



**INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA**

**ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA**

# **Avaliação do Volume do Hipocampo no Idoso em Imagens de Ressonância Magnética: Comparação de Diferentes Métodos de Segmentação**

PATRÍCIA ALEXANDRA TOMÁS GAMBOA

PROFESSORA DOUTORA MARIA MARGARIDA RIBEIRO

MESTRADO EM RADIAÇÕES APLICADAS ÀS TECNOLOGIAS DA SAÚDE

LISBOA, 2019

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA

ESCOLA SUPERIOR DE TECNOLOGIA DA SAÚDE DE LISBOA

# **Avaliação do Volume do Hipocampo no Idoso em Imagens de Ressonância Magnética: Comparação de Diferentes Métodos de Segmentação**

PATRÍCIA ALEXANDRA TOMÁS GAMBOA

PROFESSORA DOUTORA MARIA MARGARIDA RIBEIRO

MESTRADO EM RADIAÇÕES APLICADAS ÀS TECNOLOGIAS DA SAÚDE

LISBOA, 2019

© Copyright by Patrícia Alexandra Tomás Gamboa, ESTeSL, IPL

*A Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor e que tal não viole nenhuma restrição imposta por artigos publicados que estejam incluídos neste trabalho.*

Documento escrito ao abrigo do novo acordo ortográfico da Língua Portuguesa (2009).



## **AGRADECIMENTOS**

Um especial agradecimento à Professora Doutora Maria Margarida Ribeiro por toda a orientação, ajuda e força que me deu para realizar esta investigação.

Agradeço muito aos meus pais, ao meu irmão e ao meu namorado pelo apoio que me deram ao longo de toda esta etapa, principalmente nas horas mais difíceis, em que pensava que não iria concluir esta etapa.

Um obrigada à professora Paula Macedo da área científica de Matemática da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, pela ajuda que me deu no tratamento e interpretação dos dados estatísticos.

Por fim, tenho a agradecer a todos os meus colegas do serviço de Imagiologia do Hospital de Vila Franca de Xira pela ajuda e força que me deram.

Obrigada a todos!

## RESUMO

A segmentação de imagens cerebrais é das ferramentas mais importantes no diagnóstico clínico. A segmentação do hipocampo em RM tem sido um procedimento bastante importante no diagnóstico precoce de diversas situações e patologias. Uma correta segmentação desta estrutura cerebral possibilita obter um volume, podendo ser usado para diagnosticar algumas doenças, como o Alzheimer, Esquizofrenia e Epilepsia.

O objetivo deste estudo foi comparar, em exames de RM, o volume dos hipocampos usando dois métodos de segmentação, um automático e outro manual. Assim, foram usados dois *softwares*: FreeSurfer® e OsiriX®.

Foram usadas imagens de RM de 100 pacientes com mais de sessenta e cinco anos, onde, para cada um deles, foi medido o volume do hipocampo esquerdo e direito, usando o FreeSurfer® e o OsiriX®.

Os valores obtidos usando o *software* FreeSurfer® são superiores aos obtidos com o *software* OsiriX® (LH=3995.850mm<sup>3</sup> e RH=3501.850mm<sup>3</sup>), respectivamente. O valor mais baixo, foi obtido com o *software* OsiriX® no Hipocampo direito e corresponde a 3481.200mm<sup>3</sup>. O valor mais elevado foi obtido com o *software* FreeSurfer® no Hipocampo esquerdo e corresponde a 3995.85 mm<sup>3</sup>. Em ambos os *softwares*, entre o gênero masculino e feminino, foram obtidos valores mais elevados no gênero masculino.

Admite-se que o *software* FreeSurfer® tenha reduzida especificidade, tal como é descrito na literatura. Os métodos de segmentação manual continuam a ser os mais fiáveis e preferidos pelos neurorradiologistas.

### **Palavras-chave**

Segmentação do Hipocampo; Imagem por Ressonância Magnética; Neuro imagem; Segmentação Manual; Segmentação Automática.

## **ABSTRACT**

Segmentation of brain images is one of the most important tools in clinical diagnosis. Segmentation of the hippocampus in MRI has been an important procedure in the early diagnosis of several situations and pathologies. A correct segmentation of this brain structure allows a volume to be obtained and can be used to diagnose some diseases, such as Alzheimer's, Schizophrenia and Epilepsy.

The aim of this study was to compare the volume of hippocampus by MRI, using an automatic and manual method. Therefore, two *softwares* were used: FreeSurfer® and OsiriX®.

MRI images of 100 patients over sixty-five years old were used, where the volume of the left and right hippocampus was measured for each of them using both *softwares*.

The values obtained using the FreeSurfer® *software* are higher than those obtained with OsiriX® (LH=3995.850mm<sup>3</sup> and RH=3501.850mm<sup>3</sup>), respectively. The lowest value was obtained using OsiriX® *software* in the right hippocampus and corresponds to 3481.200mm<sup>3</sup>. The highest value was obtained with FreeSurfer® *software* in the left Hippocampus and corresponds to 3995.85 mm<sup>3</sup>.

In both *softwares*, between male and female, higher values were obtained in the masculine gender.

It is assumed that the FreeSurfer® *software* has reduced specificity, as described in the literature. Manual segmentation methods remain the most reliable and preferred by neuroradiologists.

### **Keywords**

Hippocampus segmentation; Magnetic Resonance Imaging; Neuroimaging; Manual segmentation; Automatic segmentation.



# ÍNDICE

RESUMO.....	II
ÍNDICE .....	V
ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES .....	VIII
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	X
ÍNDICE DE TABELAS.....	XII
LISTA DE ABREVIATURAS .....	XIV
<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II – ENVELHECIMENTO CEREBRAL NO IDOSO .....</b>	<b>4</b>
2.1 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS MICROSCÓPICAS DO SNC.....	5
2.2 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO DE ESTADOS DE DEMÊNCIA.....	6
2.2 DESIQUILÍBRIO NA CONCENTRAÇÃO DO IÕES METÁLICOS.....	7
2.3 MAL FORMAÇÃO PROTEICA .....	7
<b>CAPÍTULO III – O HIPOCAMPO .....</b>	<b>8</b>
3.1 ANATOMIA DO CÉREBRO.....	8
3.2 ANATOMIA DO HIPOCAMPO.....	8
3.3 VASCULARIZAÇÃO DO HIPOCAMPO .....	11
3.4 FUNÇÃO DO HIPOCAMPO .....	12
<b>CAPÍTULO IV – A RESSONÂNCIA MAGNÉTICA .....</b>	<b>13</b>
4.1 HISTÓRIA DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	13
4.2 BOBINAS DE RADIOFREQUÊNCIA .....	16
4.3 CONTRASTE DE IMAGEM EM RM .....	17
4.4 ARTEFACTOS EM RM .....	19
4.5 EQUIPAMENTOS DE RM .....	19
<b>CAPÍTULO V – AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DO CÉREBRO COM A IDADE.....</b>	<b>21</b>
5.1 ALTERAÇÕES ANATÓMICAS E MORFOLÓGICAS.....	21
5.2 SEGMENTAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA .....	23
<b>CAPÍTULO VI – MÉTODOS DE SEGMENTAÇÃO DE IMAGEM .....</b>	<b>26</b>

<i>6.1 MÉTODOS DE SEGMENTAÇÃO DE REGIÕES CEREBRAIS</i> .....	26
<i>6.2 SOFTWARE OsiriX®</i> .....	28
<i>6.3 SOFTWARE FreeSurfer®</i> .....	29
<b>CAPÍTULO VII – METODOLOGIA</b> .....	<b>30</b>
<b>CAPÍTULO VIII – RESULTADOS</b> .....	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO IX – DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>CAPÍTULO X – CONCLUSÕES</b> .....	<b>45</b>
<b>CAPÍTULO XI – BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>46</b>
<b>CAPÍTULO XII – ANEXOS</b> .....	<b>55</b>



## ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Imagem do cérebro tendo em conta os lobos principais. Fonte: (13) .....	8
Figura 2. Na imagem superior, o Sistema Límbico representado a verde e azul. Na imagem inferior, apresenta-se circulado a vermelho a indicação da localização do hipocampo. Fonte: (30).....	9
Figura 3. Imagem do hipocampo que se assemelha a um cavalo-marinho. Fonte: (102) .....	10
Figura 4. The Indomitable, o primeiro equipamento de RM. Fonte: (103).....	15
Figura 5. Esquerda: Deposição normal de Ferro numa sequência de RM FLAIR. Direita: sequência FLAIR num paciente onde o sinal do putâmen é substancialmente reduzido, o que é suspeito de uma alteração degenerativa. Fonte:(46) .....	16
Figura 6. Sequência Spin eco. Fonte: (58).....	18
Figura 7. Diferentes mecanismos de contraste foram utilizados para criar imagens de RM ponderadas em T1 (esquerda), T2 (centro) e Densidade Protónica (direita). Fonte: (13) .....	18
Figura 8. Equipamento de RM de campo magnético aberto. Fonte: (58) .....	20
Figura 9. Imagem de RM de um participante com diminuição do volume dos hipocampos. Fonte:(19) .....	22
Figura 10. Medição do volume dos Hipocampos usando o software OsiriX®. Fonte (autor).....	31
Figura 11. Exemplo de range para obtenção de um corte coronal dirigido ao estudo dos hipocampos. Fonte (autor). .....	32



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Prevalência de demência em todos os países pertencentes à OCDE. Fonte: (18).....	5
Gráfico 2. Estudo da Normalidade das variáveis. Fonte: (Autor).....	33
Gráfico 3. Diferença entre os hipocampos direitos e esquerdos com os dois <i>softwares</i> . Fonte: (autor).....	35
Gráficos 4 e 5. Dados estatísticos para o hipocampo direito, usando os dois <i>softwares</i> . Fonte (autor).....	37
Gráficos 6 e 7. Dados estatísticos para o hipocampo esquerdo, usando os dois <i>softwares</i> . Fonte (autor).....	38
Gráficos 8, 9, 10 e 11. Teste não-paramétricos para o estudo de cada hipocampo consoante o género Masculino e Feminino. Fonte: (autor) .....	39
Gráfico 12. Comparação de volume cerebral entre um <i>software</i> automático e outro manual. A vermelho encontram-se os dados referentes ao hipocampo esquerdo e, a verde, os dados referentes ao hipocampo direito. Fonte: Adaptado de (84) .....	42



## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Escala de classificação de declínio cognitivo. Fonte: adaptado de (10) .....	2
Tabela 2. Parâmetros técnicos usados na sequência em estudo. Fonte: (autor) .....	32
Tabela 3. Valores estatísticos das quatro medições. Fonte: (autor) .....	34
Tabela 4. Valores estatísticos da diferença entre os dois hipocampos. Fonte (autor) .	35
Tabela 5. Testes de normalidade para o género Masculino e Feminino. Fonte: (autor) .....	38
Tabela 6. Volumes dos hipocampos obtidos por vários autores. Fonte: Adaptado de (90) .....	41



## LISTA DE ABREVIATURAS

- ASHS** - *Automated Segmentation of Hippocampal Subfields*
- AVC** - *Acidente Vascular Cerebral*
- BOLD** - *Blood Oxygen Level Dependent*
- DA** - *Doença de Alzheimer*
- DNA** - *Deoxyribonucleic Acid*
- DP** - *Densidade Protónica*
- DWI** - *Diffusion Weighted Imaging*
- EPI** - *Echo-Planar-Imaging*
- FDA** - *Food and Drug Administration*
- FID** - *Free Induction Decay*
- FLAIR** - *Fluid-Attenuated-Inversion-Recovery*
- FLASH** - *Fast-Low-Angle-Shot*
- FONAR** - *Field Focused Nuclear Magnetic Resonance*
- FOV** - *Field of View*
- GRAPPA** - *Generalized Autocalibrating Partial Parallel Imaging*
- INE** - *Instituto Nacional de Estatística*
- LCR** - *Líquido Cefalorraquidiano*
- mRNA** - *messenger Ribonucleic Acid*
- OCDE** - *Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico*
- OMS** - *Organização Mundial de Saúde*
- RARE** - *Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement*
- RF** - *Radiofrequência*
- RM** - *Ressonância Magnética*
- SB** - *Substância Branca*
- SC** - *Substância Cinzenta*
- SE** - *Spin-eco*
- SENSE** - *Sensitivity Encoding*
- SNC** - *Sistema Nervoso Central*
- SNR** - *Relação Sinal-Ruído*
- SNS** - *Serviço Nacional de Saúde*
- SPSS** - *Statistical Package for the Social Sciences*
- TC** - *Tomografia Computorizada*
- TE** - *Tempo de Eco*
- TR** - *Tempo de Repetição*

**US** - Ultrassonografia

**WWDC** – *Worldwide Developer Conference*



## CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

Todo o organismo multicelular possui um tempo limitado de vida. Normalmente, esse tempo divide-se em três fases: fase de crescimento e desenvolvimento, fase reprodutiva, e fase de senescência ou envelhecimento. (1) O envelhecimento da população representa cada vez mais um desafio para as sociedades atuais. Segundo dados referentes aos Censos 2011 do Instituto Nacional de Estatística (INE), existem em Portugal 10561614 habitantes, dos quais 2022504 tem 65 ou mais anos, representando 19.15% da população total. (2) Estudos de projeção populacional preveem que em 2060 haja 12.7% de idosos com mais de 80 anos, sendo que dados atuais correspondem a 4.2%. (3)

Em 1971 deu-se a reforma dos serviços de Saúde em Portugal e os custos com este serviço duplicaram, voltando a duplicar nos dez anos seguintes. Em Portugal, o Serviço Nacional de Saúde (SNS) foi criado em 1979 e, as suas modalidades de financiamento e suporte eram os pagamentos diretos, os pré-pagamentos (Seguros de Saúde por exemplo), avenças pagas pelos cidadãos e, por último, pelos impostos. (4) A revolução de 1974 trouxe, para o SNS, os princípios descritos na Constituição que apelavam à proteção, universalidade e gratuidade. (4) As décadas de 80 e 90 foram marcadas por um grande avanço no setor privado da Saúde. (5)

A Saúde é considerada, na maioria dos países Desenvolvidos, uma das principais prioridades, dando origem a vários temas e debates políticos. O acesso aos cuidados de Saúde é, uma preocupação dos políticos, com vista a que todas as pessoas, especialmente os idosos, possam aceder aos cuidados de Saúde sem grandes esforços financeiros. (6) Com o objetivo de atingir esta meta, em 2005, os estados membros da Organização Mundial de Saúde (OMS), comprometeram-se a desenvolver os sistemas de financiamento da Saúde. Os sistemas de financiamento usados dividiam-se em três grupos: através de seguros; através dos impostos; e através de sistemas mistos. (6) (7)

Segundo Araujo *et al.* o envelhecimento de um individuo é uma fase que acarreta um conjunto de condições tais como o desgaste físico e mental, resultando numa maior vulnerabilidade para a instalação de estados de dependência física e alterações motoras a diferentes níveis. (8) O envelhecimento fisiológico diz respeito a uma série de alterações orgânicas e mentais devidas, em exclusivo, aos efeitos da idade avançada sobre o organismo. Isto faz com que se perca o equilíbrio homeostático, principalmente em situações de *stress* físico ou emocional. (1) A

distinção entre envelhecimento fisiológico e patológico é difícil de se estabelecer levando, muitas vezes, a que não se valorizem devidamente as queixas dos idosos. (9)

Reisberg *et al.* elaboraram uma tabela de classificação do declínio cognitivo, que visa facilitar a identificação do estado em que se encontra determinado sujeito (Tabela 1). (10)

Tabela 1. Escala de classificação de declínio cognitivo. Fonte: Reisberg *et al.* (10)

<b>Estado</b>		<b>Fase clínica</b>	<b>Sintomatologia</b>
<b>1</b>	Ausência de declínio cognitivo	Normal	Ausência de queixas mnésicas e outras perturbações objetivas
<b>2</b>	Declínio cognitivo muito ligeiro	Perda da memória	Queixa mnésica centrada nos nomes próprios e locais sem ligação com os testes de memória. O indivíduo continua a estar adaptado socialmente
<b>3</b>	Défice cognitivo ligeiro	Início do estado de confusão	Os défices mnésicos tornam-se objetivos relativamente aos testes de memória. A pessoa começa a estar incapacitada na sua vida diária. O paciente adota uma atitude de negação.
<b>4</b>	Declínio cognitivo médio	Estado de confusão grave	O estado do paciente manifesta-se claramente na consulta clínica. A capacidade de aprendizagem diminui consideravelmente. Ainda assim, reconhece rostos e locais familiares. A negação torna-se permanente.
<b>5</b>	Declínio cognitivo mediamente grave	Início do estado de demência	A pessoa deixa de estar apta a viver sozinha. Não está orientada nem no tempo nem no espaço. Só reconhece o nome das pessoas muito próximas.
<b>6</b>	Declínio cognitivo grave	Estado de demência médio	A perda de autonomia é total. O indivíduo torna-se incontinente de esfíncteres e incapaz de se alimentar sozinho. O reconhecimento de familiares é oscilatório. A personalidade muda, aparecem ilusões, obsessões, ansiedade e alterações de estado

			de humor.
7	Declínio cognitivo muito grave	Estado de demência profunda	Perda da linguagem, das funções e os comportamentos tornam-se incoerentes.

A identificação de variantes genéticas que influenciam as estruturas cerebrais humanas pode revelar novos mecanismos biológicos subjacentes à cognição e às doenças neuropsiquiátricas. O volume do hipocampo é um biomarcador da doença de Alzheimer (DA) e é reduzido na esquizofrenia, depressão e epilepsia do lobo temporal. (11) Nas fases iniciais da DA, (manifestando-se como amnésia) a Ressonância Magnética (RM) de alta resolução pode mostrar a atrofia do hipocampo e do córtex entorrinal e, nos casos negativos, uma RM funcional poderia detetar alterações de fluxo sanguíneo muito antes de tal atrofia se manifestar. (11) (12)

Estudos de imagem que investigam o hipocampo têm utilizado tradicionalmente a segmentação manual para a medição desta estrutura, a qual tem sido o método preferencial, na maior parte dos casos. (13)

A segmentação manual permite uma delimitação precisa das fronteiras do hipocampo mas, para ser precisa, tem de ser realizada por um profissional experiente e conhecedor da anatomia/margens anatómicas da estrutura. É um método propício a erros humanos. A necessidade de uma segmentação automática surge quando há necessidade de estudar um grande volume de dados e a independência subjetiva do operador. (13) (14)

Outros profissionais das áreas médicas também poderiam fazer uso destas ferramentas no diagnóstico de anomalias, bem como no encaminhamento de pacientes para centros especializados. Para além disso, com quantidades maiores de dados a serem processados num menor intervalo de tempo, seria pertinente desenvolver novas pesquisas na área.

O objetivo geral deste estudo foi comparar, em exames de RM, o volume dos hipocampos usando dois métodos de segmentação: um manual e outro automático. Assim, foram usados dois *softwares*: o OsiriX® (*software* manual) e o FreeSurfer® (*software* automático).

Validar a automatização da medida do hipocampo, foi um objetivo específico, para que, no futuro, seja adotada como um método auxiliar de pré-diagnóstico mais rápido e eficaz. Outro objetivo específico deste estudo foi avaliar se existem diferenças no volume dos hipocampos entre o género Masculino e Feminino.

## **CAPÍTULO II – ENVELHECIMENTO CEREBRAL NO IDOSO**

Comparando os cérebros de jovens e idosos, e os cérebros dos mesmos indivíduos, repetidamente à medida que envelhecem, podemos alcançar uma melhor compreensão do fundamento neurobiológico para as alterações cognitivas relacionadas com a idade e como podem levar a problemas na função cognitiva. (15)

Num cérebro com um envelhecimento normal, são visíveis modificações no teor de Ferro, no seu volume, bem como na quantidade de substância branca (SB). Todas estas mudanças são influenciadas por um vasto número de fatores, tais como o estilo de vida, a pressão arterial, diabetes etc.

