



Licenciatura em Radiologia



Espectroscopia na caracterização de gliomas em pediatria

Projecto Final de Licenciatura



Elaborado por: António Pedro Magalhães Ferreira

Aluno nº: 200891921

Orientadores Externos:

Doutor Hugo Ferreira

Dra. Carla Conceição

Barcarena

Janeiro 2012

Universidade Atlântica
Licenciatura em Radiologia

Espectroscopia na caracterização de gliomas em pediatria
Projecto Final de Licenciatura

Elaborado por: António Pedro Magalhães Ferreira

Aluno nº: 200891921

Orientadores Externos:

Doutor Hugo Ferreira

Dra. Carla Conceição

Barcarena

Janeiro 2012

O autor é o único responsável por toda a informação expressa não referenciada

Resumo

Recorrendo a exames de ressonância magnética realizados no hospital de São José, com informação espectroscópica, em crianças com gliomas com confirmação do subtipo histológico por biópsia, procedeu-se ao estudo das alterações das concentrações metabólicas. Por meio de quantificação relativa calculou-se as variações nos valores dos rácios em diferentes zonas tumorais, com referência em valores metabólicos saudáveis dos próprios pacientes. Através de testes estatísticos não paramétricos verificou-se se as diferenças registadas entre valores saudáveis e patológicos eram estatisticamente significativas. O objectivo é perceber se estas diferenças são passíveis de serem utilizadas para a avaliação e gradação em gliomas. Os resultados obtidos no presente trabalho, comprovam que a espectroscopia por RM consegue diferenciar as concentrações metabólicas em gliomas relativamente a parênquima saudável. Estas diferenças foram mais visíveis nos rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho). Não se verificou diferenças entre as zonas centrais, intermédias e periféricas. Ficou então bem patente, através dos resultados obtidos, a sensibilidade e capacidade da espectroscopia por RM para mostrar diferenças nas concentrações metabólicas em gliomas relativamente a parênquima saudável.

Palavras-chave: ressonância magnética; espectroscopia; gliomas; pediatria; avaliação e gradação tumoral

Abstract

Using magnetic resonance Imaging performed in Hospital de São José, with spectroscopic information, in children with gliomas with confirmation by biopsy histologic subtype, we proceeded to the study of changes in metabolite concentrations. By means of relative quantification, were calculated variations in the ratios of tumor at different areas, with reference values metabolic health patients. Through non-parametric statistical tests determined whether the differences observed between healthy and pathological values were statistically significant. The aim is to understand whether these differences are likely to be used for evaluation and grading of gliomas. The results obtained in this study show that MRI spectroscopy can differentiate the metabolite concentrations in gliomas for healthy parenchyma. The differences were more evident in the ratios NAA/Cho and NAA/(Cr+Cho). There were no differences between the central zones, intermediate and peripheral. It then became evident through the results, the sensitivity and the ability of MRI spectroscopy to reveal differences in metabolite concentrations in gliomas for healthy parenchyma.

Key-words: magnetic resonance; spectroscopy; gliomas; pediatrics; evaluation and tumor grade

Índice

Introdução	1
Capítulo 1 – Enquadramento Teórico.....	4
1.1 Ressonância Magnética	5
1.1.1 – Princípios físicos de Ressonância Magnética.....	5
1.1.2 – Sinal do declínio de indução livre	7
1.1.3 – Tempos de relaxação	8
1.1.4 – Contraste	9
1.1.5 – Gradientes de campo magnético.....	11
1.1.6 – Selecção de corte, codificação de fase e codificação de frequência.....	13
1.2 Espectroscopia em RM.....	16
1.2.1 – Espectroscopia.....	16
1.2.2 – Espectroscopia em Ressonância Magnética.....	16
1.3 Tumores.....	23
1.3.1 – Tumores Crânio-Encefálicos.....	24
1.3.2 – Células da Glia	27
1.3.3 – Gliomas	28
Capítulo 2 – Materiais e Métodos.....	34
2.1 – Amostra.....	35
2.2 – Aquisição de Imagem	35
2.3 – Análise das Imagens/Espectros	36
2.4 – Análise Estatística	38
Capítulo 3 – Resultados.....	40
3.1.1 – Paciente A	41
3.1.2 – Paciente B.....	43
3.1.3 – Paciente C.....	45
3.1.4 – Paciente D	47
3.1.5 – Paciente E.....	50
3.2 – Estatística	52

Capítulo 4 – Discussão	54
Conclusão.....	63
Bibliografia	65

Índice de figuras

Figura 1 – Spins orientados aleatoriamente.....	5
Figura 2 – Spins orientados segundo um campo magnético.....	6
Figura 3 – Movimento de precessão	6
Figura 4 – Recuperação da magnetização longitudinal – T1.....	8
Figura 5 – Decaimento da magnetização transversal – T2.....	8
Figura 6 – Valores de T1 e T2 para os diferentes tecidos	9
Figura 7 – Aplicação de um gradiente de campo magnético em X	11
Figura 8 – Gradientes de campo magnético	11
Figura 9 – Frequências em diferentes pontos com e sem gradiente de campo magnético	12
Figura 10 – Aplicação de um gradiente de selecção de corte no eixo Z.....	13
Figura 11 – Aplicação de um gradiente de codificação fase no eixo Y	14
Figura 12 – Aplicação de um gradiente de codificação de frequência. Selecção de Voxel	14
Figura 13 – Cortes axiais, coronais e sagitais com respectivas imagens de exames	15
Figura 14 – Espaço K com a respectiva imagem após a aplicação da TF Bidimensional	Erro! Marcador não definido.
Figura 15 – Formas de preenchimento do Espaço K	Erro! Marcador não definido.
Figura 16 – Processo da aquisição de imagem até ao preenchimento do espaço K..	Erro! Marcador não definido.
Figura 17 - Espectro de radiação electromagnética	17
Figura 18 – Gráfico das duas componentes do sinal em ERM.....	18
Figura 19 – Espectro singlevoxel de uma zona normal sem patologia	21
Figura 20 – Multivoxel: todos os voxéis constituintes de um volume.....	22

Figura 21 – Gráfico representativo dos tipos de tumores mais incidentes em crianças até aos 15 anos (WHO).....	25
Figura 22 – Esquema gradação de Astrocitomas	29
Figura 23 – Gráfico da sobrevivência média para os diferentes graus de astrocitomas num período de 5 anos.....	31
Figura 24 – Figura ilustrativa da colocação dos voxéis	38
Figura 25 – Cortes axial e coronal, respectivamente, do exame do paciente A	41
Figura 26 – Espectros dos voxéis 3 e 4 do exame do paciente A	41
Figura 27 – Espectros dos voxéis 5 e 6 do exame do paciente A	42
Figura 28 – Cortes coronal, axial e sagital, respectivamente, do exame do paciente B..	43
Figura 29 – Espectros dos voxéis 1 e 2 do exame do paciente B	43
Figura 30 – Espectros dos voxéis 5 e 6 do exame do paciente B	44
Figura 31 – Espectros dos voxéis 3 e 4 do exame do paciente B	44
Figura 32 – Cortes axial, coronal e sagital, respectivamente, do exame do paciente C..	45
Figura 34 – Voxéis 3 e 6 do exame do paciente C.....	46
Figura 33 – Voxéis 1 e 2 do exame do paciente C.....	46
Figura 35 – Cortes sagital, coronal e axial, respectivamente, do exame do paciente D .	47
Figura 36 – Espectros dos voxéis 2 e 4 do exame do paciente D	48
Figura 37 – Espectros dos voxéis 6 e 7 do exame do paciente D	48
Figura 38 – Espectros dos voxéis 8 e 9 do exame do paciente D	49
Figura 39 – Espectros dos voxéis 10 e 11 do exame do paciente D	49
Figura 40 – Cortes axial, coronal e sagital, respectivamente, do exame do paciente E..	50
Figura 41 – Espectros dos voxéis 1 e 2 do exame do paciente E.....	51
Figura 42 – Espectros dos voxéis 3 e 4 do exame do paciente E.....	51
Figura 43 – Gráfico boxplot mostra os valores dos rácios de todos os pacientes, por zona de colocação dos voxéis.	52
Figura 44 – Espectros representativos para os diferentes tempos de eco. (A) – espectro com tempo de eco de 30 ms; (B) – espectro com tempo de eco de 135 ms (McRobbie, Moore, Graves, & Prince, 2006).....	61
Figura 45 – Espectros adquiridos (A) aos 6 meses de idades (B) idade adulta (18 anos) (Robertson & Cox, 2002-2012)	62

