bash* desenvolvido *in-house*. Para avaliar a variabilidade dos resultados entre sujeitos, para cada paradigma ou TE foi calculado o coeficiente de variação (CV) para o volume de ativação dado por:

$$CV = 100 \times \frac{\sigma_V}{V} (\%) \quad \text{Equação 2}$$

onde V representa o volume de ativação médio e σ_V o desvio padrão entre sujeitos.

Uma vez que o *z-score* está relacionado com a intensidade da ativação obtida nas imagens funcionais, foi utilizado como um indicativo do nível de ativação atingido. Os *z-scores* médio e máximo foram registados e comparados para cada voluntário nas regiões ativadas.

Análise estatística

A análise estatística dos resultados obtidos, após análise das imagens funcionais (volume e nível de ativação), foi efetuada através do programa Matlab®.

Pretendeu-se avaliar qual o melhor valor de TE e qual o melhor paradigma a ser utilizado para a aquisição de imagens funcionais. Antes de mais, foi realizado o teste da normalidade considerando as amostras estudadas nos dois protocolos.

Uma vez que o resultado do teste de normalidade indicava que a amostra não seguia uma distribuição normal, foi utilizado um teste não paramétrico – o teste de Kruskal-Wallis ou análise de variância pelos números de ordem para comparar as medianas (volume e nível de ativação) entre os grupos¹⁴.

Resultados

Foi obtida ativação no córtex motor da mão dominante em todos os sujeitos e em quase todas as aquisições efetuadas. Esta foi confirmada visualmente para todos os casos por um clínico neurorradiologista, tendo por base os seus conhecimentos de anatomia e através da aplicação de uma ROI do atlas Harvard-Oxford ao mapa de ativação. As exceções foram para um limiar de 2,3: 1 sujeito para TE=55ms e para

um limiar de 4,0: um sujeito para o paradigma com 5 repetições e dois sujeitos para o paradigma com 3 repetições.

Na Figura 2 é apresentado um exemplo da aplicação desta ROI (a verde) à ativação total (a laranja), de modo a extrair apenas os vóxeis ativado no córtex motor (a azul).

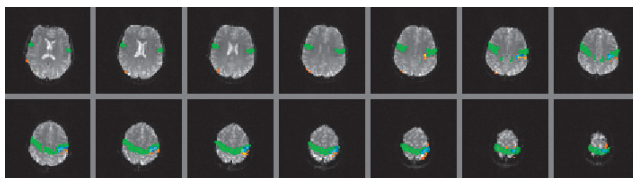


Figura 2: Exemplo da aplicação da ROI do córtex motor (a verde) para extração dos vóxeis ativados nessa região (a azul). Os vóxeis ativados noutras regiões cerebrais são apresentados a laranja. Este exemplo corresponde a um paradigma com 3 repetições, TE=50 ms e a um z-score limiar de 2,3.

Os resultados relativos ao volume de ativação (dado pelo número de vóxeis) com a variação do paradigma, considerando limiares de 2,3 e de 4,0, são apresentados na Figura 3 na forma de diagramas de caixas. Como esperado, é possível confirmar a redução nos volumes medianos de ativação quando se utilizou um limiar mais alto.