O envelhecimento causa diferenças na dimensão do cérebro, vascularização e cognição. O cérebro regride com o aumento da idade e há transformações em todos os níveis, desde o nível molecular até à morfologia. (16) A incidência de acidentes vasculares cerebrais (AVC), lesões de substância branca e demências também aumentam com a idade, assim como a perda da memória e mudanças nos níveis de neurotransmissores. Os fatores protetores que reduzem o risco cardiovascular, nomeadamente, o exercício regular, uma dieta saudável e a moderada ingestão de bebidas alcoólicas, parecem ajudar a contrariar o envelhecimento do cérebro, assim como o aumento do esforço cognitivo. Uma vida saudável tanto física como mental pode ser a melhor defesa contra as mudanças num cérebro em envelhecimento. Medidas adicionais para prevenir doenças cardiovasculares também podem ser importantes. (17)

A avaliação neuropsicológica auxilia na compreensão entre o funcionamento cerebral e as funções corticais superiores como a memória, perceção, linguagem e atenção, considerando as variáveis biológicas, psicológicas e socioculturais do indivíduo. (12)

Segundo um relatório da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico (OCDE) de 2018, aproximadamente dezanove milhões de pessoas pertencentes a este grupo de países, vivem com demência. Até ser desenvolvida uma cura para este estado degenerativo, o progresso da doença dificilmente poderá ser reduzido, sendo impossível de o travar. (18) Tal como é possível ver no Gráfico 1., há uma prevalência de 41% de indivíduos com demência, com noventa anos ou mais.

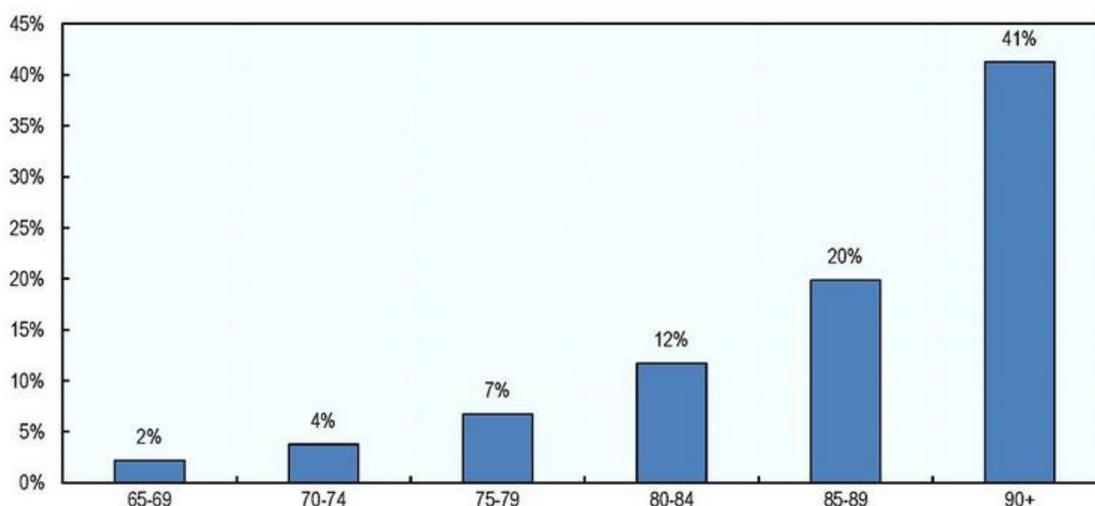


Gráfico 1. Prevalência de demência em todos os países pertencentes à OCDE. Fonte: (18)

A avaliação neuropsicológica no idoso consiste em investigar as relações entre cérebro e comportamento, através de métodos específicos, como as entrevistas, observações, aplicação testes e de escalas neuropsicológicas. Permite identificar alterações cognitivas normais associadas à idade e alterações clinicamente relevantes, identificando quadros demenciais e *deficits* cognitivos. (19)

Devido à diminuição de fibras nervosas da SB e à perda neuronal cortical e subcortical, a dilatação dos ventrículos é observada bilateralmente, sendo simétrica, mas mais evidente no corno anterior dos ventrículos laterais. Observa-se, com o avanço da idade, um aumento do volume de líquido, bem como alterações nas meninges, especialmente na aracnóide. Devido à redução do volume cerebral, o espaço subdural e subaracnoide aumentam. O cerebelo e o tronco cerebral por sua vez sofrem atrofia. (17) (20)

## 2.1 ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS MICROSCÓPICAS DO SNC

Microscopicamente, as alterações fisiológicas do Sistema Nervoso Central (SNC) decorrem da perda normal e gradual das células nervosas e da acumulação gradual de alterações físicas e químicas, resultando em distúrbios da função de sistemas específicos. (20)

Com o avançar da idade, faz-se sentir o aumento do número de radicais livres neurotóxicos, sendo observado, microscopicamente, a hipotrofia neuronal, a degeneração vascular, bem como alterações nos sistemas de neurotransmissores. Todas estas mudanças, apesar de serem comuns com o envelhecimento, tornam todo o SNC mais vulnerável às doenças neurodegenerativas. (17)

A hipotrofia neuronal e a morte celular estão entre as principais causas das alterações do sistema nervoso associados ao envelhecimento, sendo caracterizadas pela perda de substância branca no cérebro. Entre os cinquenta e setenta anos, ocorre uma grande diminuição da síntese de *messenger Ribonucleic Acid* (mRNA), resultando numa diminuição da síntese proteica. Os neurónios do hipocampo sofrem dilatações basais nas dendrites e diminuição da superfície de contacto para as sinapses, comprometendo assim funções como a aprendizagem ou a memória. (3) (20)

Durante o envelhecimento verifica-se uma diminuição na produção, libertação e metabolismo dos neurotransmissores. Estes processos são regulados pelo Cálcio. Num cérebro envelhecido há um aumento significativo de Cálcio intracelular, podendo levar à morte celular. (13)

Os radicais livres são espécies que têm eletrões desemparelhados, reagindo facilmente com outras moléculas. São considerados a maior causa dos processos de envelhecimento e declínio das funções cognitivas. São responsáveis pelo envelhecimento físico e mental. No cérebro, atuam de forma mais intensa, dado que é um órgão rico em ácidos polinsaturados, traduzindo-se em problemas que podem ir desde pequenas perdas de memória até às doenças neurodegenerativas. A ação dos radicais livres pode inibir a produção de neurotransmissores, como a acetilcolina, que está relacionada com a memória, a dopamina, que está relacionada com o equilíbrio e o movimento físico, e a serotonina que regula o apetite e o humor. O processo produzido pela ação dos radicais livres tem sido associado a doenças como o Alzheimer, Parkinson, Esclerose Múltipla e demência. (21) (22)

## **2.2 INSTRUMENTOS DE AVALIAÇÃO DE ESTADOS DE DEMÊNCIA**

Atualmente existem alguns testes que permitem detetar estados de demência precocemente. Consistem em testes, de realização e interpretação simples, e num tempo reduzido, o que os torna mais viável de serem realizados em idosos. Os seus benefícios passam por melhorar as hipóteses de tratamento, diminuir a ansiedade dos pacientes acerca de problemas ou doenças desconhecidas e ainda ajudar na gestão da doença, quer por parte do paciente como dos seus familiares. (23)

O *Mini-Mental State Exam* é um teste de curta duração (demora cerca de 10 minutos a ser concluído) que foi introduzido em 1975 por Marshall Folstein. É considerado o mais vulgar para avaliar estados de memória e outras funções cognitivas, bem como para a deteção da DA. (24)

O *Alzheimer's Disease Scale-Cognitive Subscale* é dos testes mais usados para avaliar o grau de cognição e correlacionar com ensaios clínicos para novos

medicamentos ou tratamentos, por exemplo. Centra-se no estudo da linguagem e da memória, estando dividido em dois grupos: o que avalia as funções cognitivas e o que avalia as funções não cognitivas, como por exemplo, o comportamento. (25)

O *Mini-Cog* é um teste simples e rápido que consiste num exercício de recordação de três itens para memória e no desenho de um relógio com ponteiros. (26)

É importante salientar que os resultados destes testes podem ser influenciados pelo nível de escolaridade e cultura dos pacientes. Por exemplo, um indivíduo analfabeto poderá ter menos pontuação que o normal e não significa que tenha demência. (27)

## **2.2 DESIQUILÍBRIO NA CONCENTRAÇÃO DO IÕES METÁLICOS**

Além da contribuição para a formação de radicais livres, os iões metálicos têm sido associados aos depósitos proteicos característicos de todas as doenças neurodegenerativas, potencializando a formação de placas amiloides. (20) Na DA, a formação de espécies reativas de oxigénio é apontada como consequência da ligação do péptido  $\beta$ -amilóide aos iões de Cobre. Marcadores de *stress* oxidativo como produtos de peroxidação lipídica e bases de *Deoxyribonucleic Acid* (DNA) oxidadas, são detetados em concentrações elevadas em tecidos de pacientes com Alzheimer, Parkinson e Esclerose Lateral Amiotrófica. (20)

## **2.3 MAL FORMAÇÃO PROTEICA**

O cérebro é rico em aminoácidos e iões metálicos, formando cadeias proteicas e enzimas que formam os conjuntos de neurónios. Um desequilíbrio na concentração de iões metálicos e presença de radicais livres, podem levar à alteração dos genes responsáveis pela codificação de determinadas proteínas. Problemas na síntese proteica levam à formação de proteínas com uma estrutura diferente da habitual. Estas proteínas têm sido apontadas como uma das origens das doenças neurodegenerativas. (20)

## CAPÍTULO III – O HIPOCAMPO

### 3.1 ANATOMIA DO CÉREBRO

O cérebro é o principal órgão do SNC, sendo o local onde se integram as funções motoras, sensitivas e associativas do sistema nervoso. Este, pode ser dividido numa porção mediana, o diencefalo e, em duas partes laterais, o telencéfalo (Figura 1.). (28)

O cérebro tem uma forma ovoide, variando ligeiramente de indivíduo para indivíduo. A envolver e proteger o cérebro existem as meninges. A mais superficial é a dura-máter, a mediana é a aracnóide, sendo que a porção mais interna denomina-se de pia-máter. (29) O Líquido cefalorraquidiano (LCR) tem como função proteger o cérebro contra agressões físicas e químicas. O LCR circula nas cavidades presentes no cérebro e entre o espaço existente entre a aracnóideia e a pia-máter. (29)

O cérebro é composto pela SB e pela Substância Cinzenta (SC). Existem inúmeras subdivisões anatómicas para o cérebro. As mais evidentes são os hemisférios cerebrais, as circunvoluções e os sulcos. Além disso, pode-se dividir o cérebro em quatro lobos: occipital, parietal, temporal e frontal. (28) (29)

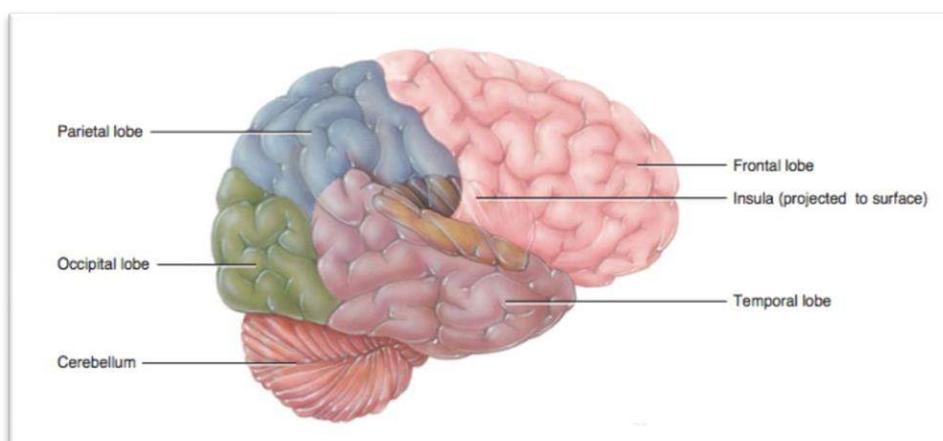


Figura 1. Imagem do cérebro tendo em conta os lobos principais. Fonte: (13)

### 3.2 ANATOMIA DO HIPOCAMPO

O hipocampo é um pequeno órgão que está localizado no lobo temporal medial do cérebro, existindo dois, um do lado esquerdo e outro do direito. (Figura 2.)

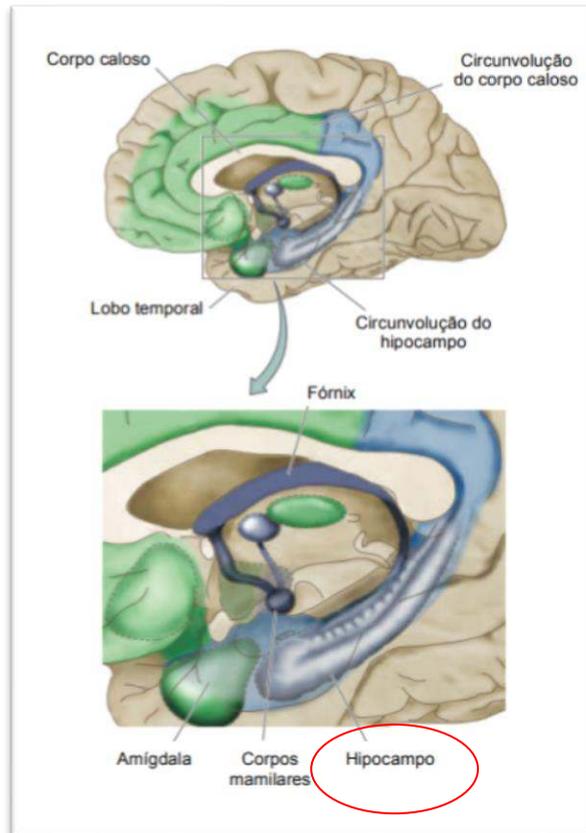


Figura 2. Na imagem superior, o Sistema Límbico representado a verde e azul. Na imagem inferior, apresenta-se circulado a vermelho a indicação da localização do hipocampo. Fonte: (30)

Faz parte do Sistema límbico, a região que regula as emoções. (31) A descrição mais antiga vem do veneziano Júlio César Aranzi (1587), que inicialmente o comparou a um bicho-da-seda e, em seguida, um cavalo-marinho. O alemão anatomista Duvernoy (1729), o primeiro a ilustrar a estrutura, também oscilou entre "*cavalo-marinho*" e "*bicho-da-seda*". (Figura 3.) "*Chifre do carneiro*" era a proposta pelo anatomista dinamarquês Jacob Winslow em 1732 e, uma década depois, o seu colega parisiense, o cirurgião de Garengot, usou *Cornu Ammonis* - *chifre de Amon* (*antigo Deus Egípcio*). Hoje, a estrutura anatómica é chamada hipocampo.

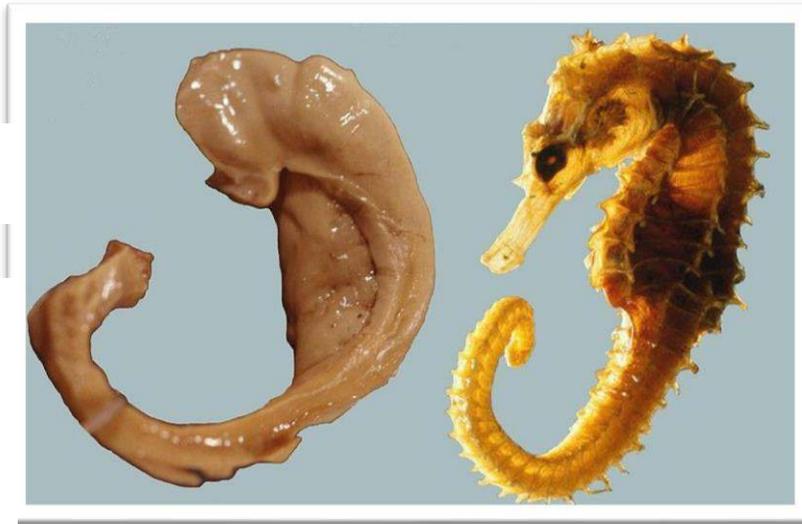


Figura 3. Imagem do hipocampo que se assemelha a um cavalo-marinho. Fonte: (102)

A amígdala, juntamente com o hipocampo, são formados por duas porções maiores: a temporal ou principal, localizada no lobo temporal, e a extra temporal que se localiza no ventrículo lateral. A amígdala temporal, no seu limite dorsal é contígua ao trato ótico e une-se ao globo pálido sem nenhum plano de clivagem. (32) Ventralmente, a amígdala temporal projeta-se no interior do corno temporal em direção a cabeça do hipocampo, com o qual mantém íntima relação. Medialmente, a amígdala temporal relaciona-se com o *úncus*. O processo uncal, extensão anterior da eminência colateral, separa a amígdala da cabeça do hipocampo e com ela forma o limite anterior do corno temporal. (16)

O hipocampo é uma estrutura complexa que ocupa a porção medial do corno temporal, formando um arco ao redor do mesencéfalo. Anatomicamente, pode ser dividido em cabeça, corpo e cauda, sendo cada uma destas regiões divididas em partes intraventricular e extraventricular, conforme descrito por Duvernoy. (32) O hipocampo, é limitado pela *cisterna ambiens*, continuando-se pelo *úncus* medialmente. Inferiormente repousa sobre o giro para-hipocampal e lateralmente relaciona-se com a fissura colateral e com o giro fusiforme. Denomina-se formação hipocampal ao conjunto do *subiculum*, hipocampo (*cornu ammonis*), e giro denteado. O para-hipocampo está sobre as cisternas subaracnóideas da base do encéfalo e sobre o tentório. (33) Na cabeça do hipocampo (parte intraventricular) identificam-se três a quatro digitações sagitalmente orientadas (digitações do hipocampo). Uma digitação vertical que corresponde à superfície medial do *úncus*, nem sempre é identificada. O giro denteado cobre parte destas digitações. Da fímbria do hipocampo origina-se uma estrutura chamada alveus. (16) O processo *uncal* é um prolongamento do corno temporal anterior ao hipocampo que se estende na porção mais profunda do *úncus*. Os núcleos basais e laterais da amígdala estão praticamente unidos com a cabeça do hipocampo. A parte extraventricular é composta pelos segmentos anterior e posterior

do *úncus*. O segmento anterior do *úncus* cobre a amígdala e é formado pelos *giros semilunar* e *ambiens*, os quais são separados entre si pelo sulco *semilunar*. O segmento posterior do *úncus* forma parte do hipocampo e do *subiculum* e tem uma superfície inferior e uma medial. A superfície inferior está na profundidade do *sulco uncal* e pode ser visualizada após ressecção do giro para-hipocampal subjacente.

Ela é dividida em banda de *Giacomini*, digitações externas e superfície inferior do *ápex uncal*. A *banda de Giacomini* é o segmento do giro denteado ao nível da cabeça do hipocampo. As digitações externas são dois ou três pequenos lóbulos anteriores à banda de *Giacomini* que representam “imagens invertidas” das digitações do hipocampo. A superfície inferior do *ápex uncal* é separada da *banda de Giacomini* posteriormente por um pequeno sulco. A superfície medial, por sua vez, é dividida pelo segmento terminal da banda de *Giacomini*, que está localizado no lábio superior do sulco uncal. Fazem parte a superfície medial do *ápex uncal* e o *giro uncinato*, o qual se une com o *giro ambiens* e é anterior à *banda de Giacomini*. (32) No corpo do hipocampo, a parte intraventricular localiza-se no soalho do corno temporal do ventrículo lateral. Ela é delimitada lateralmente pela eminência colateral, que corresponde na base do cérebro ao sulco colateral, e medialmente pela *fímbria*. O corpo do hipocampo é coberto pelo plexo coróide, que está aderente a uma dupla camada de tecido cerebral. A parte extraventricular é formada pelo giro denteado, *fímbria* e sulco hipocampal superficial. (32) Na cauda do hipocampo, a parte intraventricular é delimitada medialmente e lateralmente pela *fímbria* e *trígono colateral*, respetivamente. (34) O plexo coróide é maior ao nível desta região, sendo denominado *glomus*. Posteriormente, o corpo do hipocampo atinge uma protrusão intraventricular chamada *calcar avis*. A parte extraventricular da cauda do hipocampo é dividida em segmentos inicial, médio e terminal. O segmento inicial forma o *margo denticularis*. O *giro dentato* possui várias extensões que penetram profundamente no hipocampo. No segmento médio o *margo denticularis* torna-se estreito e liso, formando a *fascicula cinérea*. Ainda no segmento médio, a *fímbria* ascende para se unir à curva do fórnix e é possível identificar o *giro fasciolar* (coberto pelo *alveus*). (21) (32)

### 3.3 VASCULARIZAÇÃO DO HIPOCAMPO

Durante os últimos anos, duas etapas caracterizaram o estudo dos vasos sanguíneos do hipocampo. Num primeiro passo, os vasos sanguíneos são usados para explicar a vulnerabilidade particular do hipocampo à anóxia. Num segundo passo, o conhecimento da vascularização como um novo progresso na cirurgia do hipocampo.