Índice de abreviaturas

1. **RM** - Ressonância Magnética
2. **DTI** - Imagem por tensor de difusão
3. **SPIN** - Representam as possíveis orientações de partículas subatómicas
4. **VME** - Vector de Magnetização Efectiva
5. **RF** - Rádio Frequência
6. **DIL** - Declínio de Indução Livre
7. **TR** - Tempo de Repetição
8. **TE** - Tempo de Eco
9. **TF** - Transformada de Fourier
10. **ERM** - Espectroscopia por Ressonância Magnética
11. **p.p.m** - Partes por milhão

Índice de tabelas

Tabela 1 – Caracterização da amostra estudada.....	35
Tabela 2 – Tabela dos rácios do exame do paciente A (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).	42
Tabela 3 – Tabela dos rácios do exame do paciente B (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).	45
Tabela 4 – Tabelas dos rácios do exame do paciente C (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).	47
Tabela 5 – Tabela dos rácios do exame do paciente D (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).	50
Tabela 6 – Tabela dos rácios do exame do paciente E (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).	52
Tabela 7 – Tabela com os valores de p do teste Mann-Whitney	53
Tabela 8 – Tabela com os valores de p do teste Mann-Whitney. Verde – valores de $p < 0.05$; Castanho – valores de $p > 0.05$	58

Introdução

Introdução

Hoje em dia, com o evoluir da tecnologia, são feitos exames a qualquer parte do corpo e a capacidade dos aparelhos é tal que, fazendo reconstruções, permite todo o tipo de cortes e obliquidades em aquisições feitas em segundos e com alta qualidade de imagem. A RM₍₁₎ é um exemplo disso mesmo, é o expoente máximo da tecnologia em Radiologia e tem um grande potencial. As várias técnicas utilizadas nesta valência provam isso mesmo. A variedade destas e o leque de utilizações são uma mais-valia na prática clínica. Apesar da sua grande sensibilidade para estudos de patologias intracranianas, em RM existe pouca especificidade na avaliação de algumas lesões cerebrais. Por isso mesmo justifica-se o constante desenvolvimento de novas técnicas que, recorrendo a diversos parâmetros fisiológicos, oferecem uma grande capacidade na diferenciação de patologias cerebrais (Almeida).

A espectroscopia em RM dá-nos informações sobre as estruturas químicas dos tecidos e, dependendo de alterações nestas estruturas podemos perceber que tipo de patologia se está a estudar. Registando as alterações nas concentrações de metabólitos nas zonas com patologia podemos diferenciar e estudar as mesmas. O uso deste tipo de técnica é importante pois para além de dados anatómicos, esta técnica fornece dados fisiológicos e bioquímicos (Melo, Mariana Vieira de; Guimarães, Raquel Portugal; Rodrigues, Maria Olívia; Garcia, Maria Concepción; Tavares, Leandro; Reed, Umbertina Conti; Rosemberg, Sergio; Leite, Claudia da Costa, 2008).

Apesar de existirem várias maneiras de se realizar espectroscopia, há já vários anos, a espectroscopia por ressonância magnética na prática clínica é um método muito recente. Mesmo no universo da RM não existe um consenso sobre as potencialidades da espectroscopia. Por exemplo, no protocolo estabelecido para tumores encefálicos consta:

- Rotina + Difusão + DTI₍₂₎
- T1 3D após gadolínio
- ***Espectroscopia***

- Perfusão
- T2* se existir hemorragia
- Angio venosa se adjacente aos seios venosos

Apesar de haver indicação para se realizar espectroscopia, praticamente esta não é realizada no contexto clínico. E, na maioria das vezes quem o faz, realiza por curiosidade e no âmbito de projectos de investigação.

Um exame de RM, sem recurso a técnicas avançadas, pode em 40% dos casos levar a uma classificação tumoral errada (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010). Nesse sentido a espectroscopia pode ser uma mais-valia na diferenciação entre tecido tumoral e tecido saudável, na classificação de tumores em alto e baixo grau, no planeamento de biópsias, na diferenciação entre danos resultantes de tratamento e tecido tumoral recorrente, assim como entre quistos infecciosos e quistos neoplásicos (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010).

A célula é a base da vida e, no caso dos tumores, a responsável pela morte. Todas as células têm um ciclo de vida. Quando uma célula, por qualquer razão, começa a funcionar de forma incorrecta existem mecanismos que a vão impedir de criar descendência com informação funcional errada. Na base da formação de um tumor, está a falha destes mecanismos, que não conseguem evitar que esta célula defeituosa se multiplique. Desta maneira, vai haver a multiplicação de células defeituosas o que leva à formação de um tumor. A incidência de tumores por todo o mundo tem crescido juntamente com a melhoria das condições de vida e dos cuidados de saúde. A maioria dos tumores está associada a maus prognósticos e acarretam consigo um negativismo, para os seus portadores. Com 7 600 000 mortes em 2008, significando 13% de todas as mortes, o cancro lidera as principais causas de morte (WHO). É uma doença bastante mortal e as probabilidades de sobrevivência aumentam quando o diagnóstico é feito numa fase inicial da doença. Em imagiologia, quando pretendemos estudar um tumor, as indicações clínicas que pretendemos são o seu aspecto, localização e comportamento, este último através da administração de contraste endovenoso, por exemplo. Como a espectroscopia pode fornecer informação da composição química e biológica do tumor,

é possível completar mais ainda a informação para diagnóstico e assim aumentar a importância desta técnica na prática clínica.

O objectivo deste trabalho de investigação é provar a utilidade da espectroscopia num exame de ressonância magnética encefálica em situação tumoral, nomeadamente em gliomas. Para isso traçamos duas metodologias principais:

1. Confirmar e reforçar a relação entre concentrações de metabolitos e rácios entre os mesmos com o tipo de gradação dos gliomas;
2. Tentar diferenciar os mesmos assim como associar os valores obtidos e estabelecer intervalos de confiança nas alterações dos metabolitos e rácios, capaz de serem associados a cada tipo de glioma.

Este trabalho está organizado da seguinte forma: No Capítulo 1 é apresentado o enquadramento teórico do trabalho subdividido em 3 temas: Ressonância Magnética, onde se explicam os seus princípios físicos, Espectroscopia por RM, onde se resume o que é espectroscopia, os vários tipos de espectroscopia e em particular, espectroscopia por RM e, Tumores, subcapítulo onde se explica o que são tumores, a sua etiologia, tipos de tumores mais predominantes, assim como a sua origem e subtipos de gliomas. No Capítulo 2 Materiais e Métodos, são apresentados os dados analisados neste trabalho, a metodologia utilizada e a análise estatística realizada. O Capítulo 3, Resultados, enquadra os resultados por paciente e um subcapítulo final que aborda a estatística de todos os pacientes, em conjunto. Finalmente, no Capítulo 4, Discussão, são analisadas a metodologia utilizada, os resultados obtidos e os problemas que surgiram no decorrer do projecto.

Capítulo 1 – Enquadramento Teórico

1.1 Ressonância Magnética

- 1.1.1 – Princípios físicos de Ressonância Magnética
- 1.1.2 – Sinal do declínio de indução livre
- 1.1.3 – Tempos de relaxação
- 1.1.4 – Contraste
- 1.1.5 – Gradientes de campo magnético
- 1.1.6 – Seleção de corte, codificação de fase e codificação de frequência

1.2 Espectroscopia em RM

- 1.2.1 – Espectroscopia
- 1.2.2 – Espectroscopia em Ressonância Magnética

1.3 Tumores

- 1.3.1 – Tumores Crânio-Encefálicos
- 1.3.2 – Células da Glia
- 1.3.3 – Gliomas
- 1.3.4 – Outros tumores encefálicos

1.1 Ressonância Magnética

1.1.1 – Princípios físicos de Ressonância Magnética

A Ressonância Magnética (RM) tornou-se na última década numa das mais promissoras, sofisticadas e rigorosas técnicas de diagnóstico clínico. O grande potencial desta técnica reflecte-se na elevada resolução espacial e de contraste que as imagens em RM possuem, assim como nas técnicas de obtenção de imagens funcionais e espectroscópicas. A RM baseia-se em princípios físicos provenientes da Física Nuclear, mais precisamente, nas teorias quânticas que explicam o comportamento dos spins⁽³⁾ (RMN_apontamentos, 2007). Este comportamento refere-se aos núcleos de Hidrogénio, isto porque para além do Hidrogénio ser o elemento mais abundante no Universo, as suas características magnéticas conferem-lhe um momento magnético bem definido. Os núcleos de Hidrogénio comportam-se como pequenos ímanes pois, mesmo na ausência de um campo magnético, estes rodam sobre si mesmos. 70 a 80% do corpo humano é constituído por água e cada molécula de água tem dois átomos de Hidrogénio. E é por esta razão que o núcleo de Hidrogénio é a base da RM.