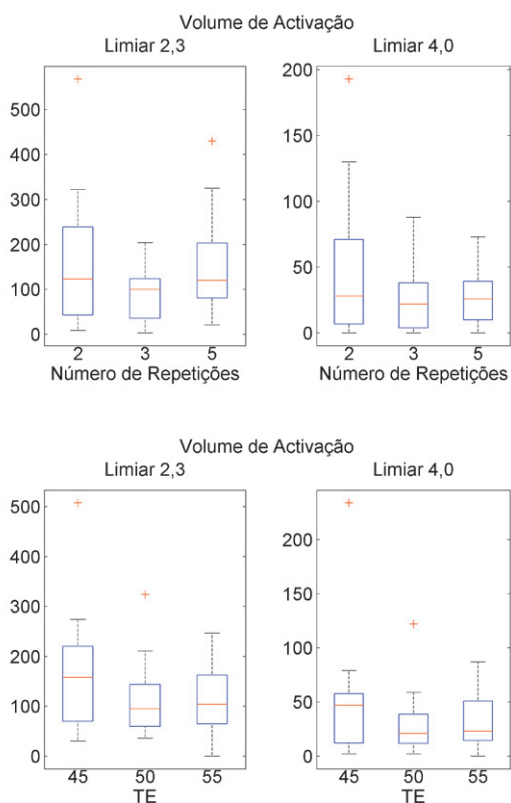


Figura 3: Diagramas de caixas para o volume de ativação médio para limiares de 2,3 (esquerda) e de 4,0 (direita). Comparação entre paradigmas em cima e entre valores de TE em baixo.

Na Figura 4 é apresentado o diagrama de caixas para o z-score médio para os diferentes paradigmas e valores de TE. Na Figura 5 são apresentados os resultados correspondentes ao z-score máximo. Os z-score médio ou máximo iguais a zero correspondem aos casos em que não foi possível observar ativação no córtex motor (exceções mencionadas no início da secção dos resultados).

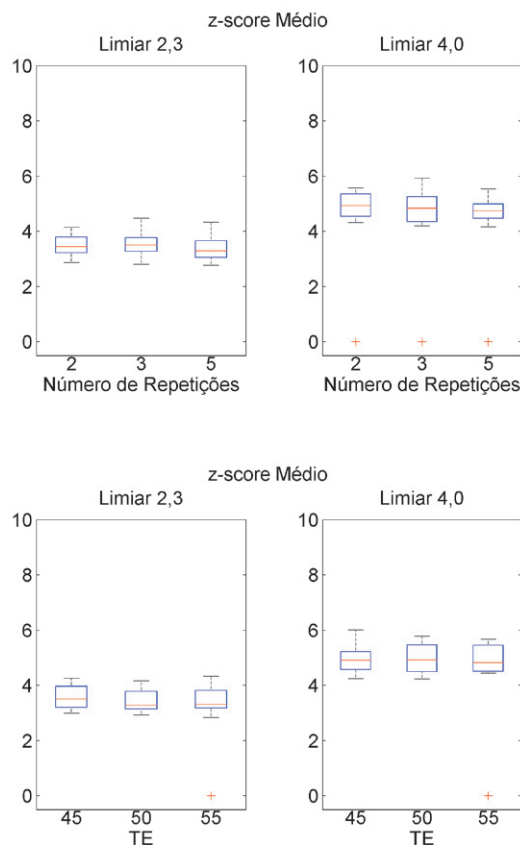


Figura 4: Diagramas de caixas para o volume z-score médio para limiares de 2,3 (esquerda) e de 4,0 (direita). Comparação entre paradigmas em cima e entre valores de TE em baixo.

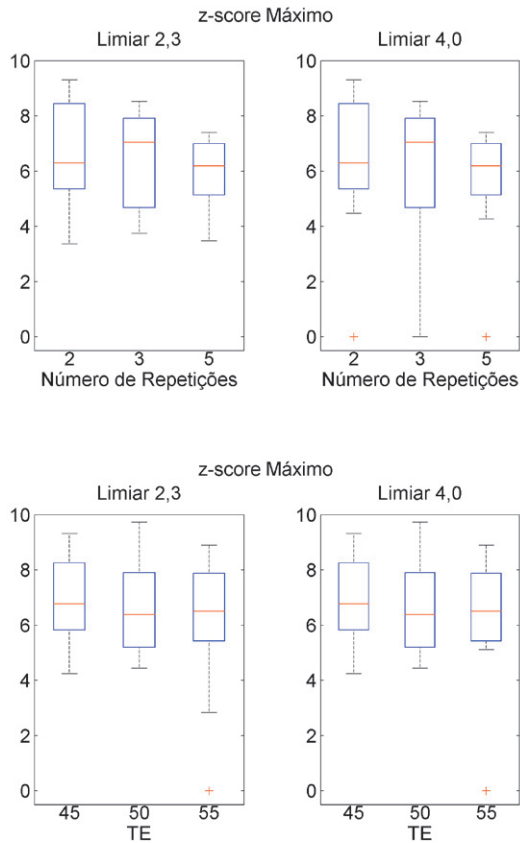


Figura 5: Diagramas de caixas para o z-score máximo para limiares de 2,3 (esquerda) e de 4,0 (direita). Comparação entre paradigmas em cima e entre valores de TE em baixo.