Tanto os vasos superficiais como os profundos são sucessivamente estudados. (35)

### 3.4 FUNÇÃO DO HIPOCAMPO

O hipocampo é associado principalmente à memória, em particular à memória a longo prazo. O órgão contribui, também, com um papel importante na memória espacial. (16)

Um dano no hipocampo pode conduzir à perda de memória e à dificuldade em estabelecer novas memórias. (36)

As memórias espaciais estão armazenadas no hipocampo direito. É também no hipocampo que as memórias de curto prazo são transformadas em memórias de longo prazo, sendo armazenadas noutra local do cérebro. (37)

Na DA, o hipocampo é uma das primeiras regiões do cérebro a ser afetada, conduzindo à confusão e perda de memória. Estudos feitos em ratos demonstram que os neurónios dos hipocampos enviam potenciais de ação quando o animal passa por uma parte específica do seu ambiente natural. Historicamente, a relação entre o hipocampo e a formação da memória a longo prazo, foram descritas por William Scoville e por Brenda Milner que relataram o que aconteceu a um indivíduo epilético que se submeteu a uma cirurgia no hipocampo. O paciente teve amnesia severa após o procedimento, assim como uma incapacidade de formar memórias novas dos eventos, como por exemplo quando ou onde uma situação ocorreu. As únicas memórias que reteve foram aquelas da infância. (32)

Os investigadores concordam que o hipocampo tem um papel importante na formação de memórias novas, deteção de espaços, ocorrências e estímulos novos. O órgão também está envolvido na memória declarativa. (38)

O neurocientista John O Keefe e o professor Lynn Nadel, psicólogo, estudaram a participação do hipocampo em comportamentos da formação e de aprendizagem da memória nos anos 60 e 70. Juntos, escreveram o livro "*O hipocampo como um mapa cognitivo*", que esboçou o papel deste órgão. (38)

A relação do hipocampo com as depressões e com os episódios de mudança de humor é estudada através da técnica de RM, que demonstra uma pequena redução de volume do hipocampo em doentes deprimidos. (39)

O hipocampo também tem um papel importante na regulação do *stress* através da alta concentração de recetores de esteroides, e da sua projeção com o hipotálamo. (39)

## CAPÍTULO IV – A RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

### 4.1 HISTÓRIA DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

As origens da Ressonância Magnética foram encontradas ao longo de mais de um século, dado que vários cientistas deixaram contribuições importantes. Algumas delas valeram a obtenção de Prêmios Nobel num total de seis, dada a importância das descobertas nesta área. (40)

Jean Baptiste Joseph Fourier desenvolveu a Transformada de Fourier, algoritmo que ainda hoje é usado no processamento de imagem de Ressonância Magnética. (41)

Em 1819, Hans Oersted descobriu que na presença de cargas elétricas em movimento, uma agulha era defletida, ou seja, era produzido um campo magnético por ação das cargas elétricas. Em 1831, Michael Faraday comprovou esta teoria. Faraday demonstrou que os campos magnéticos, ao atravessarem uma bobina, podem induzir corrente elétrica na bobina. (41)

Joseph Larmor demonstrou a equação que traduz a frequência de precessão na qual os núcleos se encontram num estado de energia superior.

A 2ª Guerra Mundial teve um grande impacto no desenvolvimento, não só na indústria, mas também da investigação. Zavoisky descobriu, em 1944, o movimento de spin dos elétrons. Em 1943, Stern recebeu o Prémio Nobel da Física pelas suas contribuições na descoberta do momento magnético do próton.

Nos Estados Unidos da América, em 1946, Felix Bloch e Edward Purcell descreveram o fenómeno físico baseado nas propriedades nucleares de certos elementos. (41) (42) Ambos descobriram que quando uma amostra de uma substância pura era colocada sob efeito de um campo magnético e lhe é transmitida energia através da emissão de Radiofrequência (RF), os seus átomos absorviam a energia que correspondia a esse espectro magnético, emitindo uma resposta semelhante a uma sequência de sinais que os remetia ao seu estado energético inicial. A intensidade do campo magnético condicionava a frequência de Larmor. Nestas experiências, foram medidos os sinais de precessão dos spins de amostras de água e parafina quando sujeitas a um campo magnético. Com este estudo receberam o Prémio Nobel da Física em 1952. (40) (41)

Em 1967, Alexander Ganseen introduziu o conceito de *multi-array*, dado que apresentou um dispositivo que media o sinal de RM do sangue em diferentes localizações do corpo humano, recorrendo a pequenas bobinas conjugadas. (40)

Em 1971, Damadian mediu os tempos de relaxação T1 (relaxação longitudinal) e T2 (relaxação transversal) em tecidos normais e patológicos de órgãos de ratos.

Verificou que o tecido tumoral tinha tempos de relaxação superiores ao tecido normal. (40)

Em 1972 o jornal *The New York Times* publicou a notícia do registo de uma patente da autoria de Damadian que era capaz de detetar, em humanos, essa distinção nos tecidos, pela relaxação dos spins do Potássio e da Água. (41)

Em 1971 Paul Lauterbur e Peter Mansfield descreveram a utilização dos campos de gradiente  $G_x$ ,  $G_y$  e  $G_z$  para a excitação seletiva dos prótons, permitindo a localização espacial do sinal. Com isto, receberam o Prémio Nobel da Fisiologia e Medicina em 2003. (40) Está registada uma patente japonesa cujo autor foi Zenuemon como precursor dos equipamentos aplicando a técnica de RM, em 1973.

Em 1975, Damadian, desenvolve um equipamento designado *FONAR (Field Focused Nuclear Magnetic Resonance)* associado à imagem de um rato obtida por um *scanner* de RM. (43) Ainda em 1975, Richard Ernst escreveu sobre o uso da transformada de Fourier com vista à codificação de fase e frequência para reconstruções de imagens em 2D. Isto valeu-lhe o Prémio Nobel da Química em 1991. (40) (42)

Em 1977, Damadian construiu um *scanner* de RM de corpo inteiro que foi apelidado *The Indomitable* (Figura 4.) e que demorava quatro horas e quarenta e cinco minutos a obter uma imagem. (41) Em 1977, Peter Mansfield e Andrew Maudsley apresentaram a técnica que permitiu obter a imagem de um dedo humano.

O encurtamento do tempo de aquisição deu-se com a técnica de *Ernst*. Nos anos 80 todas as inovações nesta área começaram a ser testadas. A técnica *spin-eco* (SE) e a ponderação T2w foram das que mais se destacaram no período de 1982 a 1983. (40)

Os equipamentos de RM multiplicaram-se e, em 1995, nos Estados Unidos da América, existiam tantos equipamentos (aproximadamente 2000), quantos os estimados para o resto do mundo. (44) Em 1988 a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou a introdução no mercado do contraste paramagnético e começou-se a fabricar equipamentos de ultra alto campo magnético. (41)



Figura 4. *The Indomitable*, o primeiro equipamento de RM. Fonte: (103)

A partir dos anos 80 a Europa desenvolveu grandes contributos nesta modalidade. Jürgen Hennig com A. Nauerth e Hartmut Friedburg introduziram a técnica RARE (*Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement*) conhecida comercialmente como *turbo-spin-eco*. De seguida, surgiram as técnicas FLASH (*Fast-Low-Angle-Shot*), as EPI (*Echo-Planar-Imaging*) propostas por Hennig's e os conceitos de maior rapidez associados ao espaço K propostos por Richard A. Jones. O desenvolvimento de *software* e *hardware* permitiram a introdução de técnicas em paralelo por Sodickson e Manning tais como a aquisição SENSE (*Sensitivity Encoding*) em 1999, e GRAPPA (*Generalized Autocalibrating Partial Parallel Imaging*) em 2000. (44) (40)

Em 1905 Einstein descreveu o princípio físico da difusão. Sessenta anos mais tarde, Stejskal e Tanner desenvolveram o princípio da *Diffusion Weighted imaging* (DWI). A imagem funcional, com recurso às técnicas BOLD (*Blood-Oxygen-Level-Dependent*), foi introduzida por Ogawa em 1990. (44)

A Ressonância Magnética é uma técnica bastante sensível para a visualização da deposição de Ferro, nomeadamente nos gânglios basais. (45) Tal como é visível na Figura 5., um sinal T2 desmineralizado é suspeito de deposição excessiva de Ferro. As hiperintensidades focais ou difusas na SB são achados comuns nos idosos, dado que aumentam com a idade. (15)

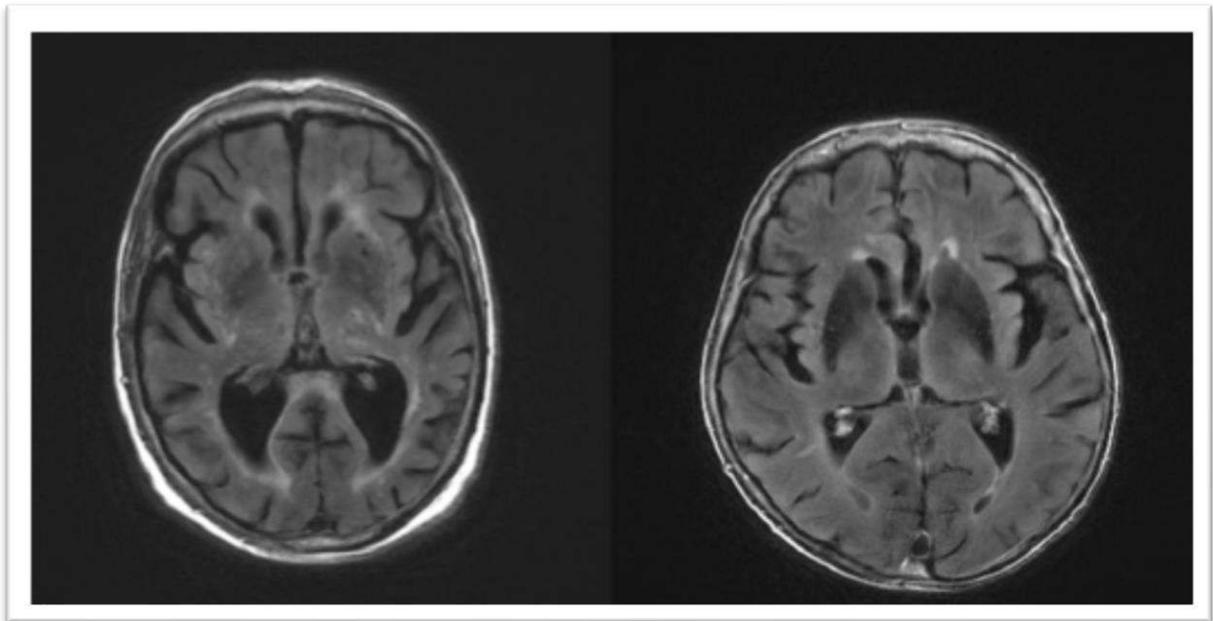


Figura 5. Esquerda: Deposição normal de Ferro numa sequência de RM *FLAIR*. Direita: sequência *FLAIR* num paciente onde o sinal do putâmen é substancialmente reduzido, o que é suspeito de uma alteração degenerativa. Fonte:(46)

#### 4.2 BOBINAS DE RADIOFREQUÊNCIA

Os transdutores de RF são bobinas e fazem parte do *hardware*, sendo formados por fios metálicos condutores de Cobre, de baixa resistência, enrolados sob a forma de espiras que se colocam junto da área anatómica em estudo. Os diferentes tipos de bobinas diferem quanto à função, ao tipo de construção elétrica, ao número de elementos, à forma geométrica e ao tipo de algoritmo de reconstrução que lhes é aplicado. Podem ser consideradas bobinas de polarização linear (Lp), com os *arrays* dispostos de forma planar sequencial ou polarização circular (Cp), como é o caso das bobinas de crânio. (47) (48) (49) A função das bobinas é interagir com os *spins* da amostra através da transferência de uma quantidade de energia suficiente para alterar a frequência de precessão dos *spins*. Com esta função temos as bobinas transmissoras. As que atuam recebendo a energia proveniente do *Free Induction Decay* (FID) produzido pela relaxação dos *spins* designam-se por recetoras. As bobinas que só têm função transmissora (Tx) são designadas por *Transmit-only*. As bobinas de receção são denominadas de Rx correspondendo a *Receive-only*. Há bobinas que assumem as duas funções, designando-se *Transceivers* (Tx-Rx). Nos estudos de áreas anatómicas mais extensas é inviável o uso de outras bobinas exceto as multicanais ou *Phased-Array*. Estas são bobinas com um ou vários conjuntos de bobinas que recebem o sinal de forma independente. (49) O número de canais varia entre quatro e trinta e dois, proporcionando uma melhor Relação Sinal Ruido (SNR). (50)

Para melhorar a resolução espacial dos sistemas foram desenvolvidas técnicas

de imagem em paralelo (*Parallel Imaging*). Aqui, são usados, em simultâneo, vários conjuntos de bobinas. Na reconstrução, existe uma codificação do sinal para cada sensibilidade espacial, permitindo ter informação acerca da posição exata de cada ponto na imagem. (51) (52) Além disso, permite preencher mais rapidamente o espaço K, devido ao sinal ser recebido simultaneamente por vários elementos de uma mesma bobina. Existem algumas estratégias de preenchimento do espaço k associados à imagem em paralelo como amostragens radiais e espirais. O algoritmo *SENSE* permite acelerar o processo de aquisição e reconstrução da imagem, usando o produto do número de elementos com que a imagem é adquirida pelo fator de redução *SENSE* que varia entre 1.5 e 3. (48) (53) (54)

As bobinas para estudo do crânio possuem bandas condutoras e condensadores no meio ou no final de cada banda que funcionam como filtros passa-alto ou passa-baixo. Estas bobinas geram uma distribuição de corrente perpendicular ao Campo B<sub>0</sub>, ou seja, um campo B<sub>1</sub>.

Para avaliar o mapa de distribuição de linhas de campo magnético perpendiculares a B<sub>0</sub> utiliza-se a Lei de *Biot-Savart*. A homogeneidade no interior do campo é dada pelo número de linhas. (50) A função das bobinas de gradiente é criar pequenas distorções lineares em B<sub>0</sub> de modo a poder ser localizado o sinal dos diferentes tecidos. Essas distorções são criadas pelas variações nos planos x, y e z que são necessárias para produzir a imagem as quais são induzidas pela alteração da corrente elétrica que circula nas espiras. (49) (55) Nos equipamentos de RM é necessário avaliar a amplitude dos gradientes, o tempo de subida, a taxa de variação (*slew-rate*), o tempo de operação e a correção das correntes de *Eddy*. (49)

### **4.3 CONTRASTE DE IMAGEM EM RM**

O contraste é a diferença relativa das intensidades do sinal de duas regiões adjacentes de uma imagem. (56)

Devido às propriedades dos tempos de relaxação T<sub>1</sub> e T<sub>2</sub>, é possível a diferenciação entre os vários tecidos do corpo. Um bom contraste entre tecidos depende da seleção das sequências de impulsos mais adequadas. (57) Tendo em conta a metodologia desta dissertação, apenas será tido em conta a sequência SE (Figura 6.).

A sequência SE usa um impulso de 90°, produzindo uma magnetização transversal máxima, seguido de um impulso de 180°, fazendo com que os *spins* voltem a estar em fase, reaparecendo a magnetização transversal (Figura 6.). O tempo que decorre entre um impulso de 90° e o aparecimento do sinal tem a designação de

Tempo de Eco (TE). (57) O tempo que decorre entre os dois impulsos de 90° designa-se por Tempo de Repetição (TR).

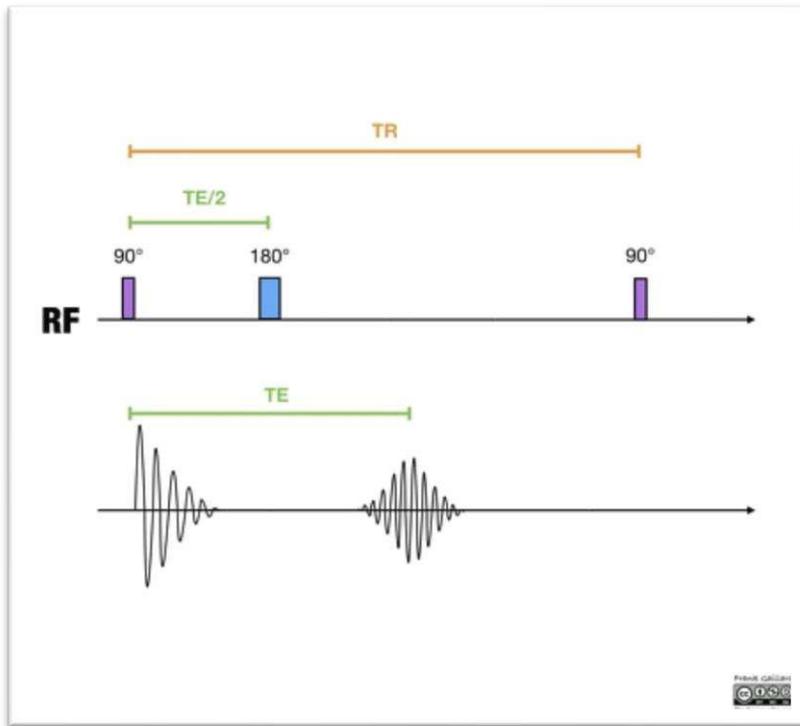


Figura 6. Sequência Spin eco. Fonte: (58)

As variações destes tempos originam imagens ponderadas em T1, T2 e DP (Densidade Protónica), tal como pode ser visto na Figura 7. (59)

Para se obter uma imagem ponderada em T1 utiliza-se TE e TR curtos, em imagens ponderadas em T2, TE e TR longos. Imagens ponderadas em DP obtêm-se a partir de TR longos e TE curtos. (60)

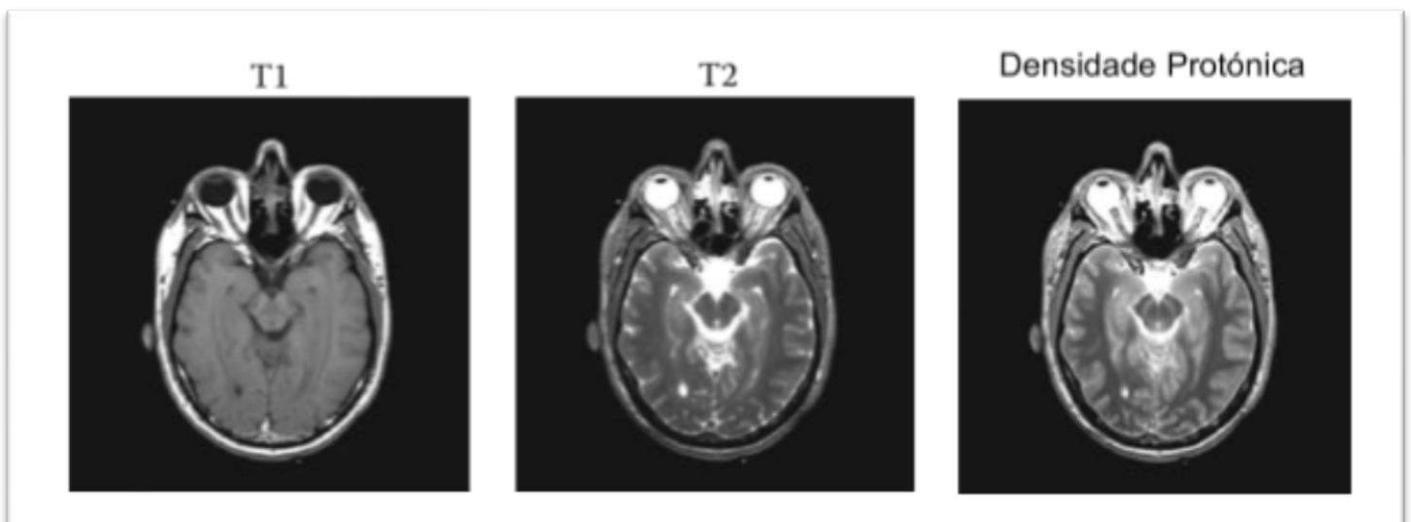


Figura 7. Diferentes mecanismos de contraste foram utilizados para criar imagens de RM

ponderadas em T1 (esquerda), T2 (centro) e Densidade Protónica (direita). Fonte: (13)

#### **4.4 ARTEFACTOS EM RM**

Tal como acontece na Radiologia convencional, na Tomografia Computorizada (TC), e na Ultrassonografia (US), a RM é altamente vulnerável a artefactos que prejudicam a imagem. (61)

As estruturas cerebrais são complexas a nível morfológico e, como tal, um *voxel* pode ter vários tipos de tecido no seu interior. O sinal resultante desse *voxel* corresponde a uma média ponderada da contribuição de cada tecido, podendo dar origem aos artefactos de volume parcial. Estes artefactos podem ser atenuados ao diminuir-se o tamanho do *voxel*, o que faz diminuir a relação sinal-ruído. (13)

No estudo do crânio podem surgir artefactos de *aliasing*, artefactos de movimento do paciente e artefactos de suscetibilidade magnética, no caso de existirem aparelhos ou materiais ortodônticos de natureza ferromagnética na cavidade oral.