Imaginemos então que todos os núcleos dos átomos que nos constituem são vectores, com orientações aleatórias. Se somarmos todos estes vectores, o resultado vai ser nulo. Isto porque as direcções de todos os spins se anulam (fig. 1). Quando sujeitamos os núcleos de Hidrogénio a um campo magnético, estes vão-se alinhar paralela ou anti-paralelamente à sua direcção (fig. 2). Dando origem a um vector total não nulo, com a direcção

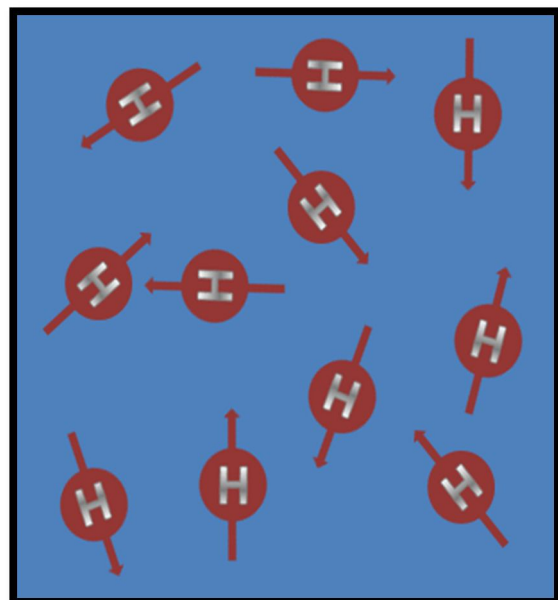
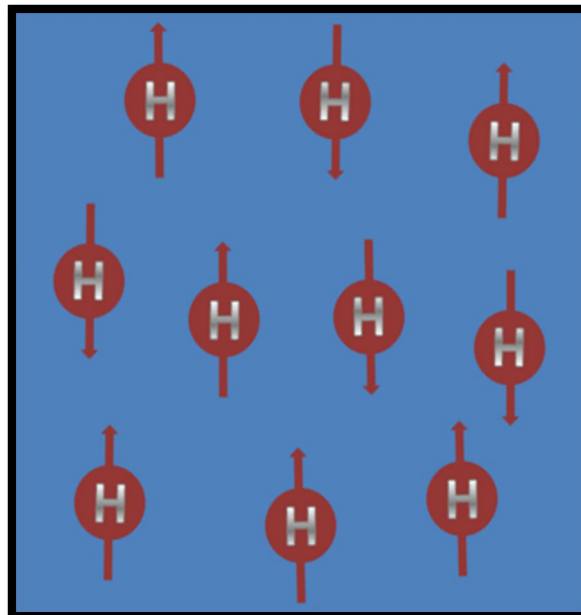


Figura 1 – Spins orientados aleatoriamente

do campo magnético, designado por vector de magnetização efectiva – VME. Os

factores que vão influenciar o sentido dos spins são: a intensidade do campo magnético e a energia térmica dos núcleos. Os núcleos com menor energia térmica, não têm energia suficiente para se oporem ao campo magnético, alinhando-se paralelamente à sua direcção. Assim sendo, os spins que se opõem ao campo magnético têm uma maior energia. No final existe um número ligeiramente superior de spins alinhados paralelamente do que anti-paralelamente ao campo magnético. Quanto maior for a intensidade do campo magnético maior será o número de spins alinhados paralelamente (Fig.2). Por isso mesmo, equipamentos com maior campo



originam melhores desempenhos e maior qualidade de imagem. Na ausência de um campo magnético externo, os spins apenas giram sobre si próprios, mas quando expostos a um campo magnético externo, estes giram em torno do eixo do campo magnético externo, designado por movimento de precessão. O número de voltas por unidade de tempo é denominado frequência de precessão e é dado pela equação de Larmor: $\omega = \gamma \times B_0$. Em que ω é a frequência de precessão, γ a razão giromagnética e B_0 a intensidade do campo magnético. A



Figura 3 – Movimento de precessão

Hidrogénio entram em ressonância. O fenómeno de ressonância acontece quando expomos um objecto a um ambiente onde ocorre uma perturbação oscilatória com a mesma frequência que a frequência natural de oscilação desse objecto. Ou seja, os spins de Hidrogénio vão entrar em ressonância quando aplicarmos um

impulso de rádio-frequência $RF_{(5)}$ com a mesma frequência da frequência de precessão dos spins de Hidrogénio. Quando aplicamos este impulso, os spins vão deixar de estar alinhados com o campo magnético longitudinal B_0 , para passarem a estar alinhados com um novo campo magnético criado pelo impulso de RF. O campo magnético longitudinal criado pelo equipamento encontra-se alinhado com o eixo dos Z, enquanto que o campo magnético transversal gerado pelo impulso de RF está alinhado com os eixos Y e X. Dependendo da duração e intensidade dos impulsos, a angulação adquirida pelos spins pode variar entre os 0° e 180° . A diferença de angulação vai-se reflectir nos tempos de relaxação dos diferentes tecidos (CETAC).

1.1.2 – Sinal do declínio de indução livre

Quando aplicamos um impulso de RF, estamos a dar aos spins energia para que estes se desviem do campo magnético longitudinal. O que vai caracterizar a magnetização transversal é o facto de os spins nesta altura estarem todos a girar em fase, em torno de B_0 , no plano transversal. Quando cessamos o impulso de RF, os spins vão voltar a sentir apenas o efeito do campo magnético longitudinal e vão voltar a alinhar-se com este. A esta fase chamamos relaxação, em que a magnetização longitudinal aumenta (recuperação) e a magnetização transversal diminui (declínio). Quando os spins relaxam vão induzir segundo as leis de indução de Faraday uma corrente na bobine. Quando diminui a magnetização transversal diminui também a corrente induzida na bobine. A este fenómeno chamamos $DIL_{(6)}$. Para se obterem imagens de RM são precisos vários impulsos de RF. Tudo em RM vai girar em volta do tempo. O tempo que vai de um impulso de RF ao impulso seguinte é denominado de $TR_{(7)}$. O tempo que vai de um impulso de RF ao sinal máximo induzido na bobina receptora é chamado de $TE_{(8)}$. O TR está relacionado com o tempo de relaxação longitudinal T1 e o TE com o tempo de relaxação transversal T2.

1.1.3 – Tempos de relaxação

A razão da recuperação é um processo exponencial e o tempo da recuperação é denominado T1. Este tempo equivale ao tempo necessário para a recuperação de 63% da magnetização longitudinal (fig. 4). Tal como a recuperação, o declínio também tem uma razão exponencial e este tempo é denominado T2. Este tempo corresponde ao tempo necessário até se atingir 37% da magnetização transversal inicial (fig. 5). Podemos assim compreender que as diferenças entre as ponderações T1 e T2 são dadas pelos diferentes tempos, T2 ocorre primeiro que T1. Apesar do fenómeno T2 acontecer primeiro que T1, estes são acontecimentos distintos. T1 está relacionado com a perda da magnetização transversal e recuperação longitudinal e o T2 com a perda da coerência de fase dos núcleos.