Como exemplo, são apresentadas na Figura 6 (variação do Paradigma) e na Figura 7 (variação do TE) imagens ilustrativas de voluntários individuais representando as regiões de ativação no espaço *standard* para um limiar de 2,3.

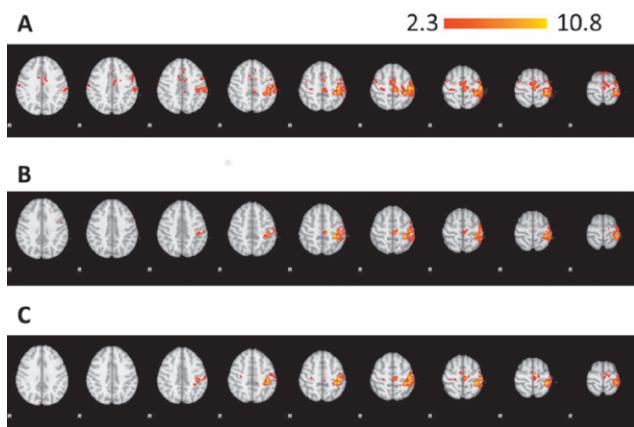


Figura 6: Mapas de ativação obtidos para um dos sujeitos do estudo para um limiar de 2,3 com variação do paradigma (TE=50ms): A = 2 repetições; B = 3 repetições; C = 5 repetições. Os mapas estão representados no espaço *standard*.

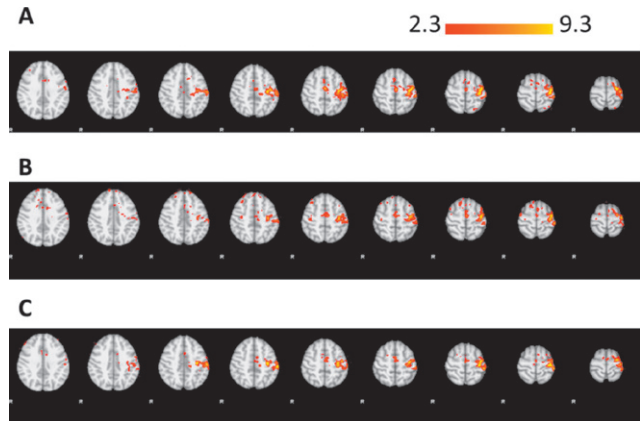


Figura 7: Mapas de ativação obtidos para um dos sujeitos do estudo para um limiar de 2,3 com variação do TE (paradigma correspondente a 3 repetições): A = 45ms; B = 50ms; C = 55ms. Os mapas estão representados no espaço *standard*.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados obtidos com o teste estatístico de Kruskal-Wallis. Considerando as várias repetições (2,3,5) e um z-score de 2,3, o valor de p mais baixo foi de 0,182, o que significa que as diferenças entre as várias repetições não são significativas para um nível de significância de 5%. Verificamos a mesma situação para o limiar de 4,0 (cf. Tabela 2) com um valor de p mínimo de 0,359.

Tabela 2: Resultados estatísticos obtidos relativamente à variação do paradigma para limiares de 2,3 (esquerda) e 4,0 (direita)

2,3	TE=50	4,0	TE=50
	Paradigma 2,3,5		Paradigma 2,3,5
Volume de ativação	$p=0,182$	Volume de ativação	$p=0,571$
z-score médio	$p=0,527$	z-score médio	$p=0,431$
z-score máximo	$p=0,366$	z-score máximo	$p=0,359$

De acordo com a Tabela 3, considerando os 3 valores de TE (45, 50 e 55ms) e um limiar de 2,3, o valor de p mais baixo que foi observado foi de 0,291, pelo que verificamos que as diferenças não foram significativas entre os 3 valores de TE. O mesmo acontece para o limiar de 4,0, uma vez que o valor de p é superior a 0,05.