O artefacto de *aliasing* ou *wrap around* ocorre quando a imagem da anatomia fora do *FOV* (*Field of View*) selecionado interfere com a área em estudo, projetando-se, tanto no eixo da fase como no da frequência. Este artefacto pode ser solucionado com o aumento do *FOV*. (62)

O artefacto de movimento do paciente, pode ser voluntário ou involuntário, ou ainda por efeito de fluxo dentro de um vaso sanguíneo, traduzindo-se através de uma imagem distorcida da estrutura em movimento. Ocorre apenas no eixo da fase, podendo ser solucionado com uma correta imobilização, instrução, ou mesmo sedação do paciente. (63)

O artefacto de suscetibilidade magnética surge como uma perda de sinal no tecido, decorrente da presença de objetos ferromagnéticos ou metálicos na região em estudo ou próximo da mesma. Ocorre em ambos os eixos de codificação e pode ser solucionado usando sequências spin-eco, ou removendo os materiais dessas regiões. (62)

Uma boa deteção e perceção dos artefactos permite aos médicos Radiologistas e aos Técnicos de Radiologia modificar os protocolos, de modo a otimizar a qualidade da imagem clínica, permitindo uma maior qualidade de diagnóstico. (63)

#### **4.5 EQUIPAMENTOS DE RM**

Os equipamentos com magneto tipo permanente, estão associados a um

campo magnético de intensidade inferior possuem uma abertura não tubular. Esta é uma opção para doentes com claustrofobia, crianças e portadores de próteses fixas, modificando o posicionamento, caso haja necessidade. (Figura 8.) Ao longo dos anos, os *softwares* destes equipamentos têm evoluído, aumentando a sua performance e diminuindo os custos. (64)



Figura 8. Equipamento de RM de campo magnético aberto. Fonte: (58)

Em relação aos equipamentos médicos, a RM é uma das tecnologias de imagem médica que ainda suscita intensa reflexão sob varias perspectivas. (65) A implementação de equipamentos de RM está assente em critérios essencialmente económicos. Em Portugal, dados de 2015 revelam que a maioria dos equipamentos está instalada em instituições privadas (80,2%); a intensidade de campo magnético mais frequente é 1,5T; os equipamentos estão instalados na maioria nos distritos de Lisboa (55) e do Porto (39); o rácio médio de equipamentos por habitante em Portugal é de 1 para 65 195 habitantes; a maioria dos equipamentos foi instalada no intervalo temporal de 2009-2012 com 59 equipamentos; sendo que 6 instituições desenvolvem investigação clínica. A maioria das bobinas para estudos de crânio é do tipo *Phase Array*. (45) Hoje em dia, a nível mundial, o Japão tem o maior número *per capita* de equipamentos de RM, enquanto os EUA lideram a prescrição de exames imagiológicos. (7)

# CAPÍTULO V – AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DO CÉREBRO COM A IDADE

## 5.1 ALTERAÇÕES ANATÓMICAS E MORFOLÓGICAS

O envelhecimento cerebral e a neuro-degeneração associada constituem um grande desafio, não só para a comunidade da neuroimagem, mas também a nível social.

Durante o envelhecimento, os mecanismos envolvidos na plasticidade do SNC são utilizados para suporte da cognição, embora alguns desses processos possam ser afetados. Assim, as funções cognitivas, tais como a memória, aprendizagem e função executiva, que dependem do lobo temporal medial e córtex pré-frontal, são vulneráveis com o passar dos anos. (19) A idade cerebral condiciona um conjunto de alterações tais como a atrofia e alterações na Substância Branca. (66)

Depois dos vinte cinco anos de idade dá-se uma redução do encéfalo de 1.4 a 1.7% por cada década de vida. Estima-se que aos noventa anos, o volume do encéfalo fique reduzido até 200cm<sup>3</sup> e possua um peso 10% menor do que aos trinta anos de idade. O córtex para-hipocampal sofre uma diminuição de volume de 10% entre os quarenta e os oitenta e seis anos. O núcleo lentiforme reduz entre 21.4% e 36.8% entre os trinta e cinco e os sessenta anos de idade. O núcleo caudado reduz cerca de 24.6%, aproximadamente. (20)

Uma compreensão completa dos mecanismos que dão origem à neuro-degeneração ainda são desafios para a comunidade médica e investigadora, aumentando o papel da neuroimagem *in vivo*. Daí ser cada vez mais reconhecido que a compreensão dos processos neurodegenerativos dependerá da informação e do avanço das técnicas de imagem, nomeadamente da RM. (67)

O volume total do hipocampo tem sido fortemente ligado à função cognitiva e ao risco de demência. Contudo, dado ser uma estrutura interna e complexa, o papel das sub-regiões do hipocampo na cognição e no risco de demência permanecem pouco explorados. (66)

Com o avanço da idade, há uma perda significativa de neurónios no hipocampo e no cerebelo. Começa então a surgir dificuldade em reter aprendizagens novas e conectá-las com o tempo. Embora a lembrança do passado esteja mantida, existem perdas referentes a memórias recentes. (19) (Figura 9.)

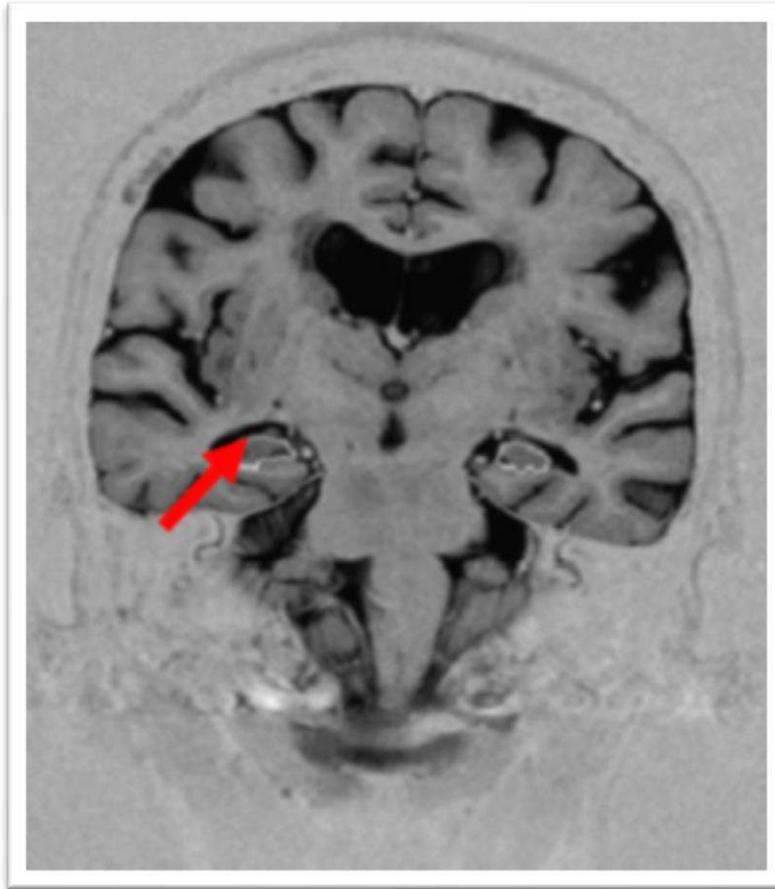


Figura 9. Imagem de RM de um participante com diminuição do volume dos hipocampos. Fonte:(19)

A maioria dos estudos realizados mostram que o hipocampo diminui com a idade. (68) (69) (70) (71) Há evidências de uma redução nos homens, em relação às mulheres, sendo que, na maioria dos estudos, não se encontram diferenças significativas entre os dois gêneros. (70)

Nos últimos anos, técnicas de neuroimagem usando a RM estrutural detetaram alterações relacionadas com a idade. Os resultados indicam atrofia cerebral, atrofia do hipocampo e aumento do LCR nos casos de envelhecimento considerado normal. Estas alterações estão mais presentes no lobo temporal, principalmente nas regiões do hipocampo e giro hipocampal. (22)

Walhovd, Kristine B.Fjell *et al.*, estudaram o efeito da idade usando dezasseis estruturas cerebrais, entre as quais os hipocampos. Verificaram que existem efeitos significativos da idade em todas as estruturas, incluindo os hipocampos, exceto para o quarto ventrículo. (69)

Jernigan Terry *et al.* estudaram, em voluntários com idades entre os 30 e 99 anos, o efeito da idade, por Ressonância Magnética, no volume das estruturas

cerebrais. Segundo este estudo, publicado no jornal *Neurobiology of Ageing*, a idade está relacionada com o volume de substância cinzenta, substância branca, LCR do cérebro e cerebelo e volume dos Hipocampos. Estima-se que, em idades entre 30 e 90 anos, a perda de volume nos Hipocampos seja de 35%. (68)

A idade está associada a mudanças cerebrais macroestruturais. Segundo um estudo realizado por Anders M. Fjell *et al.*, o género (Masculino ou Feminino) não tem influência na perda de volume cerebral em estruturas como o hipocampo, apesar deste diminuir com o avanço da idade. Este estudo incluiu ainda o cérebro de doentes com Alzheimer, onde também concluíram que o género tem efeitos insignificantes no volume cerebral, tanto em pacientes saudáveis como em pacientes com DA. (70)

No entanto, segundo um estudo onde foram avaliados, por RM, 72 indivíduos saudáveis dos 21 aos 70 anos, nem o volume do hipocampo nem da SB se correlacionam significativamente com a idade. Por outro lado, segundo este estudo, os volumes de SC do lobo temporal esquerdo e direito, excluindo os hipocampos, diminuíram com a idade. (72)

Segundo Naftali Raz *et al.*, os hipocampos, o cerebelo e o núcleo caudado diminuem substancialmente de volume com a idade, sendo que a velocidade de diminuição dessas estruturas aumenta também à medida que a idade avança. Não foram observadas diferenças entre o género Masculino e Feminino, exceto para o núcleo caudado. (73)

Um estudo realizado na *University Medical Centre Rotterdam*, publicado em 2018, submeteu a RM, entre 2005 e 2015, 5035 pessoas sem demência e história de AVC, com o objetivo de estudar o papel das sub-regiões do hipocampo no comprometimento cognitivo e risco de demência. Concluíram que naquela população há padrões de associação entre sub-regiões do hipocampo com cognição e risco de demência. (66)

Estudos recentes sugerem que as áreas cerebrais tornam-se menos eficientes com o aumento da idade, resultando em algum grau de desconexão entre as mesmas que, normalmente, funcionam em harmonia nos jovens. (19)

## **5.2 SEGMENTAÇÃO MANUAL E AUTOMÁTICA**

A segmentação de imagens é das etapas mais importantes na análise de imagens médicas, sendo o processo mais crítico para a maioria dos *softwares* de segmentação. Em RM, é usada essencialmente para medir e analisar determinadas estruturas cerebrais, delinear patologias, podendo ainda ter um papel importante no planeamento cirúrgico. (74)

Embora vários métodos de segmentação tenham sido desenvolvidos, a precisão e validação dos métodos automáticos não é um consenso entre a comunidade médica. (75)

Um estudo realizado na *Maastricht University Medical Center* por Ed Gronenschild *et al.*, avaliou os efeitos de variáveis de processamento de dados em exames de RM crânio-encefálica de 30 pacientes, usando o *software* FreeSurfer®, em diferentes versões. Foram encontradas diferenças significativas entre versões distintas deste *software*. Isto diminui a precisão deste *software* automático. (76)

O FreeSurfer® e o FIRST® são dois *softwares* de segmentação automática. Comparando ambos, os mesmos não são equivalentes, sendo que, para a segmentação do *putâmen*, o FIRST apresenta um resultado mais próximo do real. (77)

Uma investigação realizada por Flávio Luiz Seixas *et al.*, analisou três *softwares* de segmentação automática, o FreeSurfer®, o FSL® e o IBASPM®. Obtiveram melhores índices de sobreposição para o FreeSurfer® e o FSL®. Em relação à correlação intra-classe, o FreeSurfer® e o IBASPM® apresentaram melhores resultados. Concluíram que houve discordâncias entre os três *softwares*, indicando a necessidade de mais pesquisas nesta área. (75)

Hassan Khotanlou *et al.*, em 2009 propuseram uma técnica para segmentar os tumores cerebrais, usando imagens de RM em 3D. Inicialmente, o cérebro foi segmentado, usando a abordagem proposta, de seguida as áreas suspeitas foram selecionadas usando a técnica *Fuzzy C Means* para a deteção de tumores. Este método foi aplicado, com sucesso, em cinco imagens de tumores com diferentes tamanhos e localizações. (78)

A evolução das técnicas de Imagiologia digitais e o aumento do número de modalidades e exames realizados constituem um desafio para as estações de trabalho e para os *softwares* das mesmas. Isto faz com que programas de visualização e tratamento de imagens, como por exemplo, o OsiriX®, ganhem cada vez mais importância no dia-a-dia hospitalar. (79)

A segmentação manual continua a ser o método preferido dos clínicos, embora os seus resultados sejam dependentes do operador. O OsiriX® é um *software* que pode ser usado como segmentação manual de uma estrutura. Este *software* pode ser usado em conjunto com a Ultrassonografia para minimizar procedimentos cirúrgicos, nomeadamente para localização e extração de corpos estranhos metálicos. (80)

Laura Wisse *et al.*, estudou e comparou uma técnica de segmentação automática, o *Automated Segmentation of Hippocampal Subfields* (ASHS), e outra manual, na segmentação do hipocampo e do córtex entorrinal, usando um

equipamento de RM de 7 Tesla. (81) Um equipamento de RM de 7 Tesla apresenta, nos dias de hoje um grande desafio, tornando necessário ajustar bastante o protocolo. Foi concluído que o *software* automático apresenta alta viabilidade para medir automaticamente o hipocampo e o córtex entorrinal, apresentando uma alta precisão para a maior parte dos dados. (81) Demonstraram ainda que os erros resultantes do processo de segmentação automática eram comparáveis sendo, em alguns casos, até menores, em relação aos utilizadores que realizaram a segmentação manual. (81)

## CAPÍTULO VI – MÉTODOS DE SEGMENTAÇÃO DE IMAGEM

### 6.1 MÉTODOS DE SEGMENTAÇÃO DE REGIÕES CEREBRAIS

A identificação de anomalias cerebrais através de imagens médicas é uma tarefa crítica, complicada e demorada para qualquer neurorradiologista, pois trata-se de uma estrutura bastante complexa. (82) A RM, em conjunto com a TC, são duas técnicas de imagem que são bastante úteis para o estudo cerebral, dado serem técnicas não-invasivas. (82)

A segmentação de imagens de RM crânio-encefálica continua a ser um tópico de pesquisa com grande interesse no ramo do processamento de imagens médicas. O objetivo da segmentação de imagens é a sua divisão num conjunto de regiões significativas, homogêneas, e que não estejam sobrepostas com aspetos semelhantes, como a intensidade do *pixel*, profundidade, cor ou textura. (74)

Os principais obstáculos para uma correta segmentação de imagem são o ruído, a presença de várias intensidades de píxeis na mesma estrutura e os efeitos de volume parcial. (83)

Muitos trabalhos de pesquisa foram conduzidos para determinar quais os melhores métodos de segmentação, desenvolvendo também técnicas, a partir dos métodos existentes, a serem usadas no futuro. (82) Qualquer sistema de processamento de imagem divide-se em quatro componentes: pré-processamento, extração de características das imagens, segmentação e classificação. (75)

Os métodos de segmentação são classificados em dois grandes grupos. O grupo designado como *single contrast*, que inclui o método *Region Based Segmentation*, *Edge Based Segmentation* e métodos baseados em *Clusters*. O outro grupo é multiespectral, que está dividido em duas subcategorias: métodos supervisionados e não supervisionados. Os métodos supervisionados dividem-se em métodos de reconhecimento de padrões e algébricos. Os métodos de reconhecimento de padrões incluem métodos paramétricos, não-paramétricos e *Artificial Neural Network*. (82)

Um aspeto bastante importante dos métodos volumétricos automatizados é a sua reprodutibilidade e precisão, de forma a garantir resultados consistentes. (75)

O estudo volumétrico do hipocampo é um importante biomarcador para a DA, especialmente para o estudo da progressão da doença. Estudos de RM volumétrica podem indicar perda de pequeno volume daquelas estruturas anatómicas. (75)

Estudos de imagem que investigam o hipocampo têm utilizado tradicionalmente a segmentação manual para a medição desta estrutura, a qual tem sido o método preferencial, na maior parte dos casos. (13) A segmentação manual

refere-se ao processo em que os segmentos e limites da região em estudo são realizados pelo operador que, na maior parte dos casos, corresponde ao médico neurorradiologista. Este processo é feito *slice-by-slice* para cada imagem volumétrica. É consensual que este é o método de segmentação mais preciso. (74)

A segmentação manual permite uma delimitação precisa das fronteiras do hipocampo, mas, para ser precisa, tem de ser realizada por um utilizador experiente e conhecedor da anatomia/margens anatómicas da estrutura. É um método propício a erros humanos. Uma forma de segmentação manual consiste na utilização do *software* OsiriX®, delimitando as margens do hipocampo, permitindo obter posteriormente através do *software*, a área e o volume da estrutura. Outro método de segmentação manual é realizado na workstation, delimitando as margens da região de interesse. O volume obtém-se multiplicando a área pela espessura de cortes. (13)

A necessidade de uma segmentação automática surge quando há necessidade de estudar um grande volume de dados. (13) (14) Comparando com a segmentação manual, é consideravelmente mais rápida e exige menos recursos. (13) O *software* FreeSurfer® é usado como um método de segmentação automática, sendo usado neste estudo. Este *software* foi desenvolvido por membros do *Analysis Group* de Oxford, e, é composto por uma vasta gama de ferramentas que possibilitam o estudo funcional, estrutural e da difusão de dados de RM. (84)

Outros métodos de segmentação automática são o *Region Based Segmentation*, *Edge Based Segmentation*, *Artificial Neural Network*, *Fuzzy C Means (clustering)* e os métodos baseados em *Thresholding*. (85)

O método *Region Based Segmentation* consiste em algoritmos baseados na região de interesse, sendo independentes do ruído da imagem. É realizada uma segmentação de uma imagem em regiões semelhantes, de acordo com um conjunto de critérios predefinidos. Estes algoritmos de segmentação incluem os seguintes métodos: *Region growing*, *Region splitting and merging*, *Watershed segmentation* e *Snakes*. (85)

O método de segmentação *Edge Based Segmentation* segmenta a imagem com base em mudanças de intensidade próximas dos limites da estrutura, resultando numa imagem binária. Existem dois métodos: método baseado em histogramas e em gradientes. É exigido um equilíbrio entre a precisão da deteção e a imunidade ao ruído. Se o grau de precisão for muito elevado, o ruído existente pode induzir limites falsos. Se o grau de imunidade ao ruído for muito elevado, alguns limites da imagem tornam-se indetetáveis. (85)

O método *Artificial Neural Network* é diferente dos algoritmos de segmentação convencionais. Neste, uma imagem é mapeada numa rede neuronal, onde cada

neurónio representa um pixel. Este processo inclui duas etapas: a extração das imagens e a segmentação de imagens. (85)

A técnica de Fuzzy C Means é baseada em clustering, segmentando os dados em dois ou mais clusters. Funciona enviando cada ponto dos dados, correspondente a cada centro do cluster, com base na distância entre o ponto e o cluster. Tem como desvantagens ser sensível ao ruído e requerer um maior tempo de processamento. (86)

A técnica de Threshold converte imagens em escala de cinzentos em imagens binárias. O mérito desta técnica é que diferencia os níveis dos valores da escala de cinzentos. A desvantagem é que podem não ser obtidos resultados precisos da região em estudo. (86)

Apesar de terem sido desenvolvidos alguns algoritmos de segmentação automática, a taxa de precisão dos mesmos ainda não é satisfatória. (78) Uma técnica confiável, objetiva e reprodutível para a segmentação automática do hipocampo, em particular, aumentaria a velocidade de processamento de volumes de determinados casos clínicos, a fim de avaliar o grau de assimetria bioquímica e, assim, estabelecer o grau de atrofia ao longo do tempo. (86)

Com a automatização da segmentação, outros profissionais da área da medicina também poderiam fazer uso destas ferramentas no diagnóstico de anomalias e encaminhamento de pacientes para centros especializados. Para além disso, com quantidades maiores de dados a serem processados num menor intervalo de tempo, é possível desenvolver novas pesquisas na área.