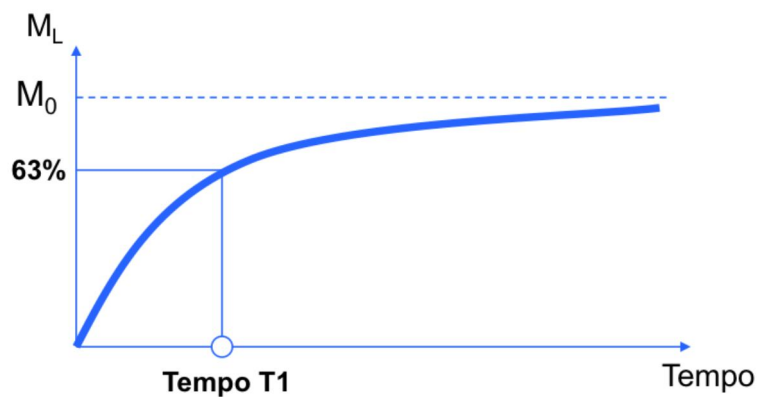


Figura 4 – Recuperação da magnetização longitudinal – T1

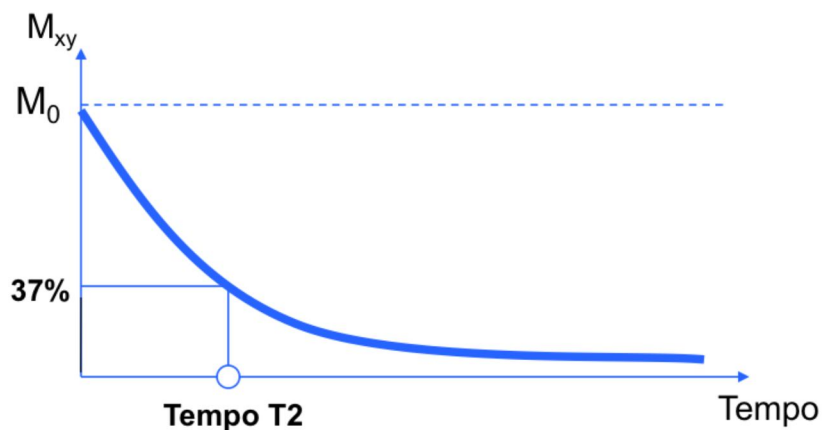


Figura 5 – Decaimento da magnetização transversal – T2

M_{xy} representa a magnetização no plano xy (magnetização transversal)

M_L representa a magnetização longitudinal (magnetização no eixo Z)

M_0 representa a magnetização inicial

Tempo T1 representa a constante de relaxação longitudinal

Tempo T2 representa a constante de relaxação transversal

Tissue	T ₁ (ms)			T ₂ (ms)		
	0.5 T	1.5 T	3.0 T	0.5 T	1.5 T	3.0 T
White matter	520 ^f	560 ^a	832 ⁱ	107 ^b	82 ^c	110 ⁱ
Grey matter	780 ^f	1100 ^a	1331 ⁱ	110 ^b	92 ^c	80 ⁱ
CSF	–	2060 ^e	3700	–	–	–
Muscle	560 ^g	1075 ^d	898 ^h	34 ^g	33 ^g	29 ^h
Fat	192 ^b	200 ^b	382 ^h	108 ^b	–	68 ^h
Liver	395 ^b	570 ^e	809 ^h	96 ^b	–	34 ^h
Spleen	760 ^b	1025 ^e	1328 ^h	140 ^b	–	61 ^h

Figura 6 – Valores de T1 e T2 para os diferentes tecidos (MRI From Picture to Proton)

As diferenças nos tempos de relaxação dos diferentes tecidos são dadas pelas estruturas destes mesmos. Tecidos que sejam maioritariamente constituídos por moléculas de água, por exemplo, irão ter sinais mais intensos na ponderação T2, devido a maiores tempos (fig. 6).

1.1.4 – Contraste

Em RM existem sinais intensos (que se traduzem por branco), sinais pouco intensos (que são representados a negro) e um vasto leque de sinais intermédios (tons de cinza que variam entre o preto e o branco). Estes sinais representam vários tipos de tecidos, por exemplo, tecido adiposo, músculo, tecido nervoso, líquidos, entre outros. Um determinado tecido tem um sinal intenso caso possua um grande componente de magnetização transversa capaz de gerar um sinal de elevada amplitude na bobine. O

contrário traduz-se num sinal fraco. O contraste das imagens é consequência dos mecanismos de recuperação T1 e declínio T2. O tempo T1 do tecido adiposo é curto, sendo portanto hipertintenso numa ponderação em T1. Já no caso da água, o tempo T1 é longo e o seu sinal é hipointenso numa ponderação em T1. Da mesma maneira, o T2 do tecido adiposo é curto e o da água longo, dando origem a sinais hipointensos (escuro) e hiperintensos (brilhante), respectivamente (CETAC) (McRobbie, Moore, Graves, & Prince, 2006).

1.1.5 – Gradientes de campo magnético

Os gradientes de campo magnético são fundamentais para a formação da imagem. Até agora temos falado de magnetizações totais dos tecidos mas são os gradientes que

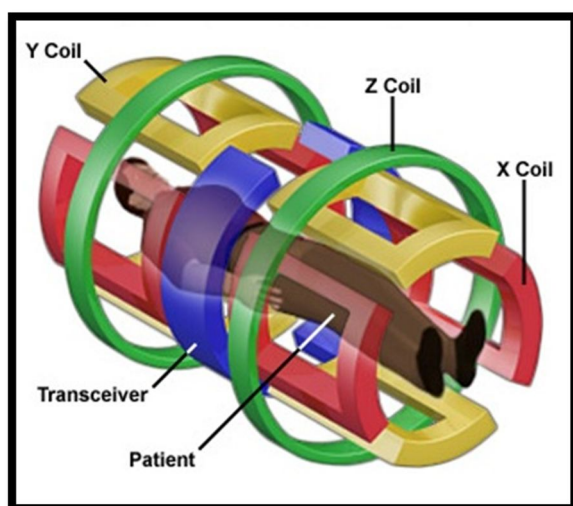


Figura 8 – Gradientes de campo magnético

vão distinguir e diferenciar os diferentes pontos dos tecidos. Sem os gradientes de campo magnético apenas existe um campo magnético gerado pelo magneto, com um valor único e uniforme. Desta maneira, se um objecto estiver sujeito a este campo magnético, quando aplicamos um impulso de RF com o valor de frequência igual à

frequência de precessão do objecto

sujeito ao campo magnético todos os spins do objecto serão excitados. Todos os spins, vão gerar um sinal na bobine e este sinal contém informação de todo o tecido do objecto, mas não possibilita saber de que parte do objecto provem. Assim sendo

precisamos de mapear a imagem. Os gradientes vão estabelecer um método que possibilite a selecção de um corte num corpo, para que dentro deste corte, haja uma matriz de pontos

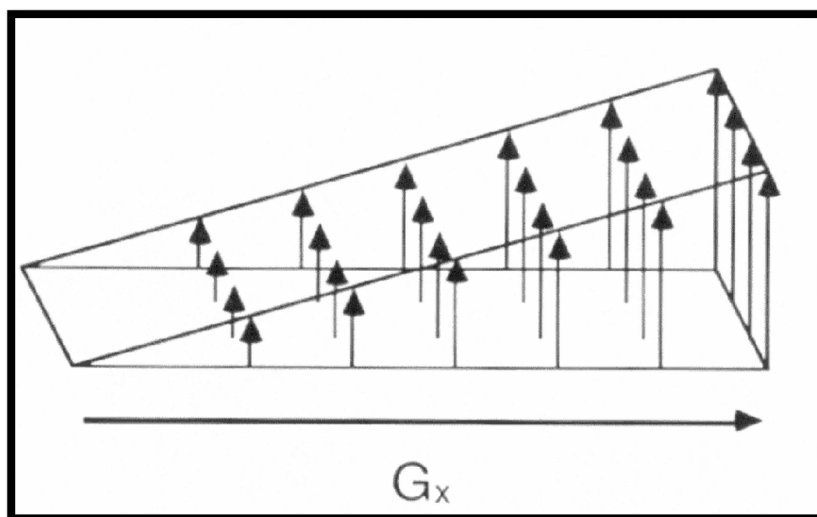


Figura 7 – Aplicação de um gradiente de campo magnético em X

organizada em linhas e colunas (fig. 8). Para cada elemento desta matriz – pixel – deve ser obtido um valor de intensidade de sinal, para que através de uma escala de tons de cinzento ou cores

possamos visualizar a imagem final. Com o uso dos gradientes de campo magnético podemos fazer variar linearmente numa dada direcção a intensidade do campo magnético (fig. 7), segundo a equação:

$$B_z(Z) = B_0 + z \times G_z$$

G_z representa a intensidade do gradiente aplicado (mT/m) na direcção Z

B_0 representa o campo magnético longitudinal

$B_z(Z)$ representa o novo valor do campo magnético numa dada posição Z

O novo campo magnético criado pelo campo magnético longitudinal e pelos gradientes de campo magnético vão fazer com que a frequência de precessão mude, ou seja, cada posição do objecto sujeito ao campo magnético na direcção da aplicação dos gradientes vai precessar com uma frequência de precessão diferente (fig. 9). Desta maneira, a frequência pode ser usada para localizar o sinal no espaço.