Tabela 3: Resultados estatísticos obtidos relativamente à variação do valor de TE para limiares de 2,3 (esquerda) e 4,0 (direita)

2,3	Paradigma 3	4,0	Paradigma 3
	TE=45,50,55		TE=45,50,55
Volume de ativação	$p=0,291$	Volume de ativação	$p=0,290$
z-score médio	$p=0,667$	z-score médio	$p=0,952$
z-score máximo	$p=0,576$	z-score máximo	$p=0,576$

Assim, o teste de Kruskal-Wallis permite concluir que para um nível de confiança de 95% os valores obtidos com diferentes tipos de paradigmas e valores de TE não são significativamente diferentes.

Na Tabela 4 são apresentados os valores obtidos para o CV relativo ao volume de ativação. De acordo com estes resultados, os paradigmas com 3 e 5 repetições apresentaram valores muito semelhantes de CV para o limiar mais baixo, embora para um limiar de 4,0 o paradigma com 5 repetições tenha registado menor variabilidade. No que diz respeito aos valores de TE, os resultados foram semelhantes para TEs de 50 e 55ms para um limiar de 2,3, sendo os resultados mais favoráveis para o TE mais longo e para o limiar mais elevado.

Tabela 4: Resultados obtidos para o coeficiente de variação(%) do volume de ativação(%) relativamente à variação do paradigma para limiares de 2,3 e 4,0

Limiar	TE=50	Paradigma 3
	Paradigma 2,3,5	TE=45,50,55
2,3	194; 71; 72	71; 61; 60
4,0	108; 100; 75	109; 101; 74

Discussão

Para os 34 voluntários estudados, a RMf mostrou eficácia na localização anatómica do córtex motor para os vários paradigmas e valores de TE utilizados. Nalguns casos não foi detetada ativação no córtex motor, particularmente para o nível de limiar mais elevado que exigiria uma alteração mais pronunciada do sinal de RMf. No caso do limiar de 2,3 houve apenas um caso em que o volume de ativação foi nulo. Uma possibilidade para esse resultado seria uma má execução da tarefa escolhida para aquela sequência (TE=55ms) e para aquele sujeito em particular.

De acordo com os resultados obtidos, verifica-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os diferentes paradigmas. Porém, comparando os CV obtidos para os diferentes paradigmas, verificou-se que a variabilidade associada aos paradigmas de 3 e 5 repetições para o limiar de 2,3 é comparável entre si e mais baixa do que para 2 repetições. No caso de um limiar de 4,0, foi obtido um CV mais baixo para 5 repetições, o que poderá, em ambos os casos, estar relacionado com o menor poder estatístico do GLM para paradigmas mais longos.

A aplicação do paradigma motor apresenta alguns problemas, pois depende unicamente da colaboração do voluntário. Por esse motivo, os paradigmas que foram utilizados neste projeto foram pensados para que não só os voluntários os conseguissem executar mas também doentes com patologia.

De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que para todos os valores de TE testados se obteve ativação por contraste BOLD, sendo possível identificar corretamente o

córtex motor. Na medida em que a nossa zona de interesse não envolve diretamente regiões onde os artefactos de suscetibilidade se fazem sentir de forma mais notória, utilizar um valor de TE curto não deverá afetar o sinal BOLD⁹.

Comparando os resultados para os diferentes TE, não foram obtidas diferenças estatisticamente significativas, mas o CV obtido para TE de 50ms e 55ms foi relativamente mais baixo comparado com o CV para um TE mais curto para um limiar de 2,3. Para o limiar mais alto, o menor CV foi obtido para TE=55ms. Isto significa que a ativação adquirida com este TE terá sido mais coerente entre os 19 voluntários, mostrando que este é o tempo de eco ótimo.