## **6.2 SOFTWARE OsiriX®**

O projeto OsiriX® começou em novembro de 2003, quando Antoine Rosset, um radiologista de Genebra, recebeu uma bolsa do Fundo Nacional Suíço para passar um ano em Los Angeles para estudar, aprender e explorar as imagens médicas. Ao início, o objetivo do projeto era desenvolver um programa que convertesse arquivos *DICOM* de imagens médicas num arquivo de filme do *QuickTime*, para ajudar um amigo radiologista a criar um banco de dados. Em junho de 2004, a primeira versão do *software* foi lançada na *homepage* pessoal de Antoine Rosset. Aí, estava apenas disponível um conjunto de dados básicos, bem como um simples visualizador de imagens médicas, sem funções de pós-processamento ou ferramentas de medição. (87)

Joris Heuberger, professor de matemática e ciências da computação, durante seis meses, em Los Angeles, desenvolveu o projeto. Em junho de 2005, durante a

Worldwide Developer Conference (WWDC) da Apple em São Francisco, a equipa do projeto recebeu dois prestigiosos *Apple Design Awards*. (87)

Em março de 2009, Antoine Rosset e Joris Heuberger criaram a empresa *Pixmeo* para criar e distribuir uma versão certificada do OsiriX®.

Hoje em dia, o OsiriX® tem mais de catorze anos de sucesso, com mais de 400000 usuários, tendo mais de 20000 downloads por mês, sendo usado em mais de 170 países. (87)

### **6.3 SOFTWARE FreeSurfer®**

O FreeSurfer® é um *software* para análise e visualização de neuroimagens estruturais e funcionais. Foi desenvolvido pelo Laboratório de Neuroimagem Computacional do *Martinos Center for Biomedical Imaging*. Fornece um fluxo de processamento para dados estruturais de RM. (88) É um conjunto de algoritmos para análise de dados de neuroimagem que fornece uma série de algoritmos para quantificar as propriedades funcionais e estruturais do cérebro. (89)

No estudo das regiões do córtex, as ferramentas constroem modelos que diferenciam a substância branca da cinzenta. Relativamente à análise das regiões subcorticais existe uma abordagem baseada no volume responsável pelo pré-processamento das imagens em RM, bem como a atribuição de classes a estes tecidos. Esta vertente consiste em cinco passos, segundo está descrito por Fischl, *et al.* (90) (91)

O primeiro passo, consiste num registo de afinidades com o atlas de *Talairach*, concebido de forma a ser insensível às patologias e maximizar a precisão da segmentação. Primeiramente, este atlas é constituído a partir de um conjunto de cérebros que foram classificados manualmente. No segundo passo, atribui-se uma classificação volumétrica, provisória, onde se utiliza um modelo probabilístico que atribui um valor a cada ponto. De seguida, a variação da intensidade é corrigida. No quarto passo, é realizado um alinhamento volumétrico não-linear de elevadas dimensões ao atlas de *Talairach*, de forma a melhorar os resultados anteriores. Na última etapa, o conjunto de dados é novamente segmentado, de acordo com as novas probabilidades de cada classe. Este processo é repetido até a segmentação não apresentar qualquer variação. (89)

## CAPÍTULO VII – METODOLOGIA

Neste estudo, foi levantada a hipótese de verificar se a variabilidade e a especificidade de dois métodos de medição de estruturas intracranianas eram semelhantes. Os dois *softwares* usados foram o OsiriX® versão 8.0.1 e o FreeSurfer® versão 5.0.0.

As imagens foram obtidas e recolhidas num hospital público do distrito de Lisboa. Os exames foram realizados num aparelho de RM [1.5] modelo Intera (Philips *Medical Systems, Best, the Netherlands*), usando uma bobina de quadratura para crânio com condensadores longitudinais. Nenhum destes exames foi realizado em contexto de urgência hospitalar.

Este estudo trata-se de um estudo retrospectivo, dado que o pós-processamento das imagens com o *software* FreeSurfer®, bem como a aquisição das imagens, foi realizado previamente, num estudo anterior. Para delimitar os hipocampos, com o FreeSurfer®, foi usado o atlas de *Talairach*, como descrito no capítulo anterior na secção correspondente a este *software*.

Para este estudo, foram usadas imagens de RM crânio-encefálica, recolhidas e processadas de outro estudo realizado previamente, de 100 indivíduos de ambos os géneros, com idades superiores a sessenta e cinco anos. Nenhum dos pacientes tinha história prévia de AVC ou de outras doenças degenerativas.

No OsiriX®, o pós-processamento das imagens, bem como todas as etapas de segmentação dos hipocampos foram realizadas pelo mesmo utilizador, um médico neurorradiologista, com mais de dez anos de experiência.

É de notar que, no OsiriX®, a delimitação da região do hipocampo (Figura 10.), começou anteriormente onde pode ser diferenciado da amígdala pelo *alveus* incluindo a fímbria, a circunvolução dentada, corno de Ammon e *subiculum*. As segmentações continuaram posteriormente, até aparecer na totalidade o *fórnix*. O bordo médio foi definido como o bordo médio do lobo temporal, na junção com a cisterna *ambiens*. O bordo lateral foi determinado pelo corno temporal do ventrículo lateral e pela ausência da junção entre a substância branca e cinzenta. O bordo inferior foi delimitado pela substância branca e cinzenta do *úncus* do hipocampo. O bordo superior foi delimitado pelo *alveus*. As delimitações foram realizadas em imagens adquiridas em sequência T1 Spin-Eco no plano coronal, dado ser onde é possível visualizar e estudar os hipocampos na sua maior extensão. Foram escolhidas três imagens centrais dos hipocampos para cada paciente, onde foram feitas as delimitações das regiões. Posteriormente, foi calculada, pelo *software*, uma média desses três valores, sendo

depois calculado o volume do mesmo. Esse valor, em  $\text{mm}^3$ , foi usado como referência para o volume do hipocampo desse indivíduo.

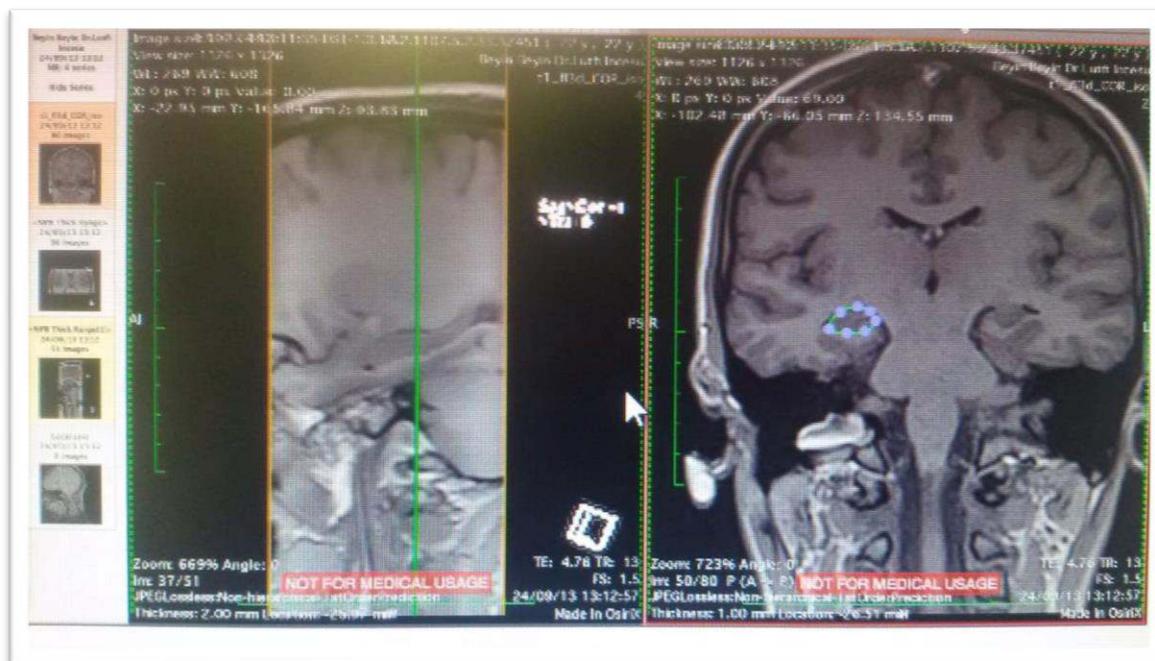


Figura 10. Medição do volume dos Hipocampus usando o *software* OsiriX®. Fonte (autor)

Todos os dados dos pacientes, bem como informação clínica, foram ocultados, sendo denominados como “casos”, seguindo de uma numeração de um a cem. Os dados numéricos obtidos encontram-se no CAPÍTULO XII.

Todos os pacientes preencheram um questionário realizado para todos os exames de RM, a fim de garantir que não tinham nenhuma contraindicação à realização do exame. Assinalaram também, nesse mesmo questionário, que aceitavam que as imagens fossem usadas para estudos científicos.

O protocolo *standard* de RM crânio-encefálica compreende as seguintes sequências: sagital T1, axial T2, axial DP, coronal T2, coronal T1, axial Difusão (DWI), axial *FLAIR* (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) e axial T2\*. A orientação dos cortes foi direcionada ao estudo dos hipocampus, como pode ser visto na Figura 11.

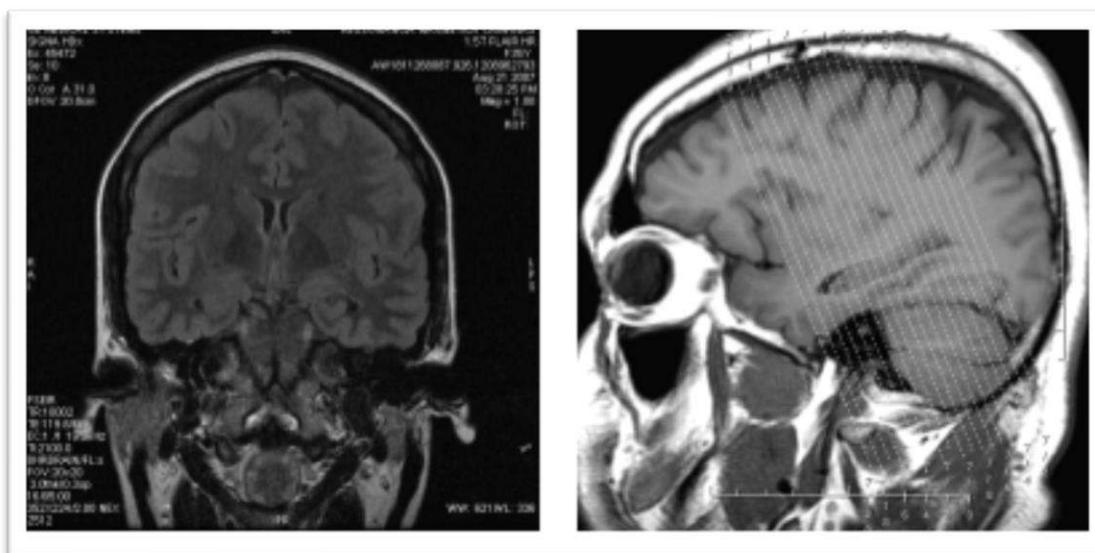


Figura 11. Exemplo de range para obtenção de um corte coronal dirigido ao estudo dos hipocampos. Fonte (autor).

A sequência usada para estudo dos hipocampos foi a *Spin-Eco* ponderada em T1, no plano coronal. Os parâmetros técnicos usados estão demonstrados na Tabela 2. No plano coronal, esta sequência avaliou os hipocampos, permitindo um maior detalhe das suas camadas, identificando os sulcos colaterais, giros parahipocampais e amígdala.

A comparação destes dois *softwares* foi realizada usando métodos estatísticos. Para isso foi usado o programa IBM SPSS® versão 22.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*). Foi considerado que um valor de *p* igual ou menor que 0,05 indicava um resultado estatisticamente significativo.

As variáveis em estudo foram: o volume do hipocampo direito usando o *software* OsiriX®, o volume do hipocampo esquerdo usando o *software* OsiriX®, o volume do hipocampo direito usando o *software* FreeSurfer®, o volume do hipocampo esquerdo usando o *software* FreeSurfer®. Estas variáveis são consideradas independentes e os seus valores foram medidos em mm<sup>3</sup>. Foi ainda usada, como variável nominal, o género do paciente, correspondendo a Feminino ou Masculino.

Tabela 2. Parâmetros técnicos usados na sequência em estudo. Fonte: (autor)

Parâmetros			
Ponderação		Resolução	
TE	25.9	FOV	20
TR	467	ESPESSURA (mm)	3.0
TI		INTERVALO (mm)	0.3
FLIP ANGLE	90	MATRIZ	352X224
ETL	3	FREQUÊNCIA	S/I
BANDWIDTH (Hz)	17.9kHz	NEX	2

## CAPÍTULO VIII – RESULTADOS

As imagens dos cem indivíduos foram analisadas estatisticamente, relacionando o volume em mm<sup>3</sup> de cada hipocampo obtidos em ambos os *softwares* OsiriX® e o FreeSurfer®.

A análise estatística foi realizada usando o programa SPSS® e, começou por se testar se as variáveis cumpriam ou não os critérios de normalidade. A probabilidade de erro considerado em todo o estudo foi de 0,05 ( $\alpha= 5\%$ ).

Como é possível ver no *Gráfico 2*, verificam-se *outliers* em todas as quatro variáveis em estudo. Apesar da amostra ter uma dimensão considerável (N=100), estes *outliers*, para além de não serem simétricos, para o hipocampo esquerdo, usando o *software* OsiriX®, verifica-se um *outlier* severo identificado no diagrama de extremos e quartis abaixo (*Gráfico2*.)

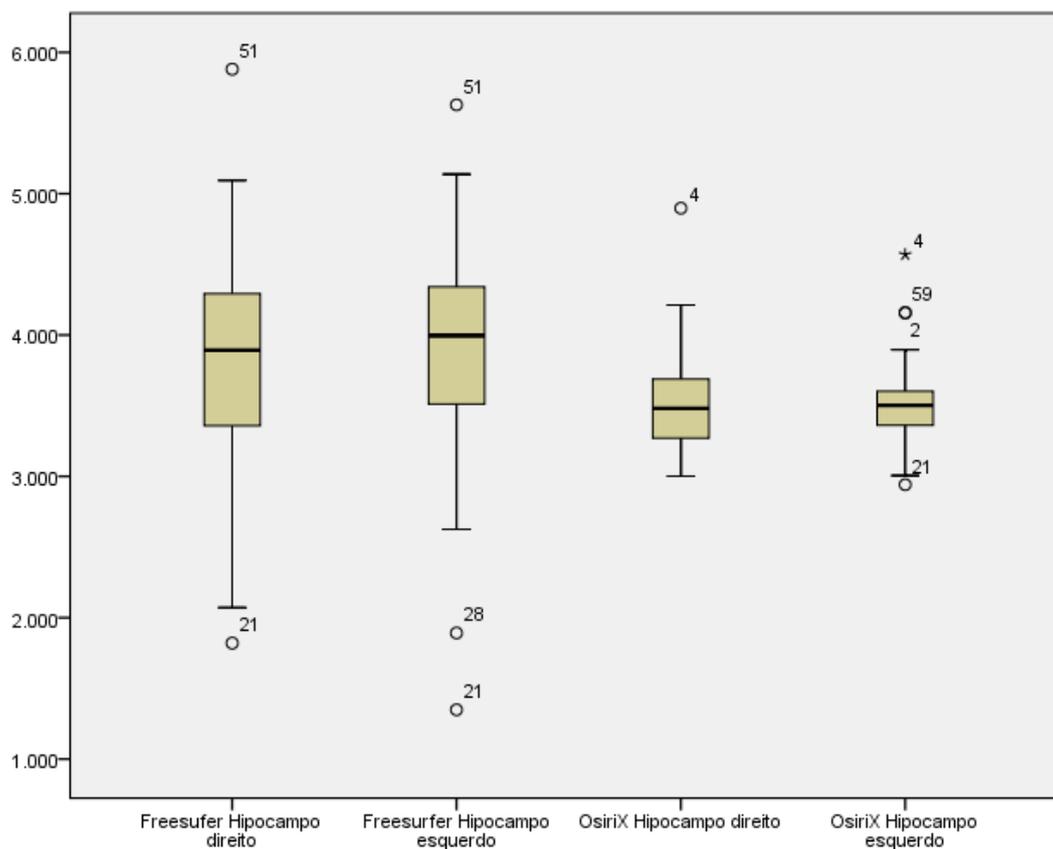


Gráfico 2. Estudo da Normalidade das variáveis. Fonte: (Autor)

Assim, não se pode considerar que esta distribuição cumpra os critérios de normalidade, não sendo considerada uma distribuição normal. Logo, o valor tido em

conta não foi a média, mas sim a mediana do volume de cada hipocampo, usando os dois *softwares* de medição de volume cerebral.