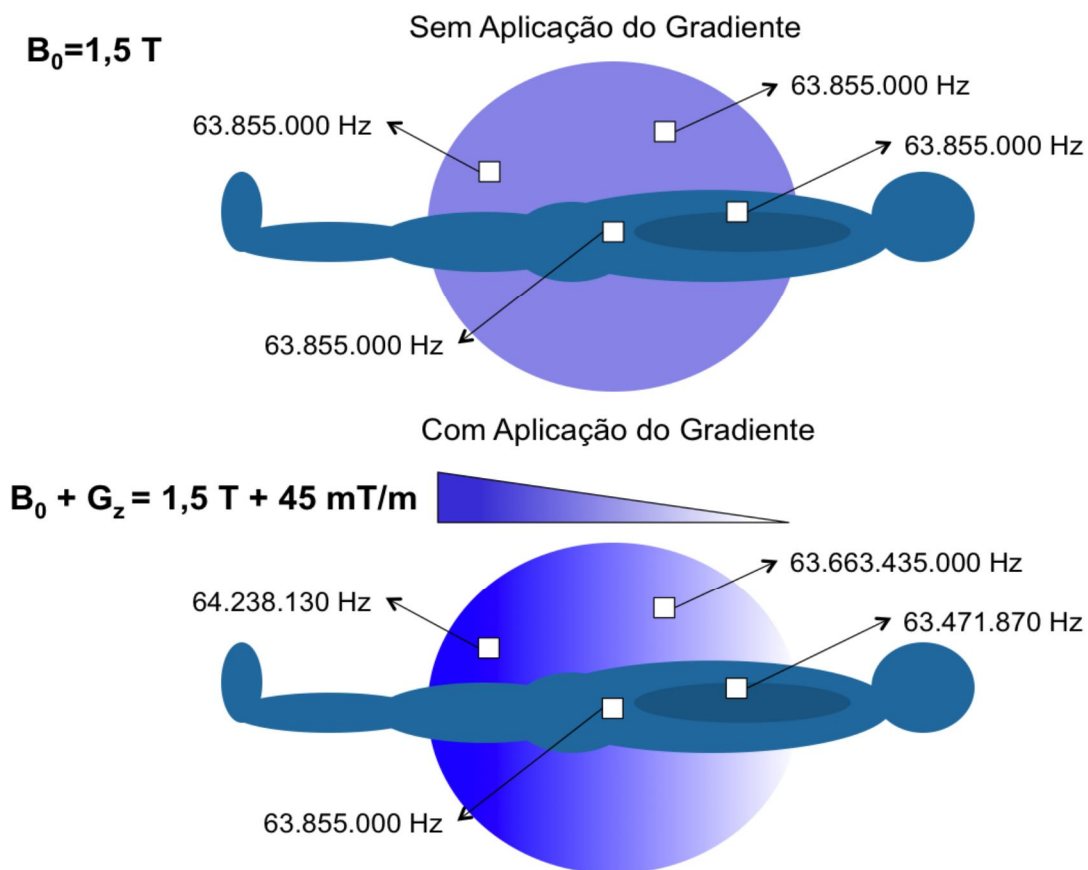


Figura 9 – Frequências em diferentes pontos com e sem gradiente de campo magnético

O uso de gradientes altera também a fase dos spins. Esta alteração é proporcional à duração e amplitude do gradiente de campo magnético. A frequência e a fase fornecem informações do sinal no espaço (Mazzola, 2009).

1.1.6 – Selecção de corte, codificação de fase e codificação de frequência

Para se obter uma imagem em RM são necessárias três etapas para a codificação de sinal:

- ◆ Selecção de Corte
- ◆ Codificação de Fase
- ◆ Codificação de Frequência

Cada uma das seguintes etapas é dada pela aplicação de gradientes de campo magnético numa dada direcção. Se aplicarmos o gradiente de campo magnético para a selecção de corte na direcção Z, cada ponto ao longo deste eixo, do eixo longitudinal da mesa, irá precessar com uma frequência diferente. Se deixarmos este pulso de gradiente ligado, ao gerarmos um pulso de RF com a mesma frequência que a frequência de precessão da zona que queremos excitar vamos obter cortes axiais. Então quando aplicamos o pulso de RF apenas vamos excitar os núcleos naquele plano específico, os núcleos de outros planos desse eixo não vão entrar em ressonância (fig. 10). Os restantes gradientes serão gerados nos outros dois eixos, x e y (CETAC). O técnico ao

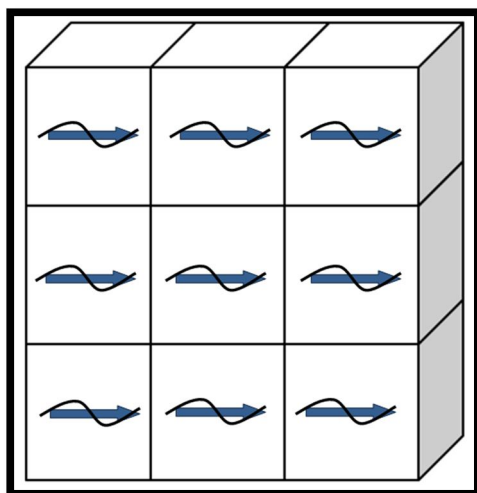


Figura 10 – Aplicação de um gradiente de selecção de corte no eixo Z

seleccionar o protocolo vai determinar qual dos três gradientes vai executar a selecção dos cortes.

Ao accionarmos o gradiente de campo magnético para a codificação de fase vamos alterar a fase dos spins e desta maneira procedemos à sua localização. Desta maneira o eixo de corte seleccionado fica em fase com um outro eixo (fig. 11). Para obtermos a informação

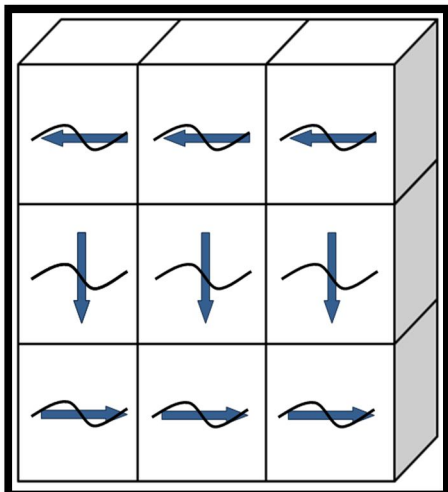


Figura 11 – Aplicação de um gradiente de codificação fase no eixo Y

precisamos de accionar o gradiente de codificação de fase várias vezes e cada vez que o fazemos, alteramos a amplitude do gradiente. Quando cessamos os pulsos de gradiente neste eixo, os spins neste “corte” precessam todos com a mesma frequência mas com frequências diferentes em cada linha. Na altura em que vamos registar os sinais geramos um gradiente de campo magnético na direcção do eixo que resta, desta maneira

vamos impor diferentes frequências a cada ponto de

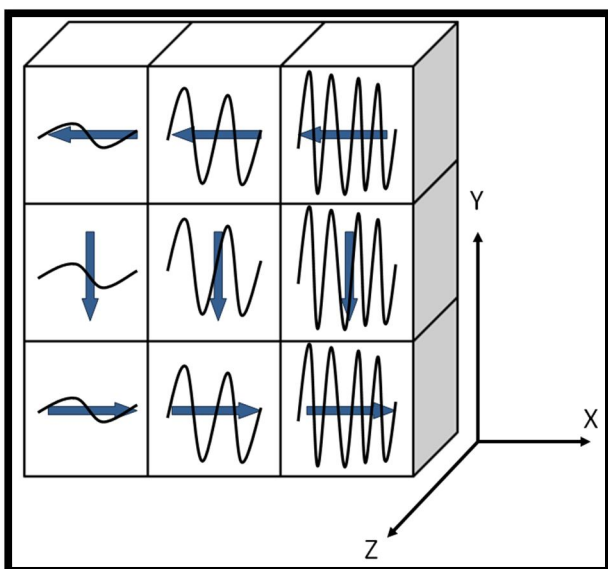


Figura 12 – Aplicação de um gradiente de codificação de frequência. Selecção de Voxel

cada linha, para obtermos informação tridimensional. A este gradiente chamamos também gradiente de leitura. Desta maneira a cada linha vai corresponder uma fase e a cada coluna vai corresponder uma frequência (cmsilva, 2007). Para a realização de cortes axiais, aplicamos um gradiente de campo magnético em Z para a selecção de corte. O eixo Y vai servir

para a codificação de fase e o eixo dos X para a codificação de frequência. Na

figura 12, a selecção de corte foi feita em Z, ou seja, foram seleccionados cortes axiais com a codificação de fase feita em Y e a codificação de frequência feita em X. Desta maneira podemos obter todos os tipos de cortes e obliquidades, axiais, coronais e sagitais (fig. 13).