Outros estudos foram efetuados com o mesmo objetivo. O estudo de Fera et al¹¹ avaliou a influência do valor de TE na amplitude do sinal BOLD em imagens de RMf do córtex motor. Para tal foram adquiridas imagens com valores de TE compreendidos entre 30ms e 200ms, embora este intervalo não tivesse sido avaliado de forma uniforme. Entre TE=30ms e TE=50ms foram adquiridas imagens com TE distanciado de 5ms, no intervalo 50-140ms, distanciados de 10ms e no intervalo 140-200ms, distanciados de 20ms. Neste estudo verificou-se que o valor máximo do sinal de ativação ocorreu para valores de TE entre 50ms e 60ms, o que está de acordo com os resultados aqui apresentados.

Outro estudo¹⁵ comparou dois valores de TE (27ms e 40ms) num sistema de RM de 2.0 T e verificou que para ambos os valores se obteve ativação significativa nas regiões anatómicas livres de artefactos de suscetibilidade. Apesar de a ativação ter sido ligeiramente superior para o TE de 40ms, os autores sugerem a utilização do valor de TE mais baixo, de forma a diminuir o tempo de aquisição. No presente caso, o intervalo entre valores de TE considerados (5ms) teria um menor impacto no tempo de aquisição final, pelo que seria preferível optar pelo valor mais longo de modo a maximizar a sensibilidade ao sinal BOLD.

É possível que, apesar do cuidado tido, os períodos de ativação possam ter sido demasiado longos e que alguns voluntários tenham ficado cansados, o que levaria a que não tivessem executado a tarefa de forma adequada durante a sua duração completa. Uma das consequências poderia ter sido uma variação da frequência do movimento e eventualmente uma paragem completa, o que teria um impacto negativo nos resultados.

Uma das motivações para a realização deste trabalho foi otimizar um protocolo de RMf que permita aos neurocirurgiões avaliar a localização do córtex motor em pacientes com tumores. Desta forma, a aplicação desta técnica a pacientes poderá ser uma ferramenta adicional na tomada de decisão do clínico sobre a realização ou não de uma cirurgia ou mesmo para o seu planeamento. Neste estudo foi investigado o impacto da variação de alguns parâmetros do protocolo (número de repetições no paradigma e TE), não tendo sido possível observar diferenças significativas nos volumes ativados ou nos z-scores registados. Seria desejável no futuro avaliar o impacto de uma combinação mais vasta de parâmetros, de modo a obter um protocolo que conduza a padrões de ativação tão robustos quanto

possível. Para além dos parâmetros aqui estudados existem outros que também podem ter um efeito significativo sobre o efeito BOLD, como a dimensão do voxel, a espessura do corte e o TR cuja influência poderia ser investigada num estudo futuro. Seria ainda desejável estudar o impacto do número de volumes adquiridos, de modo a determinar qual o tempo de aquisição mínimo necessário para obter um mapa de ativação consistente entre sujeitos. Outro aspecto a investigar é a reprodutibilidade dos resultados individuais, o que implicaria repetir as sessões de aquisição. Estas questões são particularmente relevantes tendo em conta a aplicação do protocolo num contexto clínico.

Neste estudo foi realizada uma primeira análise comparativa do impacto da utilização de diferentes paradigmas e TE. Para comparar diretamente os mapas de grupo para os vários tipos de paradigma ou TE deverá ser realizada no futuro uma *higher level analysis*, utilizando, por exemplo, o programa FEAT do FSL.

Em estudos futuros pretende-se complementar o protocolo implementado, utilizando também tractografia por tensor de difusão (DTI) para reconstrução dos tractos motores. Deste modo, será possível incluir informação funcional e estrutural no planeamento pré-cirúrgico¹⁶.

Outra possibilidade seria explorar a combinação da RMf com outras técnicas, como eletroencefalografia (EEG) ou magnetoencefalografia (MEG). Estas técnicas permitem obter informação complementar relativamente à RMf devido à elevada resolução temporal que permitem atingir. No caso da EEG existe ainda a grande vantagem de ser possível obter registos de EEG durante o exame de RMf¹⁷.