Tabela 3. Valores estatísticos do volume em mm<sup>3</sup> das quatro medições. Fonte: (autor)

	N		Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Percentis		
	Válido	Ausente						25	50	75
FreeSurfer® Hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	100	0	3836,62	3892,55	646,05	1820,10	5880,90	3352,68	3892,55	4308,28
FreeSurfer® Hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )	100	0	3928,72	3995,85	667,11	1348,80	5628,60	3506,73	3995,85	4344,98
OsiriX® Hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	100	0	3503,86	3481,20	301,59	3001,50	4897,40	3264,53	3481,20	3688,83
OsiriX® Hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )	100	0	3502,26	3501,85	238,89	2941,60	4569,10	3361,43	3501,85	3602,63

O valor mais elevado de mediana corresponde à medição efetuada pelo *software* automático FreeSurfer® no hipocampo esquerdo, correspondendo a 3995,850 mm<sup>3</sup>, sendo que, para o hipocampo esquerdo, usando o OsiriX®, obteve-se um valor de 3501,85 mm<sup>3</sup>. O valor mais baixo diz respeito à medição efetuada pelo OsiriX® no hipocampo direito, correspondendo a 3481,20mm<sup>3</sup>. No geral, os valores das medianas, usando o FreeSurfer® são mais elevados do que usando o OsiriX®, para ambos os hipocampos.

Para se poder entender se estas diferenças são significativas do ponto de vista estatístico foi calculado o valor da significância das diferenças, através de teste não paramétricos, entre os valores do hipocampo esquerdo e direito, usando os dois *softwares*.

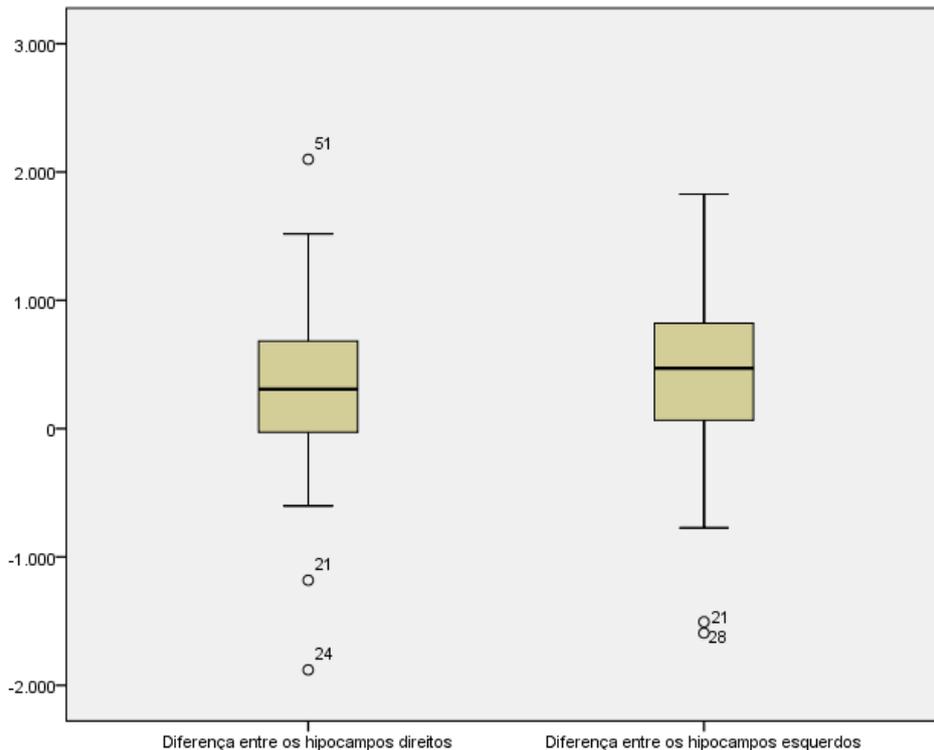


Gráfico 3. Diferença entre os hipocampos direitos e esquerdos com os dois *softwares*. Fonte: (autor)

É possível ler no Gráfico 3. que existem *outliers*, não sendo simétricos. Assim sendo, esta distribuição também não cumpre os critérios de normalidade. Foi usado o teste de Wilcoxon de amostras relacionadas. A mediana foi, também, usada como valor de referência.

Tabela 4. Valores estatísticos da diferença entre os dois hipocampos. Fonte (autor)

	N		Média	Mediana	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Percentis		
	Válido	Ausente						25	50	75
Diferença entre hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	100	0	332,76	308,10	587,68	1880,20	2098,80	30,0250	308,10	682,83
Diferença entre hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )	100	0	426,46	470,35	624,17	1592,80	1827,20	62,5750	470,35	822,53

É possível verificar na Tabela 4. que a mediana da diferença entre o hipocampo esquerdo é superior relativamente ao valor da diferença entre o hipocampo direito, usando ambos os *softwares*, correspondendo a 470,35mm<sup>3</sup> e 308,10mm<sup>3</sup>, respetivamente.

No teste de Wilcoxon, a hipótese nula era assumida se a mediana da diferença entre os valores obtidos, por ambos os *softwares*, para o hipocampo direito (Tabela 5.) (Gráfico 4.) e esquerdo (Tabela 6.) (Gráfico 5.) fosse igual a zero. No entanto, para

ambos os estudos, rejeitou-se a hipótese nula. O nível de significância assumido foi de 0.05.

Tabela 5. Teste de Wilcoxon referente ao hipocampo direito. Fonte (autor)  
**Resumo de Teste de Hipótese**

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	A mediana das diferenças entre Freesurfer Hipocampo direito e OsiriX Hipocampo direito é igual a 0.	Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon de Amostras Relacionadas	,000	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

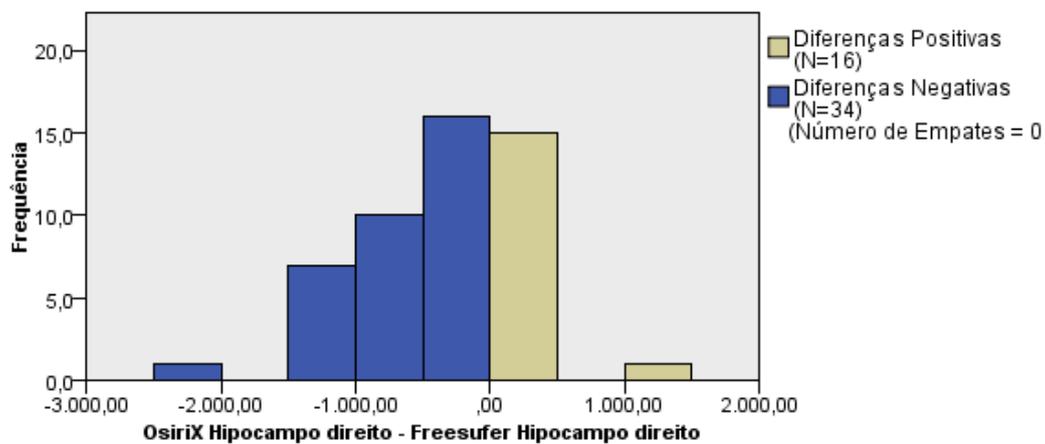


Gráfico 4. Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon referente ao hipocampo direito.

Tabela 6. Teste de Wilcoxon referente ao hipocampo esquerdo. Fonte (autor)  
**Resumo de Teste de Hipótese**

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	A mediana das diferenças entre Freesurfer Hipocampo esquerdo e OsiriX Hipocampo esquerdo é igual a 0.	Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon de Amostras Relacionadas	,000	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

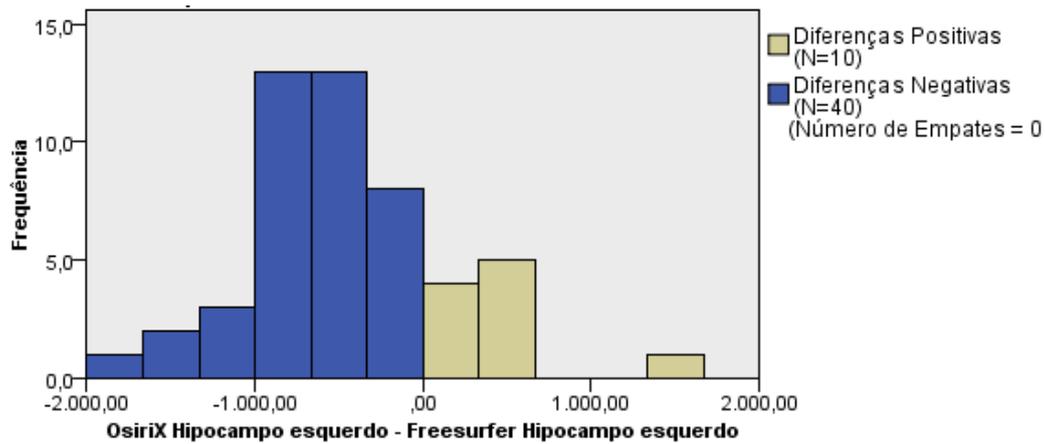


Gráfico 5 Teste dos postos sinalizados de Wilcoxon referente ao hipocampo esquerdo. Fonte (autor)

Para o hipocampo direito com a medição através do *software* automático FreeSurfer®, o valor mínimo foi de 1820,10mm<sup>3</sup> e o valor máximo de 5880,90mm<sup>3</sup>. Para o mesmo hipocampo, medido com o *software* OsiriX®, o valor mínimo foi de 3001,50 mm<sup>3</sup> e o máximo de 4897,40mm<sup>3</sup>. Foram obtidos valores mais elevados com o FreeSurfer®, no entanto, com uma maior amplitude de valores.

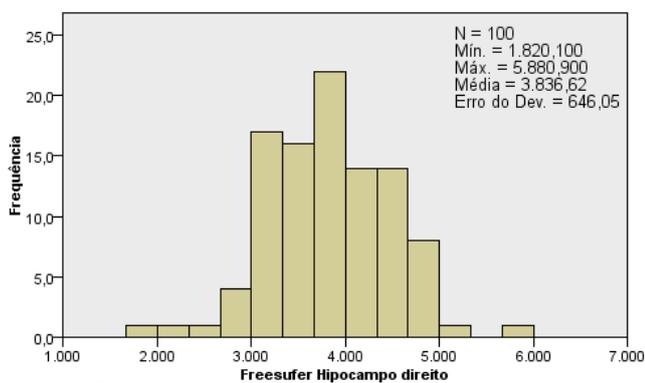


Gráfico 6

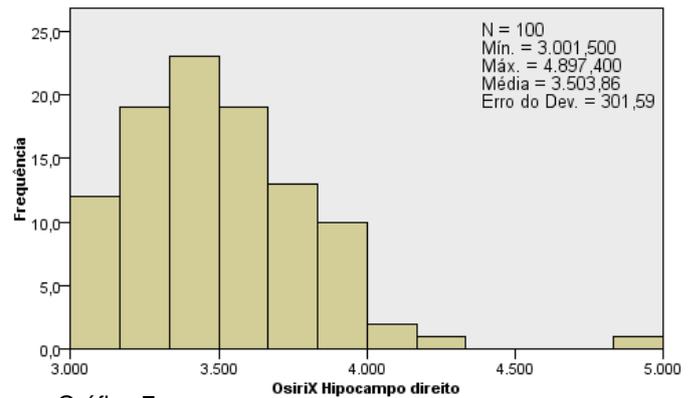


Gráfico 7

Gráficos 6 e 7. Dados estatísticos para o hipocampo direito, usando os dois *softwares*. Fonte (autor)

Para o hipocampo esquerdo, as medições efetuadas com o FreeSurfer®, tiveram um valor mínimo de 1348,80mm<sup>3</sup> e máximo de 5628,60mm<sup>3</sup>. Nas medições efetuadas com o OsiriX®, obtiveram-se valores mínimos de 2941,600mm<sup>3</sup> e máximos de 4569,100mm<sup>3</sup>, para o hipocampo esquerdo. Foram obtidos valores mais elevados usando o FreeSurfer®. Também nesse hipocampo a amplitude de valores usando o FreeSurfer® é superior, relativamente ao OsiriX®, traduzindo-se numa maior dispersão dos valores com o *software* automático.

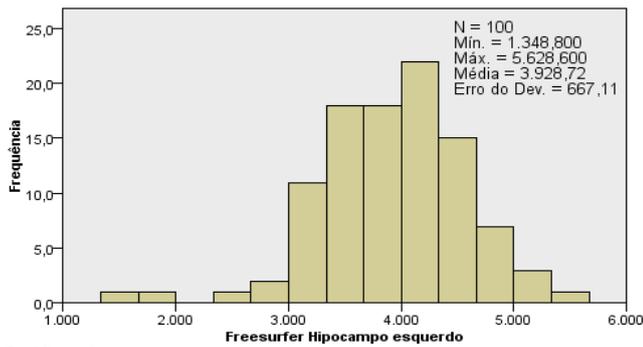


Gráfico 8

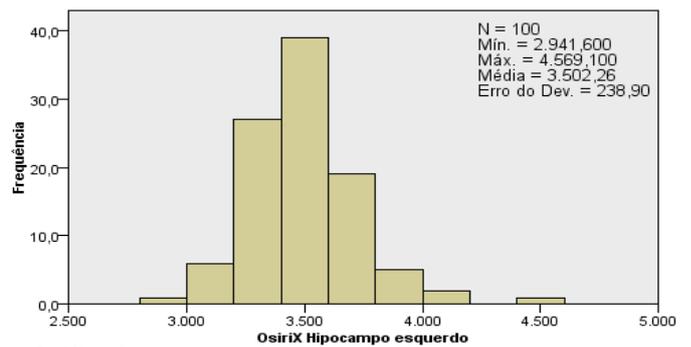


Gráfico 9

Gráficos 8 e 9. Dados estatísticos para o hipocampo esquerdo, usando os dois *softwares*.  
Fonte (autor)

Um outro objetivo deste estudo foi verificar a existência de relação entre o tamanho do hipocampo e o gênero (Feminino ou Masculino), usando os dois *softwares*. Para isso, foi feito um estudo estatístico da normalidade destas variáveis. Como o número da amostra é de 100 indivíduos, foram tidos em conta os valores do teste de normalidade de *Kolmogorov-Smirnov*. Como o valor de significância, numa variável, é inferior a 0,05, (Tabela 7.) podemos dizer que o estudo não cumpre os pressupostos de normalidade, tendo sido usados testes não-paramétricos. É ainda possível verificar *outliers* em todas as variáveis, não sendo estes simétricos entre si. (Gráficos 10, 11, 12 e 13)

Tabela 7. Testes de normalidade para o gênero Masculino e Feminino. Fonte: (autor)

Gênero		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estatística	Df	Sig.	Estatística	df	Sig.
Freesufer Hipocampo direito	Masculino	,117	50	,083	,955	50	,057
	Feminino	,148	50	,008	,949	50	,031
FreeSurfer® Hipocampo esquerdo	Masculino	,079	50	,200*	,946	50	,025
	Feminino	,092	50	,200*	,973	50	,318
OsiriX® Hipocampo direito	Masculino	,105	50	,200*	,910	50	,001
	Feminino	,076	50	,200*	,976	50	,387
OsiriX® Hipocampo esquerdo	Masculino	,112	50	,155	,931	50	,006
	Feminino	,089	50	,200*	,961	50	,094

\*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

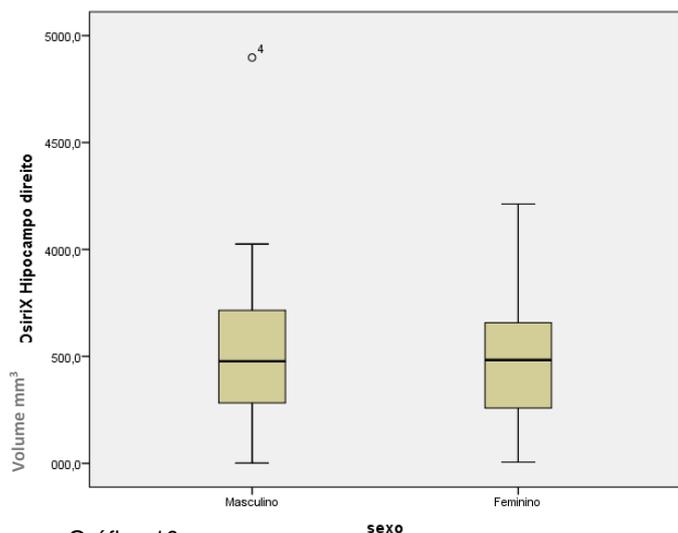


Gráfico 10

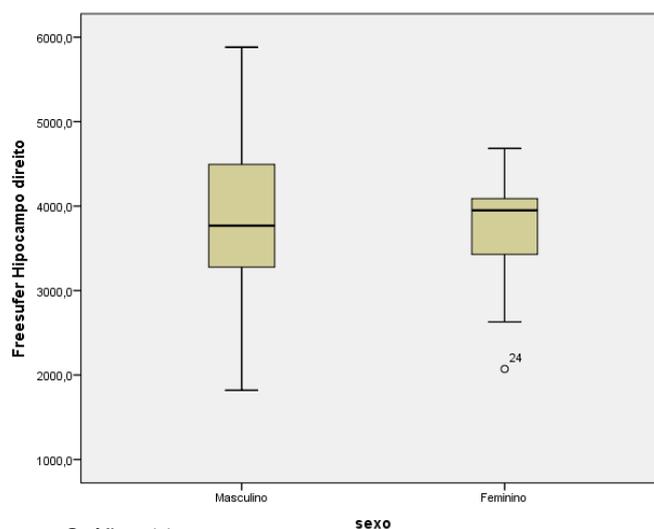


Gráfico 11

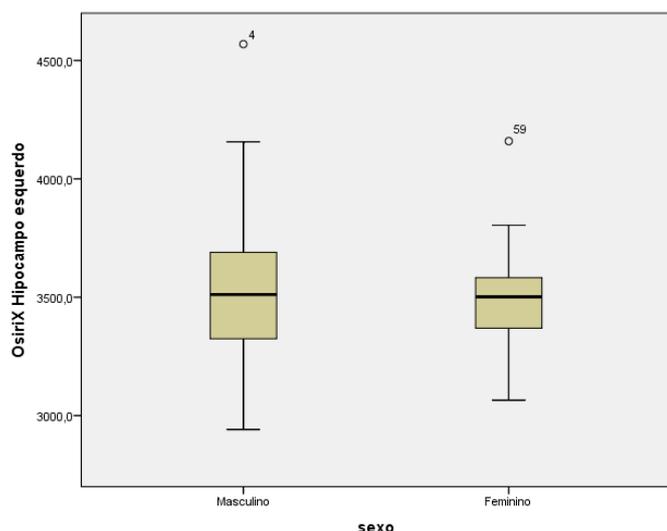


Gráfico 12

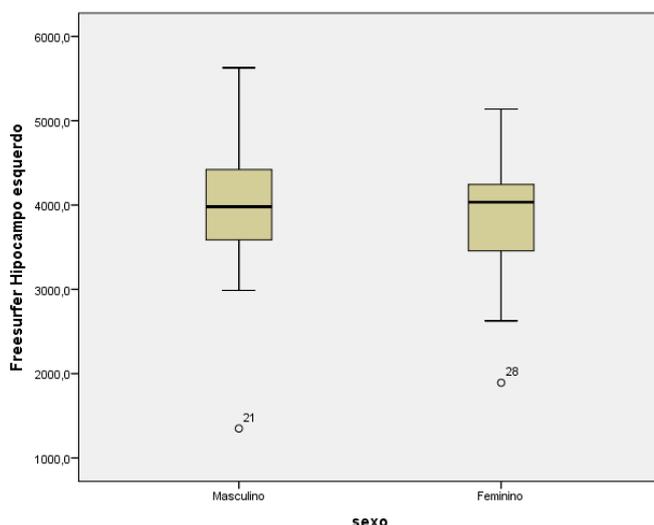


Gráfico 13

Gráficos 10, 11, 12 e 13. Diagramas de extremos e quartis para o estudo de cada hipocampo consoante o género Masculino e Feminino. No eixo das ordenadas é possível ver o volume em mm<sup>3</sup> e no das abcissas o Género (Masculino ou Feminino). Fonte: (autor)

Quanto ao hipocampo direito, para o género Masculino, foram obtidos valores mais elevados usando o *software* FreeSurfer®, comparativamente aos valores obtidos com o OsiriX®. Para o género Feminino, esta tendência mantém-se.