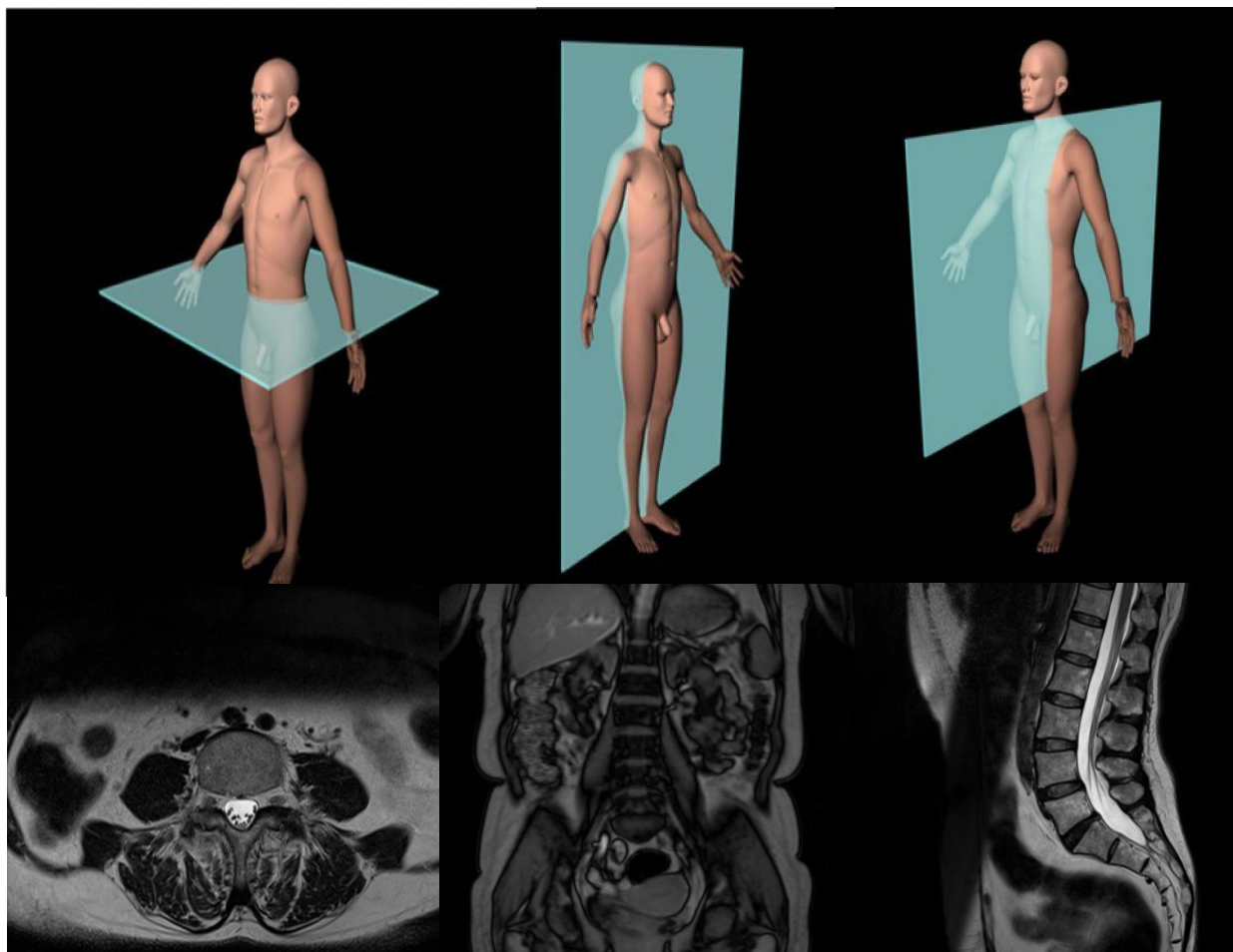


Figura 13 – Cortes axiais, coronais e sagitais com respectivas imagens de exames

Os sinais lidos vão estar registados por fase e frequência, ou seja, um sinal que ao variar no tempo vai ter diversas fases e frequências que contêm informação sobre o tecido dos cortes feitos. Esta informação é “descodificada” pela transformada de Fourier. Esta transformada decompõe uma função contínua nas suas componentes oscilatórias e amplitudes. Assim sendo, a $TF_{(9)}$ vai determinar as amplitudes e frequências nos sinais registados.

1.2 Espectroscopia em RM

1.2.1 – Espectroscopia

A espectroscopia é um método físico que permite estudar a estrutura e composição de uma substância. Ao fornecermos energia a uma molécula, esta vai ficar excitada e ao voltar ao seu estado fundamental vai emitir a energia absorvida sob a forma de radiação electromagnética (espectroscopia. In Infopédia. Porto: Porto Editora).

Podemos então dizer que a espectroscopia é o estudo dos vários espectros e isto só é possível pois na natureza, cada elemento tem um espectro próprio.

Alguns tipos de Espectroscopia:

- ◆ Espectroscopia de Raios X: espectroscopia de alta energia, na zona dos raios X e que estuda os electrões de alta energia nos átomos.
- ◆ Espectroscopia Nuclear: estuda os diferentes espectros do núcleo atómico, mesmo em diferentes estados.
- ◆ Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear: é utilizada na análise de compostos. É o ponto em foco neste capítulo (espectroscopia. In Infopédia. Porto: Porto Editora).

1.2.2 – Espectroscopia em Ressonância Magnética

A RM foi explicada por dois cientistas independentes, Felix Bloch e Edward Purcell, em 1946. Entre 1950 e 1970 foi desenvolvida e era apenas usada para análises moleculares físicas e químicas, sendo portanto, a espectroscopia a primeira aplicação da

Ressonância Magnética. Posteriormente percebeu-se que a diferença entre os tecidos normais e os tecidos patológicos tinham influência nos sinais registados e desta maneira podia-se aplicar a Ressonância Magnética à prática clínica. Esta descoberta foi feita em 1970 por Damadian, mas a primeira imagem de Ressonância Magnética de um organismo vivo foi apresentada em 1973 por Paul C. Lauterbur (SHVOONG).

A espectroscopia é o estudo da interacção da radiação electromagnética, na gama das radiofrequências, com a matéria e baseia-se nos princípios da Ressonância Magnética convencional para o estudo das propriedades físicas e químicas da matéria. Embora neste trabalho se aborde a espectroscopia em RM apenas na prática clínica, esta têm diversas aplicações em várias áreas científicas. Esta técnica não é invasiva e permite a análise de compostos orgânicos e alguns inorgânicos. Tanto em espectroscopia por RM como em todos os outros tipos de espectroscopia, a análise dos compostos dos tecidos só é possível pois, quando irradiamos moléculas com radiação electromagnética, vamos induzir variações de energia que são quantificáveis. Em espectroscopia por RM, a energia aplicada é relativamente baixa quando comparada com outras técnicas de espectroscopia (fig. 17) (Correia, 2002).