Quanto às limitações inerentes a este estudo, prendem-se nomeadamente com o tipo e dimensão das amostras que podem comprometer as generalizações dos resultados obtidos. Outra limitação prende-se com o facto de não ter sido possível ter acesso a pacientes oncológicos com lesões próximas ou até mesmo no córtex motor.

Conclusão

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes condições estudadas (variação do paradigma e do valor de TE).

O protocolo de mapeamento do córtex motor através da técnica BOLD foi otimizado em voluntários saudáveis para aplicação futura em doentes com patologia, tendo em conta a variabilidade observada nos resultados e o nível de conforto relatado.

No futuro seria desejável determinar qual o tempo de aquisição mínimo necessário para obter mapas de ativação robustos.

Para aplicação futura no planeamento pré-cirúrgico pretende-se complementar a informação obtida com o protocolo funcional otimizado com a reconstrução dos tractos motores através de DTI.

Referências bibliográficas

- Roy SC, Sherrington CS. On the regulation of blood supply of the brain. *J Physiol.* 1890;1:85-108.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87(24):9868-72.
- Buxton RB, Frank LR, Wong EC, Siewert B, Warach S, Edelman RR. A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labelling. *Magn Reson Med.* 1998;40(3):383-96.
- Kim MJ, Holodny AI, Hou BL, Peck KK, Moskowitz CS, Bogomolny DL, et al. The effect of prior surgery on blood oxygen level-dependent MR imaging in the preoperative assessment of brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2005;26(8):1980-5.
- Vlieger EJ, Majoie CB, Leenstra S, Den Heeten GJ. Functional magnetic resonance imaging for neurosurgical planning in neurooncology. *Eur Radiol.* 2004;14(7):1143-53.
- Stippich C, editor. *Clinical functional MRI: presurgical functional neuroimaging.* New York: Springer; 2007. ISBN 9783642140051
- Huettel SA, Song AW, McCarthy G. *Functional magnetic resonance imaging.* Sunderland: Sinauer Associates; 2004. ISBN 9780878932887
- Jezzard P, Matthews PM, Smith SM. *Functional MRI: an introduction to methods.* Oxford University Press; 2002. ISBN 9780198527732
- Kopietz R, Albrecht J, Linn J, Pollatos O, Anzinger A, Wessmann T, et al. Echo time dependence of BOLD fMRI studies of the piriform cortex. *Klin Neuroradiol.* 2009;19(4):275-82.
- Luo Q, Gao JH. Modeling magnitude and phase neuronal current MRI signal dependence on echo time. *Magn Reson Med.* 2010;64(6):1832-7.
- Fera F, Yongbi MN, van Gelderen P, Frank JA, Mattay VS, Duyn JH. EPI-BOLD fMRI of human motor cortex at 1.5 T and 3.0 T: sensitivity dependence on echo time and acquisition bandwidth. *J Magn Reson Imaging.* 2004;19(1):19-26.
- Mazziotta J, Toga A, Evans A, Fox P, Lancaster J, Zilles K, et al. A probabilistic atlas and reference system for the human brain: International Consortium for Brain Mapping (ICBM). *Phil Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 3001;356(1412):1293-322.
- Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TE, Woolrich MW, Smith SM. *FSL. Neuroimage.* 2012;62(2):782-90.
- Afonso A, Nunes C. *Estatística e probabilidades: aplicações e soluções em SPSS.* Lisboa: Escolar Editora; 2010. ISBN 9789725922996
- Gorno-Tempini ML, Hutton C, Josephs O, Deichmann R, Price C, Turner R. Echo time dependence of BOLD contrast and susceptibility artifacts. *Neuroimage.* 2002;15(1):136-42.
- Gupta A, Shah A, Young RJ, Holodny AI. Imaging of brain tumors: functional magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging. *Neuroimaging Clin N Am.* 2010;20(3):379-400.
- Salek-Haddadi A, Friston KJ, Lemieux L, Fish DR. Studying spontaneous EEG activity with fMRI. *Brain Res Rev.* 2003;43(1):110-33.

Artigo recebido em 17.05.2013 e aprovado em 17.03.2014