Para o hipocampo esquerdo, para o género Masculino, a mediana dos valores situa-se nos 4000 mm<sup>3</sup> com o FreeSurfer® e nos 3500 mm<sup>3</sup> com o OsiriX®. Para o género Feminino, verificam-se valores mais elevados usando o *software* automático FreeSurfer®.

## CAPÍTULO IX – DISCUSSÃO

Na nossa sociedade, predominam os termos referentes à perda de memória associada à idade. Estes termos incluem esquecimento, transtorno de memória e demência incipiente, os quais têm vindo a ser substituídos por declínio cognitivo ligeiro. (92)

A demência é considerada uma síndrome que tem desenvolvimento progressivo. Caracteriza-se como um estado que envolve inúmeras alterações cognitivas, suficientes para interferir nas atividades do dia-a-dia do sujeito. O sintoma mais frequente é a alteração do estado de memória, podendo também afetar o domínio da linguagem, práxis e percepção visual. (92) (93)

Para estudar as regiões cerebrais, e as suas possíveis alterações é imprescindível recorrer à anatomia imagiológica, onde se interseja a morfologia, estrutura e função de uma região. Para se poder chegar a uma fase considerada de risco cognitivo, é imprescindível o estudo cerebral pela técnica de RM. (93)

A delimitação de estruturas cerebrais baseadas em imagens por RM é uma técnica que desempenha um papel cada vez mais importante na área da neurociência. (77) Estudos de técnicas de segmentação baseadas em imagens por RM apresentam alterações volumétricas, estando relacionadas com diversos tipos de fatores como os demográficos, comportamentais, nutricionais, funcionais, biológicos, bem como a presença de várias condições neurológicas e psiquiátricas. (77)

O hipocampo e as estruturas adjacentes são cruciais para a memória. Ball *et al*, afirmaram que a DA é uma “demência hipocampal”, havendo perda de células nervosas em ambos os hipocampos, enquanto outras regiões não eram afetadas.(94)

O volume hipocampal pode ser avaliado de diversas formas, com diferenças no tempo de processamento. Estes métodos incluem a avaliação visual, medições lineares, medições usando *softwares* automáticos e, medições usando *softwares* manuais. (95)

Tradicionalmente, a zona hipocampal é segmentada manualmente, sendo esta técnica considerada a *Gold-standard*. No entanto, este método é subjetivo, extremamente demorado e requer recursos humanos, o que torna esta técnica inviável para o processamento de um grande volume de imagens e dados. (77) Para superar estas limitações, vários *softwares* de segmentação automática têm sido desenvolvidos. Estes *softwares* são constantemente desenvolvidos e atualizados, para colmatar as suas limitações. São baseados em atlas virtuais os quais têm vindo a ser aperfeiçoados minimizando a margem de erro associada à medida.

Após tratamento estatístico dos dados, como se pode ver no Gráfico 1., são visíveis vários *outliers*, um deles mesmo severo. Isto pode estar relacionado com a escolha da amostra. Foi uma amostra constituída por cem indivíduos, com mais de sessenta e cinco anos, de ambos os géneros. Nestes indivíduos, embora não houvesse conhecimento de qualquer comprometimento neurológico, poderão alguns possuí-lo, o que poderá ter-se refletido no volume dos hipocampos.

A Tabela 8. demonstra os valores médios obtidos, por vários autores para o hipocampo esquerdo e direito. Como é possível ver, os valores diferem um pouco sendo o mais baixo de 2500mm<sup>3</sup> e o mais alto de 5265mm<sup>3</sup>. Estas diferenças estarão relacionadas com diferenças no tipo de amostra ou estudo. Para ambos os *softwares*, os valores obtidos neste estudo vão de acordo com os que estão descritos na literatura.

Tabela 8. Volumes dos hipocampos obtidos por vários autores. Fonte: Adaptado de (96)

Autores	Hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	Hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )
<b>Jack Jr. et al.</b>	2800	2500
<b>Ashtari et al.</b>	2598	2727
<b>Watson et al.</b>	5265	4903
<b>Cook et al.</b>	3185	3229
<b>Cendes et al.</b>	4711	4591
<b>Bhatia et al.</b>	3770	3780
<b>Marchetti et al.</b>	3692	3636

De acordo com alguns estudos, o volume do hipocampo diminui com a idade, com o aparecimento de doenças neurológicas, podendo também haver alteração consoante o género. (20) (68) (69) (71) (97) (98) Neste estudo, não houve estratificação por faixas etárias, foi apenas considerada a idade superior a sessenta e cinco anos. Não houve também distinção entre os dois géneros, nem tidos em conta fatores demográficos ou comportamentais. Estes fatores, juntamente com a possibilidade de alguns indivíduos possuírem algum declínio cognitivo, sem que houvesse conhecimento prévio, poderá ter contribuído com a existência de *outliers* verificados na distribuição das observações.

No entanto, a maioria destes estudos apresentam *outliers*, como por exemplo o estudo realizado por Christopher S. McCarthy *et al.*, onde foram realizadas e, posteriormente comparadas, várias medições de regiões cerebrais, usando o *software* FreeSurfer®, com e sem intervenção manual nessas medições. (99)

Freng, Yang *et al.*, também encontraram valores significativamente diferentes para o hipocampo esquerdo e direito do mesmo indivíduo, bem como entre os géneros (P<0,05). (98)

Segundo um estudo realizado por Zhong *et al.*, que teve como objetivo medir o volume hipocampal de adultos chineses considerados saudáveis, concluiu que a diminuição do volume hipocampal relaciona-se com a faixa etária da população, havendo diferenças no volume hipocampal entre o género Masculino e Feminino. Foram também encontradas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os hipocampus direitos e esquerdos. Houve diferenças significativas entre as variáveis, tal como no presente estudo. (100)

Ao contrário dos estudos realizados por Gabor Perlaki *et al.*, e Ed H.B.M. Gronenschild *et al.*, em que as amostras correspondiam a 20 e 30 indivíduos, respetivamente, neste estudo, a amostra é considerada de elevada dimensão (N=100), de modo a diminuir o erro amostral. (77)

A versão do FreeSurfer® usada neste estudo foi a 5.0.0 e, segundo um estudo realizado por Ed Gronenschild *et al.*, foram encontradas significativas diferenças entre esta versão do *software* e as anteriores, o que significa que é necessária uma avaliação mais pormenorizada da precisão da versão deste *software* automático. (76)

Como pode ser visto nos Gráficos 6, 7, 8 e 9., foram obtidos valores mais elevados usando o FreeSurfer®, relativamente ao *software* manual OsiriX®. Estes resultados vão de acordo com o estudo realizado por Bruce Fischl *et al.*, como pode ser visto no Gráfico 14. (90)

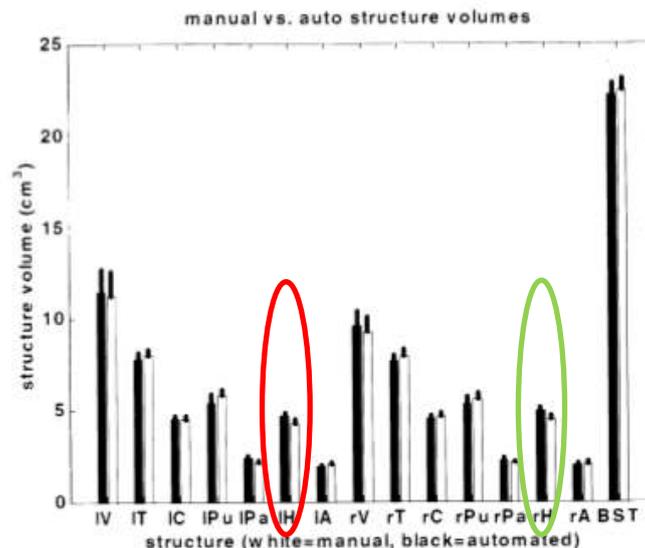


Gráfico 14. Comparação de volume cerebral entre um *software* automático e outro manual. A vermelho encontram-se os dados referentes ao hipocampo esquerdo e, a verde, os dados referentes ao hipocampo direito. Fonte: Adaptado de (90)

Frederick Klauschen *et al*, avaliaram e compararam três *softwares* de segmentação automática, sendo um deles o FreeSurfer®. Os valores obtidos foram diferentes, em cada *software*, para a mesma estrutura cerebral, sendo que o FreeSurfer® apresentava a sua maior sensibilidade para a medição da substância cinzenta. Concluíram que, havendo discrepâncias de cerca de 24% para o valor real, o a interpretação dos valores disponibilizados pelo uso destes *softwares* automáticos devia ser devidamente ponderada. (101)

Num equipamento de RM de 7 Tesla, foi observado, por Laura E.M. Wisse *et al*, que o *software* automático apresenta uma alta viabilidade em relação ao *software* manual. Foram observados resultados com elevada precisão para o *software* automático, o que torna recomendável o seu uso. (81) Estes resultados poderão estar relacionados com o facto de terem sido realizados num equipamento de 7 Tesla, dado que a maior parte dos estudos foram realizados em equipamentos de 1.5 Tesla e 3 Tesla. A vantagem deste equipamento de 7 Tesla é que permite imagens em 3D em alta resolução, num tempo relativamente curto, permitindo a visualização da anatomia em maior detalhe e, assim, possibilitar o aumento da precisão da segmentação.

Tal como pode ser visto nas tabelas e gráficos do CAPÍTULO VII, foram encontradas diferenças significativas em praticamente todas as medições. Estes resultados e, dado que a literatura aponta nesse sentido, poderão ser causados pela baixa precisão do *software* FreeSurfer®. Ainda que o *software* OsiriX® dependa da formação e prática do utilizador, neste estudo, foi realizado por um especialista com mais de dez anos de experiência na área.

Ainda que os resultados deste estudo possam ter sido influenciados por diversas variáveis não possíveis de controlar, vão de acordo com a literatura revista. Os *softwares* automáticos, embora permitam processar um volume muito maior de dados num menor espaço de tempo, emitem resultados pouco precisos e são pouco específicos em determinadas versões, comparando com os *softwares* manuais. Na opinião dos clínicos, é preferível o uso de *softwares* manuais ou semi-automáticos para determinação de áreas/volumes cerebrais, do que *softwares* automáticos, sendo estes últimos mais sensíveis a erros que poderão ter consequências no diagnóstico / tratamento de patologias cerebrais relacionadas com o aumento ou diminuição do volume dos hipocampos.

Alguns métodos de segmentação, principalmente automáticos, foram desenvolvidos para segmentar imagens cerebrais de RM. Ainda assim, a sua utilização continua a ser uma tarefa desafiadora, dado que um método pode ser aplicável a uma imagem de RM, mas pode já não ser aplicável para outras imagens do

mesmo tipo. Assim, não é linear conseguir aplicar um método genérico de segmentação que possa ser usado para todas as imagens e estruturas cerebrais.

Este estudo teve como principal limitação o facto de as medições nos hipocampos com o *software* manual terem sido feitas por um único observador, o que tornou impossível estudar o nível de concordância entre observadores. Os pacientes tinham todos mais de sessenta e cinco anos de idade e não havia conhecimento de nenhuma doença neurodegenerativa que pudesse comprometer ou influenciar o estudo. No entanto, havia sempre a possibilidade de o paciente não ter conhecimento de tais alterações. Esta limitação poderá também ter influenciado a existência de *outliers*.

## **CAPÍTULO X – CONCLUSÕES**

Os resultados obtidos mostram uma reduzida especificidade do FreeSurfer®, tal como é descrito na literatura. Os métodos de segmentação manual continuam a ser os mais fiáveis e preferidos pelos clínicos dando-lhes mais segurança nas decisões.

Hoje em dia, as pesquisas concentram-se, não só no desenvolvimento de métodos de segmentação mais precisos e confiáveis, mas também na melhoria da velocidade computacional destes métodos. A rapidez e eficiência computacional será bastante importante no processamento e segmentação de imagens em tempo real, podendo ter um importante uso em determinadas cirurgias.

É inegável que os métodos de segmentação automática mostraram os seus potenciais benefícios e aplicabilidade no processo de segmentação de imagens. É esperado que, no futuro, estes se tornem ferramentas essenciais em certas situações clínicas, tais como o diagnóstico precoce de doenças neurodegenerativas.

## CAPÍTULO XI – BIBLIOGRAFIA

1. Cai L, Chan JSY, Yan JH, Peng K. Brain plasticity and motor practice in cognitive aging. *Front Aging Neurosci* [Internet]. 2014;6:31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24653695>
2. INE. Portal do Instituto Nacional de Estatísticas [Internet]. Estatísticas das receitas fiscais 1995-2015. 2016 [cited 2017 Aug 18]. p. 19. Available from: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_indicadores&indOcorrCod=0007255&contexto=bd&selTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0007255&contexto=bd&selTab=tab2)
3. Neves P. Caracterização cognitiva e funcional de idosos com idades entre os 65 e os 75 anos inscritos numa unidade saúde familiar. 2012;1–148.
4. Fundação Callouste Gulbenkian. *Sistemas de Saúde e seu funcionamento*. Lisboa; 1898.
5. Barros PP. Seguro no sector da saúde. *Econ da Saúde Conceitos e Comport* - 2ª ed. 2012;151–208.
6. Da F, Em S. Financiamento da saúde em portugal. *Economia*.
7. Margarida M, Carmo DO, Ribeiro P. OTIMIZAÇÃO DA ANISOTROPIA FRONTO-CALOSA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA [ 1 , 5T ] NO IDOSO NORMAL E COM RISCO CÉREBRO-VASCULAR. 2015.
8. Araújo F, Oliveira A, Pinto C, Ribeiro J. Validação do Índice de Barthel numa amostra de idosos não institucionalizados. *Rev Port Saúde Pública*. 2007;25(2):59–66.
9. Santos FH dos, Andrade VM, Bueno OFA. Envelhecimento: um processo multifatorial. *Psicol em Estud* [Internet]. 2009 Mar;14(1):3–10. Available from: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-73722009000100002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-73722009000100002&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)
10. Reisberg B, Ferris SH, De Leon MJ, Crook T. The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry*. 1982;139(9):1136–9.
11. Jr CRJ, Barkhof F, Bernstein MA, Cantillon M, Patricia E, Decarli C, et al. NIH Public Access for Alzheimer ' s disease. 2012;7(4):474–85.
12. Damasceno BP. Envelhecimento cerebral: O problema dos limites entre o normal e o patológico. *Arq Neuropsiquiatr*. 1999;57(1):78–83.
13. Arruda AIL. Automatização da medição do volume do hipocampo em doentes de Alzheimer. 2012;d. Available from: <http://run.unl.pt/handle/10362/9313>

14. Cong S, Rizkalla M, Du EY, West J, Risacher S, Saykin A, et al. Building a Surface Atlas of Hippocampal Subfields from MRI Scans using FreeSurfer, FIRST and SPHARM. Conf Proc (Midwest Symp Circuits Syst) [Internet]. 2014 Aug;2014:813–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25477768>
15. A.M. F. Structural brain changes in aging: Courses, causes and cognitive consequences. Rev Neurosci [Internet]. 2010;21(3):187–221. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed9&NEWS=N&AN=2010458774>
16. Good M. Spatial Memory and Hippocampal Function : Where are we now ? *Psicologica*. 2002;23:109–38.
17. Esiri MM. Ageing and the brain. *J Pathol*. 2007;211(2):181–7.
18. OCDE. Care Needed; IMPROVING THE LIVES PEOPLE WITH DEMENTIA [Internet]. [cited 2018 Jul 29]. Available from: [https://read.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/care-needed\\_9789264085107-en#page17](https://read.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/care-needed_9789264085107-en#page17)
19. FAN RG. Volumetria Do Hipocampo Por Ressonância Magnética Em Idosos E Sua Relação Com Funcionamento Cognitivo E Comportamental. 2014;133.
20. Envelhecimento E Neurodegeneração – Uma Visão Bioquímica. In.
21. Olivier A. Amygdalohippocampectomy in Temporal Lobe Epilepsy. *Can J Neurol Sci*. 2000;27(May):S68–76.
22. Walhovd KB, Westlye LT, Amlien I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, et al. Consistent neuroanatomical age-related volume differences across multiple samples. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2018 May 29];32(5):916–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19570593>
23. Cognitive Assessment | Alzheimer’s Association [Internet]. [cited 2019 Jul 23]. Available from: <https://www.alz.org/professionals/healthcare-professionals/cognitive-assessment>
24. Andrew Rosenzweig M. Overview of the Mini-Mental State Exam for Alzheimer’s [Internet]. 2019 [cited 2019 Jul 23]. Available from: <https://www.verywellhealth.com/mini-mental-state-exam-as-an-alzheimers-screening-test-98623>
25. Verma N, Beretvas SN, Pascual B, Masdeu JC, Markey MK. New scoring methodology improves the sensitivity of the Alzheimer’s Disease Assessment Scale-Cognitive subscale (ADAS-Cog) in clinical trials. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 2015 Dec 12 [cited 2019 Jul 23];7(1):64. Available from: <http://alzres.com/content/7/1/64>
26. Susanne Mitschke. Alzheimer’s; Dementia Test Guide [Internet]. [cited 2019 Jul 23].