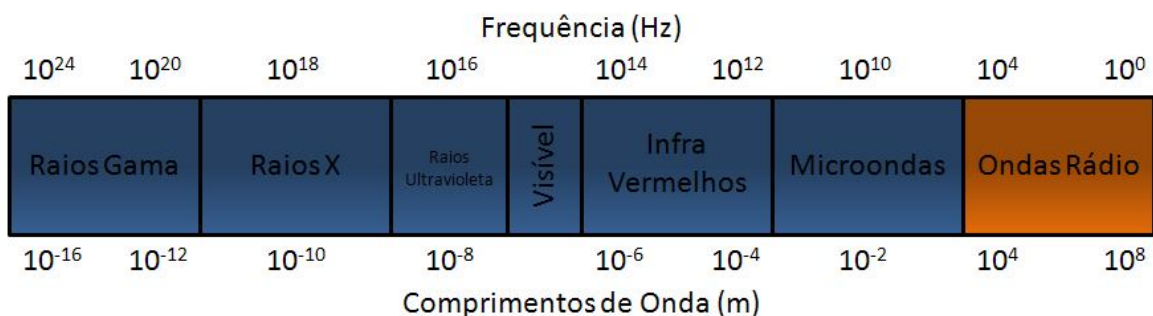


Figura 14 - Espectro de radiação electromagnética

Nesta técnica, o sinal registado resulta da diferença entre a energia absorvida pelos spins quando mudam de estado e a energia que estes emitem quando voltam ao estado de energia inicial. O sinal é proporcional à diferença entre os estados referidos. Este sinal tem duas componentes desfasadas 90°. São então constituídos por uma

vertente de absorção e uma outra de dispersão. Geralmente os espectros analisados em RM são observados no modo de absorção, sendo que o de dispersão é usado para controlar a frequência (fig. 18).

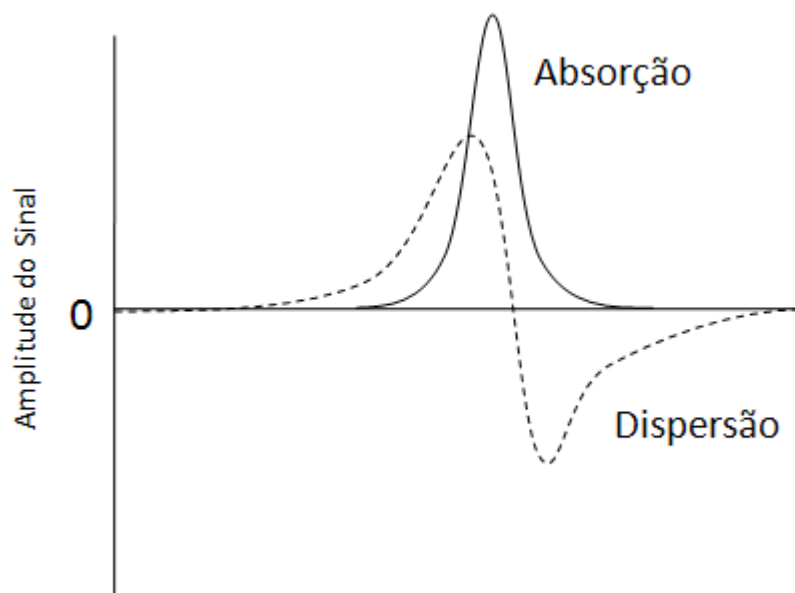


Figura 15 – Gráfico das duas componentes do sinal em ERM

A espectroscopia aplicada à prática médica tem uma função complementar relativamente à RM convencional, ou seja, é usada para obtermos informação adicional relevante. A RM é o método de eleição para o estudo de neoplasias intra-cranianas, mas peca pela pouca especificidade relativamente à extensão tumoral e às áreas de maior malignidade dentro do tumor. É nestes pontos que a espectroscopia tem importância, delineando de forma precisa e aumentando a probabilidade de se obter uma determinação adequada do grau de malignidade tumoral. Sendo sensível a alterações fisiopatológicas ao nível celular, a ERM₍₁₀₎ vai nos dar informação das diferentes concentrações dos metabólitos, que vão reflectir o perfil bioquímico de vários tipos de tumores (Joana Graça; Teresa Palma; Pedro Pereira; Patrícia Medina; Constança Ribeiro; Pedro Evangelista, 2003). Ainda assim, devido à relativamente baixa sensibilidade da ERM, apenas alguns dos componentes químicos dos tecidos humanos são passíveis de se analisar, ou seja, tecidos presentes em concentrações acima de 0.5 mMol (Saúde, 2007).

Os exames realizados por meio desta técnica são essencialmente feitos ao cérebro. Embora se realizem também na mama, para avaliação do sucesso terapêutico, a sua grande maioria é realizada em exames crânio-encefálicos. Por isso mesmo, todos os exemplos referidos neste trabalho são relativos a exames ao crânio.

As diferentes estruturas químicas dos metabolitos, vão-se traduzir no espectro de maneiras diferentes. O número de átomos de hidrogénio e os restantes átomos constituintes dos metabolitos vão conferir a estes diferentes frequências de precessão e desta maneira é possível estudarmos cada metabólito individualmente. Assim sendo, a cada metabólito corresponderá um espectro característico de acordo com as suas frequências e, desta maneira, possibilita a imediata identificação pela posição dos picos no gráfico. Isto porque a cada pico corresponde uma específica posição no gráfico. Para uma padronização desta técnica, convencionou-se uma escala de frequências em p.p.m₍₁₁₎ que se aplica a todos os equipamentos de RM independentemente da potência do campo. Os principais metabolitos, que podemos avaliar, presentes no cérebro humano são (Saúde, 2007):

- ◆ **N-Acetilaspato (NAA):** é o indicador da densidade e viabilidade neuronais e a sua concentração diminui proporcionalmente ao dano celular. É um metabólito exclusivo dos neurónios. Num espectro normal, o pico de NAA é o maior, geralmente ao nível de 2.0 ppm. Em situação de dano neuronal a concentração de NAA vai baixar. O dano é causado por necrose.
- ◆ **Colina (Cho):** Este pico é formado por glicerofosfocolina, fosfocolina e fosfatidilcolina e traduz a concentração total de colina no cérebro. Participa no metabolismo das membranas celulares. O aumento deste metabólito também pode estar relacionado com lesões desmielinizantes. É o segundo maior pico, ao nível de 3.2 ppm. A colina é associada a um aumento da proliferação celular. Prevê-se que um aumento significativo possa ser um indicador de maior grau de malignidade. Como é uma amina encontrada nos lípidos das paredes celulares pode ser interessante a avaliação da colina nos contornos tumorais.

- ◆ **Creatinina (Cr):** O pico de creatinina é composto por substâncias do metabolismo cerebral, a sua concentração é relativamente constante no tecido cerebral e normalmente é resistente a alterações patológicas. Este pico serve de referência para todos os outros e é o terceiro maior pico do gráfico, ao nível de 3.03 ppm. A concentração de creatina é resistente a alterações patológicas. Como 95% da sua concentração localiza-se nos músculos esqueléticos, alterações patológicas no parênquima cerebral podem não comprometer as concentrações da creatina. Ainda assim a sua diminuição está associada a neoplasia. Visto ser resistente a alterações patológicas, é um bom ponto de referência para os restantes picos metabólicos.
- ◆ **Lactato:** Este pico é bastante característico, podendo ver-se dois picos chamados “doblete”, ao nível de 1.32 ppm. No cérebro humano, os níveis deste metabólito em condições normais é quase nulo e, portanto, não é suposto ser identificado no espectro. Em situações de isquémia e/ou necrose, onde existe falta de oxigénio, os níveis de lactato sobem. Pode ser detectado em neoplasias. O duplo pico pode situar-se abaixo da linha de referência, dependendo do tempo de eco. Em situações de falta de O₂ regista-se um aumento das concentrações de lactato (entenda-se aumento, apesar de as concentrações em condições normais serem quase nulas e em situações patológicas este pico traduzir-se invertido no espectro quando se utiliza um tempo de eco entre 130 a 144 ms).

Outros indicadores metabólicos podem-se comprovar importantes na avaliação tumoral, ainda assim, os mais importantes foram referidos a cima e, portanto, serão os visados na avaliação dos dados. Dos restantes:

- ◆ **Mioinositol (ml):** Este metabólito está relacionado com os neuro-receptores. O seu pico acontece ao nível de 3.56 ppm. O aumento deste pico com a diminuição do pico de NAA é um indicador de doença de Alzheimer. O aumento deste pico também tem especial importância em casos de neuropatia diabética, neoplasias gliais, entre outras patologias.

- ◆ **Glutamato (Glu) e Glutamina (Gln):** O glutamato é um neurotransmissor envolvido no metabolismo mitocondrial e a glutamina participa na regulação da actividade dos neurotransmissores. São representados em conjunto, somando-se os picos (Glx), entre 2.1 e 2.5 ppm.
- ◆ **Alanina:** É um aminoácido não essencial. A sua frequência situa-se entre 1.3 e 1.4 ppm e pode estar elevada em situações como meningiomas.
- ◆ **Lipídios:** Estes picos apenas são registados com tempos de eco muito curtos. Pode-se registar o aumento destes picos em astrocitomas de alto grau, assim como em meningiomas e podem também estar relacionados com zonas de necrose.