Available from: <https://www.mindmate-app.com/blog/your-ultimate-alzheimers-dementia-test-guide>

27. Tests for diagnosing dementia - NHS [Internet]. [cited 2019 Jul 23]. Available from: <https://www.nhs.uk/conditions/dementia/diagnosis-tests/#mental-ability-tests-to-diagnose-dementia>
28. Rod R. Seeley PT e TDS. Anatomia & Fisiologia. 8ª. 2011.
29. Pina JAE. Anatomia Humana da Relação. Lidel, editor. 2002. 596 p.
30. Gerard J. Tortora BHD. Principles of Anatomy and Physiology. 14th ed. 1232 p.
31. Amaral DG, Lavenex P. The Hippocampus Book [Internet]. Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'Keefe J, editors. Oxford University Press. Oxford University Press; 2006. 37-114 p. Available from: <http://www.caam.rice.edu/~cox/wrap/hippocampus.pdf>
32. Kucukyuruk B, Richardson RM, Wen HT, Fernandez-Miranda JC, Rhoton AL. Microsurgical Anatomy of the Temporal Lobe and Its Implications on Temporal Lobe Epilepsy Surgery. Epilepsy Res Treat [Internet]. 2012;2012:1–17. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ert/2012/769825/>
33. Vinet L, Zhedanov A. ATLAS OF MORPHOLOGY AND FUNCTIONAL ANATOMY OF THE BRAIN. Nov;58(12):7250–7. Available from: <http://www.ajnr.org/cgi/doi/10.3174/ajnr.A0616>
34. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Hall WC, Lamantia A-S, Mcnamara JO, et al. Neuroscience. Vol. 3, Sunderland. 2004. 773 p.
35. Duvernoy H. The Human Hippocampus. Vol. third edit, Springer. 2005. 1-232 p.
36. Hippocampus Function, Anatomy & Definition | Body Maps [Internet]. [cited 2018 Jul 22]. Available from: <https://www.healthline.com/human-body-maps/hippocampus#2>
37. Danielle Dresden. Hippocampus: Function, size, and problems [Internet]. 2017 [cited 2018 Jul 22]. Available from: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/313295.php>
38. Medical N. Funções do Hipocampo. 2014;1–2. Available from: [http://www.news-medical.net/health/Hippocampus-Functions-\(Portuguese\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Hippocampus-Functions-(Portuguese).aspx)
39. Leuner B, Gould E. Structural Plasticity and Hippocampal Function. Annu Rev Psychol. 2010;61(Shors 2008):111–40.
40. Geva T. Magnetic resonance imaging: historical perspective. J Cardiovasc Magn Reson [Internet]. 2006 Aug 1;8(4):573–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16869310>

41. Ribeiro MMCP, O'Neill JG, Maurício JC. Caracterização da Tecnologia por Ressonância Magnética em Portugal. 2013. 1-69 p.
42. 08-01 | Rapid/fast MRI • Magnetic resonance imaging | NMR MR MRI | Essentials, introduction, basic principles, facts, history | The primer of EMRF/TRTF. [Internet]. [cited 2018 May 24]. Available from: <http://www.magnetic-resonance.org/ch/08-01.html>
43. Primus FJ, Goldenberg MD, Hills S. United States Patent ( 19 ). 1991;(19).
44. Magnetic Resonance in Medicine • A Critical Introduction by Peter A. Rinck | 12th edition, 2018 | ISBN 9783746095189 | The primer of the European Magnetic Resonance Forum EMRF. [Internet]. [cited 2018 May 24]. Available from: <http://www.magnetic-resonance.org/>
45. Margarida M, Carmo DO, Ribeiro P. OTIMIZAÇÃO DA ANISOTROPIA FRONTO-CALOSA E RESSONÂNCIA MAGNÉTICA [ 1 , 5T ] NO IDOSO NORMAL E COM RISCO CÉREBRO-VASCULAR. 2015;1–340.
46. Kennedy KM, Raz N. Normal Aging of the Brain. Brain Mapp An Encycl Ref. 2015;19(Figure 2):603–17.
47. Margarida A, Filipa J, Margarida M, Ribeiro P, Radiologia AC De, Superior E, et al. Bobinas de radiofrequência em estudos mamários por ressonância magnética : modelos e qualidade de imagem Magnetic resonance breast coils : models and image quality. 2009;(i):16–27.
48. Resonance M. Técnicas de Supressão de Gordura : Estudo Comparativo em Ressonância Magnética Mamária Fat Suppression Techniques : Comparative Study on the Breast. 2010;15–26.
49. Papoti D. Desenvolvimento de Bobinas de RF Transmissoras e Recetoras do tipo Phased arrays para experimentos de imagens por Ressonancia Magnetica em ratos. 2011;
50. Papoti D, Vidoto ELG, Martins MJ, Tannús A. Bobinas de RF Transmissoras / Receptoras com desacoplamento passivo para experimentos de imagens por RMN em pequenos animais RF Transmitter / Receiver Coils with passive decoupling for MRI experiments on small animals. In Vivo (Brooklyn). 2010;4(1):49–51.
51. Yeh EN, McKenzie CA, Ohliger MA, Sodickson DK. Parallel magnetic resonance imaging with adaptive radius in k-space (PARS): Constrained image reconstruction using k-space locality in radiofrequency coil encoded data. Magn Reson Med. 2005;53(6):1383–92.
52. Deshmane A, Gulani V, Griswold MA, Seiberlich N. Parallel MR imaging. J Magn Reson

- Imaging. 2012;36(1):55–72.
53. Gradients - Magnetica [Internet]. [cited 2018 May 25]. Available from: <https://magnetica.com/gradients/>
  54. RF Coils - Magnetica [Internet]. [cited 2018 May 25]. Available from: <https://magnetica.com/rf-coils/>
  55. B??rner P, Aldefeld B. Principles of whole-body continuously-moving-table MRI. *J Magn Reson Imaging*. 2008;28(1):1–12.
  56. Saba L. *Magnetic Resonance Imaging Handbook*. 1st ed. 2016. 2075 p.
  57. Bjornerud A. The Physics of Magnetic Resonance Imaging FYS-KJM 4740. 2008;(March):129–53.
  58. Stark DD, Bradley WG. *Magnetic resonance imaging* [Internet]. Mosby; 1999 [cited 2019 Jul 22]. Available from: <https://radiopaedia.org/articles/spin-echo-sequences>
  59. Sprawls P. *Magnetic resonance imaging : principles, methods, and techniques* [Internet]. 2000. 173 p. Available from: <http://www.sprawls.org/mripmt/index.html>
  60. Sprawls P. *Magnetic resonance imaging : principles, methods, and techniques*. 2000. 173 p.
  61. Nacional I, Inatel DET, José B, Faria S De, Irion C. *O Impacto dos artefatos na produtividade dos exames de Ressonância Magnética*. 2017;
  62. Sandra Moreira Rua Ventura. *A UTILIZAÇÃO DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NA CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DA FALA*. 2012;715–20. Available from: [https://web.fe.up.pt/~tavares/downloads/publications/teses/PhD\\_srv.pdf](https://web.fe.up.pt/~tavares/downloads/publications/teses/PhD_srv.pdf)
  63. Morelli JN, Runge VM, Ai F, Attenberger U, Vu L, Schmeets SH, et al. An Image-based Approach to Understanding the Physics of MR Artifacts. *RadioGraphics* [Internet]. 2011;31(3):849–66. Available from: <http://pubs.rsna.org/doi/10.1148/rg.313105115>
  64. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* [Internet]. 2014 Jan 11;5(1):4–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24335434>
  65. Ribeiro MM, Freire L. *A Ressonância Magnética em Portugal*. 2014;9704.
  66. Evans TE, Adams HHH, Licher S, Wolters FJ, van der Lugt A, Ikram MK, et al. Subregional volumes of the hippocampus in relation to cognitive function and risk of dementia. *Neuroimage* [Internet]. 2018 Sep;178(March):129–35. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811918304488>
  67. Chen JJ. *Functional MRI of brain physiology in aging and neurodegenerative diseases*.

- Neuroimage [Internet]. 2018 May [cited 2018 May 28]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1053811918304646>
68. Jernigan TL, Archibald SL, Fennema-Notestine C, Gamst AC, Stout JC, Bonner J, et al. Effects of age on tissues and regions of the cerebrum and cerebellum. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2001 Jul [cited 2017 Aug 16];22(4):581–94. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197458001002172>
  69. Walhovd KB, Fjell AM, Reinvang I, Lundervold A, Dale AM, Eilertsen DE, et al. Effects of age on volumes of cortex, white matter and subcortical structures. *Neurobiol Aging* [Internet]. 2005 Oct [cited 2017 Aug 16];26(9):1261–70. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197458005001673>
  70. Fjell AM, Westlye LT, Amlien I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, et al. Minute Effects of Sex on the Aging Brain: A Multisample Magnetic Resonance Imaging Study of Healthy Aging and Alzheimer’s Disease. *J Neurosci* [Internet]. 2009 Jul 8;29(27):8774–83. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2782778&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  71. Shaw P, Greenstein D, Lerch J, Clasen L, Lenroot R, Gogtay N, et al. Intellectual ability and cortical development in children and adolescents. *Nature* [Internet]. 2006 Mar 30;440(7084):676–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16572172>
  72. Sullivan E. Age-related decline in MRI volumes of temporal lobe gray matter but not hippocampus. *Neurobiol Aging* [Internet]. 1995 Aug [cited 2017 Aug 16];16(4):591–606. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0197458095000740>
  73. Raz N, Lindenberger U, Rodrigue KM, Kennedy KM, Head D, Williamson A, et al. Regional brain changes in aging healthy adults: General trends, individual differences and modifiers. *Cereb Cortex*. 2005;15(11):1676–89.
  74. Despotović I, Goossens B, Philips W. MRI Segmentation of the Human Brain: Challenges, Methods, and Applications. *Comput Math Methods Med* [Internet]. 2015;2015:1–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25945121>
  75. Seixas F, Saade D, Conci A. Anatomical brain MRI segmentation methods: volumetric assessment of the hippocampus. *Iwssip* [Internet]. 2010;(1):247–50. Available from: [http://www.creacteve.com.br/iwssip/nav/papers/paper\\_78.pdf](http://www.creacteve.com.br/iwssip/nav/papers/paper_78.pdf)
  76. Gronenschild EBM, Habets P, Jacobs HIL, Mengelers R, Rozendaal N, van Os J, et al. The effects of FreeSurfer version, workstation type, and Macintosh operating system version on anatomical volume and cortical thickness measurements. *PLoS One*. 2012;7(6).

77. Perlaki G, Horvath R, Nagy SA, Bogner P, Doczi T, Janszky J, et al. Comparison of accuracy between FSL's FIRST and Freesurfer for caudate nucleus and putamen segmentation. *Sci Rep.* 2017;7(1):1–9.
78. Khotanlou H, Atif J, Colliot O, Bloch I. *Fuzzy Logic and Applications.* 2006;3849(September). Available from: <http://link.springer.com/10.1007/11676935>
79. Rosset A, Spadola L, Ratib O. OsiriX: An open-source software for navigating in multidimensional DICOM images. *J Digit Imaging.* 2004;17(3):205–16.
80. Naci Balak MD a, \*, Emrah Duman MD b, , Izzet Durmusalioglu MD a, , Ercan Bosnak M. Combined use of OsiriX™ imaging software and ultrasound to guide. 2016.
81. Wisse LEM, Kuijf HJ, Honingh AM, Wang H, Pluta JB, Das SR, et al. Automated hippocampal subfield segmentation at 7T MRI. *Am J Neuroradiol.* 2016;37(6):1050–7.
82. Nag S, Kanta I, Sudipta M, Samir RP, Bandyopadhyay K. *International Journal of Advanced Research in Computer Science and Software Engineering A Review of Image Segmentation Methods On Brain MRI For Detection Of Tumor And Related Abnormalities.* 2014;4(5).
83. Balafar MA, Ramli AR, Saripan MI, Mashohor S. Review of brain MRI image segmentation methods. *Artif Intell Rev.* 2010;33(3):261–74.
84. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. *Fsl. Neuroimage.* 2012;62(2):782–90.
85. Selvaraj D. *Mri Brain Image Segmentation Techniques - a Review.* 2013;4(5):364–81.
86. Vijayalakshmi S, Dahiya S, Lather J. *HIPPOCAMPUS SEGMENTATION TECHNIQUES : A SURVEY.* 2017;223–33.
87. OsiriX DICOM Viewer | Story [Internet]. [cited 2018 Jun 1]. Available from: <https://www.osirix-viewer.com/about/story/>
88. FreeSurferWiki - Free Surfer Wiki [Internet]. [cited 2018 Jun 1]. Available from: <https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/fswiki>
89. Fischl B. FreeSurfer. *Neuroimage [Internet].* 2012 Aug 15;62(2):774–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22248573>
90. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, et al. Whole brain segmentation: Automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron.* 2002;33(3):341–55.
91. Fischl B, Van Der Kouwe A, Destrieux C, Halgren E, Ségonne F, Salat DH, et al.

- Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. *Cereb Cortex*. 2004;14(1):11–22.
92. Teipel SJ, Meindl T, Grinberg L, Heinsen H, Hampel H. Novel MRI techniques in the assessment of dementia. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008;35(SUPPL. 1):58–69.
  93. Barkhof F, Fox NC, Bastos-Leite AJ, Scheltens P. *Neuroimaging in Dementia* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011 [cited 2018 May 28]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-00818-4>
  94. Scheltens P, Leys D, Barkhof F, Huglo D, Weinstein HC, Vermersch P, et al. Atrophy of medial temporal lobes on MRI in "probable" Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. 1992;8:967–72.
  95. Rana AK, Sandu A, Robertson KL, Mcneil CJ, Whalley LJ, Staff RT, et al. A comparison of measurement methods of hippocampal atrophy rate for predicting Alzheimer's dementia in the Aberdeen Birth Cohort of 1936. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit* [Internet]. 2017;6:31–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dadm.2016.11.007>
  96. Marchetti RL, Bottino CMC, Azevedo D, Nagahashi Marie SK, De Castro CC. Confiabilidade de medidas volumétricas de estruturas temporais mesiais. *Arq Neuropsiquiatr*. 2002;60(2 B):420–8.
  97. Fjell AM, Westlye LT, Amlien I, Espeseth T, Reinvang I, Raz N, et al. Minute Effects of Sex on the Aging Brain: A Multisample Magnetic Resonance Imaging Study of Healthy Aging and Alzheimer's Disease. *J Neurosci* [Internet]. 2009;29(27):8774–83. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.0115-09.2009>
  98. Adachi M, Kawakatsu S, Sato T, Ohshima F. Correlation between volume and morphological changes in the hippocampal formation in Alzheimer's disease: rounding of the outline of the hippocampal body on coronal MR images. *Neuroradiology* [Internet]. 2012 Oct 16 [cited 2018 Jul 9];54(10):1079–87. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00234-012-1019-7>
  99. McCarthy CS, Ramprashad A, Thompson C, Botti JA, Coman IL, Kates WR. A comparison of FreeSurfer-generated data with and without manual intervention. *Front Neurosci*. 2015;9(OCT):1–18.
  100. Zhong H, Yang M, Cheng KL, Fu Q, Tian Y, Li Y. Coronal Plane Magnetic Resonance Imaging Measurement of Hippocampal Formation Volume of Healthy Chinese Adults. *J Craniofac Surg* [Internet]. 2017 Nov [cited 2018 Jul 9];28(8):2165–7. Available from: <http://insights.ovid.com/crossref?an=00001665-201711000-00065>
  101. Klauschen F, Goldman A, Barra V, Meyer-Lindenberg A, Lundervold A. Evaluation of automated brain MR image segmentation and volumetry methods. *Hum Brain Mapp*

- [Internet]. 2009 Apr [cited 2018 Jul 9];30(4):1310–27. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hbm.20599>
102. Centauro Alado: HIPOCAMPO, O CAVALO MARINHO DA MEMÓRIA [Internet]. [cited 2019 Jul 22]. Available from: <http://centauroalado.blogspot.com/2016/12/hipocampo-o-cavalo-marinho-da-memoria.html>
  103. Sabbatini, R.M.E.: A História da Neuroimagem [Internet]. [cited 2019 Jul 22]. Available from: [http://www.cerebromente.org.br/n20/history/neuroimage4\\_p.htm](http://www.cerebromente.org.br/n20/history/neuroimage4_p.htm)

## CAPÍTULO XII – ANEXOS

Caso	Género	FreeSurfer® Hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	FreeSurfer® Hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )	OsiriX® Hipocampo direito (mm <sup>3</sup> )	OsiriX® hipocampo esquerdo (mm <sup>3</sup> )
1	M	3277,1	3369,4	3681,2	3530,1
2	M	4705,5	3759,7	4025	4156,2
3	F	2802,1	2961,3	3258,4	3369,1
4	M	5093	5094,9	4897,4	4569,1
5	F	4263,8	4348,6	3698,1	3547,8
6	M	3899,8	4420,5	3982,1	3714,9
7	F	2629,1	3456	3220	3369,3
8	F	4023,3	5137,8	3587,1	3458,1
9	F	4508,2	4522,3	3325,8	3520
10	M	4248,7	4609,7	3398,1	3412,2
11	F	3583,4	4165,8	3147,5	3259,8
12	M	3377,3	4376,7	3198,7	3280,3
13	M	4760,1	4992,1	3982,2	3516,3
14	M	4875,8	4427,5	3796,4	3520,1
15	F	3265,1	3147,8	3285,4	3317,7
16	M	3189,5	3290,8	3584,2	3699,1
17	M	4493,4	4491,7	3715,2	3619,7
18	M	3500,2	4334,1	3820,1	3513,3
19	F	3611,6	3878,6	3349,5	3501,4
20	F	3816,9	4331,7	3499,6	3581,7
21	M	1820,1	1348,8	3001,5	2941,6
22	F	4683	4468,7	3165,2	3220,9
23	F	4401,6	4245	3598,3	3379,1
24	F	2071,1	3672,5	3951,3	3485,6
25	M	4754,9	4541,7	3956,1	3778,1
26	F	3528,9	3445,6	3479,9	3516,2
27	M	3836,6	4095,6	3184,4	3361,2
28	F	3249,8	1891,9	3105,2	3398,2
29	F	3438	3446	3301,2	3128,5
30	F	4562,9	4734,2	3601,2	3587,4
31	F	4107,6	4064,9	3485,9	3523,1
32	F	3944	4075	3852,3	3741,4
33	M	4808,9	3091,6	3361,4	3509,3
34	F	4114,2	4647,9	3205,4	3369,9
35	M	4483,5	3751,2	3105,2	3258,3
36	F	2848,5	3158,1	3451,1	3357,4
37	F	3956,3	3797,5	3496,3	3582,4
38	F	3924,7	4213,8	3254,6	3199,3

39	M	3558	3968	3561	3296,8
40	M	3272,1	3217,9	3385,2	3479,6
41	M	4047,5	4877,7	3195,6	3258,1
42	F	3989,1	4004	3215,4	3520,4
43	F	3252,6	2626	3285,4	3399,6
44	M	4107,2	4227,6	3690,2	3852,1
45	F	3999,1	4158,7	3700,2	3523,6
46	F	4340,9	4980,5	3657,3	3596,1
47	F	4513,3	5006,8	3169,2	3345,3
48	F	2953,1	3501,9	3201,8	3104,7
49	M	4742,4	4568	3358,6	3583,2
50	F	4079,2	4454,9	3581,4	3542,3
51	M	5880,9	5628,6	3782,1	3801,4
52	M	4634,7	4820,2	3402,5	3489,9
53	M	3699,6	4149,2	3299,9	3324,5
54	M	4553,5	4425,2	3587,4	3602,1
55	M	4399,2	3993,1	3251,7	3265,6
56	M	3621,8	3968,3	3687,4	3502,1
57	M	4945,7	4665,3	3587,1	3796,3
58	M	3698,8	4041,3	3798,2	3689,6
59	F	4088,5	4091,9	4212,2	4159,3
60	F	4340,9	4980,5	3745,1	3804,3
61	F	3517,5	3370,3	3402	3299,1
62	F	3755	3789,3	3005,9	3246,5
63	F	4323,1	4860,1	3699,7	3525,9
64	F	4494,5	4123,2	3558,5	3612,3
65	M	3258,6	2986,7	3121,4	3247,7
66	F	4000,4	4190,1	3864,2	3741,6
67	F	3999,7	4121,3	3658,2	3480,1
68	M	4253,5	4328,2	3871,4	3712,5
69	F	3258,3	3987,6	3358,2	3421,4
70	F	3307,3	3925,8	3598,6	3362,1
71	M	3698,6	3612,4	3482,5	3602,4
72	F	3995,2	3121,9	3856,3	3692,1
73	F	4023,9	4215,7	3689,3	3741,2
74	F	3745,8	3459,1	3525,5	3639,7
75	M	4333,9	4189,3	3596,3	3692,3
76	M	3852	3521,2	3282,6	3420,5
77	M	3125,9	3357,8	3405,8	3526,7
78	M	3221,6	3625,1	3372,1	3285,9
79	M	3347,2	3998,6	3127,8	3395,4
80	M	4215,9	4002,3	3856,3	3896,7
81	F	3692,7	3859,7	3527,6	3458,9
82	F	3369,1	3698,7	3457,4	3501,5
83	M	4498,1	3999,9	4020,8	3874,6

84	M	3107,2	3127,9	3128,9	3582,4
85	F	3885,3	3001,9	3400,5	3520,7
86	F	2999,4	3125,1	3102,5	3065,4
87	M	3501,6	3792,4	3420,1	3369,4
88	F	3428,4	4110,3	3251	3420,1
89	F	3987,1	3276,1	3582,4	3602,7
90	M	3102,6	3209,4	3582	3621,3
91	F	3978,1	3586,3	3885,2	3742,5
92	F	4032,8	4150,9	3408,2	3501,6
93	M	3258,1	3698,2	3105,7	3005,4
94	M	3985,6	3584,2	3665,1	3528,4
95	M	3540	3910	3368,2	3457,1
96	M	3115,4	3378,2	3358,4	3189,3
97	M	3414,2	3587,3	3258,5	3498,2
98	M	3258,2	3598,7	3584,3	3501,1
99	M	3491,3	3612,7	3111,8	3258,1
100	M	3112,5	3615,9	3471,8	3254,4