Para obtermos um gráfico com os diferentes espectros dos metabolitos, temos de seleccionar na imagem de RM convencional adquirida a zona sobre a qual pretendemos obter a informação. Assim sendo, em espectroscopia, quando seleccionamos um voxel, vamos “decompor” o mesmo nas várias frequências adquiridas e distingui-las para que possamos visualizar os diferentes picos (fig. 19).

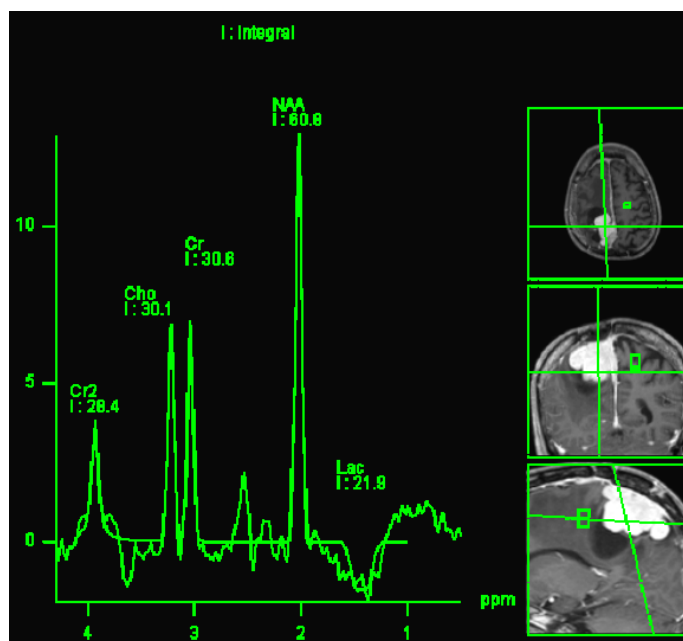


Figura 16 – Espectro singlevoxel de uma zona normal sem patologia

Quando vamos seleccionar uma zona para estudar, existem duas maneiras de o fazer: singlevoxel e multivoxel. Singlevoxel é a maneira mais simples de se fazer, estudamos os espectros dos metabolitos apenas num voxel. Quando seleccionamos o

multivoxel, obtemos informação de um volume. Desta maneira podemos posteriormente estudar todos os voxels desse volume (fig. 20).

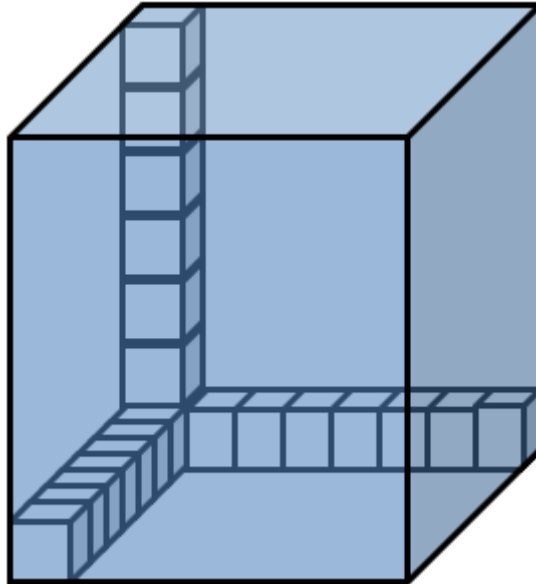


Figura 17 – Multivoxel: todos os voxels constituintes de um volume

Todas as vezes que recorreremos à ERM temos que de ajustar o campo magnético para que não hajam problemas de heterogeneidade. Se não existir homogeneidade no campo, o ruído vai aumentar, o que vai dificultar a diferenciação das frequências e, conseqüentemente, a leitura dos picos. Tal como os metabolitos, também a água vai-se traduzir num pico. Pico este que tem de ser eliminado para que possamos estudar os vários picos, isto porque, devido à elevada concentração da água, o pico desta vai ser muito maior que todos os outros.

1.3 Tumores

A já chamada doença do novo século advém de uma melhoria significativa das condições de vida, de um melhor acesso a cuidados de saúde e informação. Apesar de parecer contraditório, com o aumento da esperança média de vida, aumenta também a incidência de doenças crónicas. A unidade básica da vida é a célula, células juntas formam tecidos e os tecidos, órgãos. O normal é a célula completar o seu ciclo de vida, estas multiplicam-se, vivem, envelhecem e morrem. Quando isto não acontece, dá-se a formação de um tumor (<http://www.ligacontracancro.pt>). Um tumor é uma massa de tecido anormal no qual, células crescem e multiplicam-se de forma descontrolada e, ao contrário das células normais que têm mecanismos que as regulam, estas fazem-no de forma desregulada. Os tumores encefálicos, o tipo de tumor abordado neste trabalho, podem implicar graves danos tais como o aumento da pressão intracraniana, invadir e danificar tecido cerebral saudável (Tania Shiminski-Maher).

Não é possível saber ao certo a causa da formação de um tumor, a verdade é que existem factores de risco que se devem ter em consideração:

- Envelhecimento
- Hábitos tabágicos
- Exposição a luz solar e radiação ionizante
- Exposição a determinados químicos e substâncias
- Álcool
- Algumas hormonas
- Determinados vírus e bactérias
- Dieta rica em gorduras
- Sedentarismo

Apesar de alguns destes factores serem evitáveis, factores como história familiar e o envelhecimento têm uma grande importância na incidência deste tipo de patologia e não há como os evitar. Nestes casos o melhor mesmo é ter em atenção os riscos, conhecer a sintomatologia e estar sempre atento ao mínimo sinal.

Cancro não é significado de malignidade, isto porque estes podem ser benignos ou malignos. Os benignos raramente põem a vida em risco, geralmente podem ser removidos, em alguns casos regredem e as células tumorais benignas não têm a capacidade de extravasar os limites do tumor, não originando assim metástases. Os malignos, na grande parte das vezes são de pior prognóstico que os tumores benignos, colocam a vida em risco, invadem e danificam os tecidos circundantes e, ainda, entram na circulação sanguínea ou linfática e criar metástases noutros órgãos (<http://www.ligacontracancro.pt>).

1.3.1 – Tumores Crânio-Encefálicos

Um tumor encefálico pode ser de dois tipos: primário ou secundário. Um tumor primário é um tumor que surge inicialmente nesse sítio e um secundário teve origem numa outra parte do corpo e por extravasação das células tumorais foi invadir outros tecidos e dar origem a uma metástase. Nestes casos, quando falamos de metástase, não podemos dizer que este é um tumor cerebral, mas sim um tumor característico da zona onde se originou metastizado no cérebro. Até porque este tumor secundário tem as características do primário pois tem o mesmo tipo de células. Isto tem especial importância pois um tumor secundário no cérebro deve ser tratado segundo o sítio de origem do tumor primário. Em alguns casos, no processo de malignização, existe perda das características celulares o que torna a tarefa de saber qual a origem da metástase, impossível. No caso de se saber a origem do tumor secundário, este deve ser tratado como o tumor primário, de acordo com o tipo de célula que lhe deu origem (<http://www.ligacontracancro.pt>). Os tumores encefálicos primários raramente dão origem a metástases fora do sistema nervoso central mas em contrapartida têm uma grande capacidade infiltrativa, conseguindo-se assim alargar a outras áreas do encéfalo através das vias da matéria branca, o que lhes confere alguma resistência a tratamentos (Cassidy, Bissett, & OBE, 2002).

Na América do Norte, cerca de 20 000 tumores cerebrais são diagnosticados todos os anos, sendo desta maneira um tumor relativamente raro. Este tipo de tumor é normalmente associado a um mau prognóstico, nos casos em que existe possibilidade de remoção, grande parte destes provocam danos para toda a vida (Joseph Panno, 2005). Os tumores encefálicos em crianças são maioritariamente primários, já nos adultos são secundários. (<http://www.ligacontracancro.pt>).

Nos Estados Unidos, o cancro, no geral, é a segunda principal causa de morte em crianças até os 15 anos, só antecedido por causas acidentais. Cerca de 160 000 novos casos são descobertos todos os anos e 90 000 mortes anuais são registadas. Estima-se que 14.9 em 100 000 crianças até aos 15 anos desenvolveram esta doença e sobe para os 16.4 até aos 20 anos de idade (WHO).

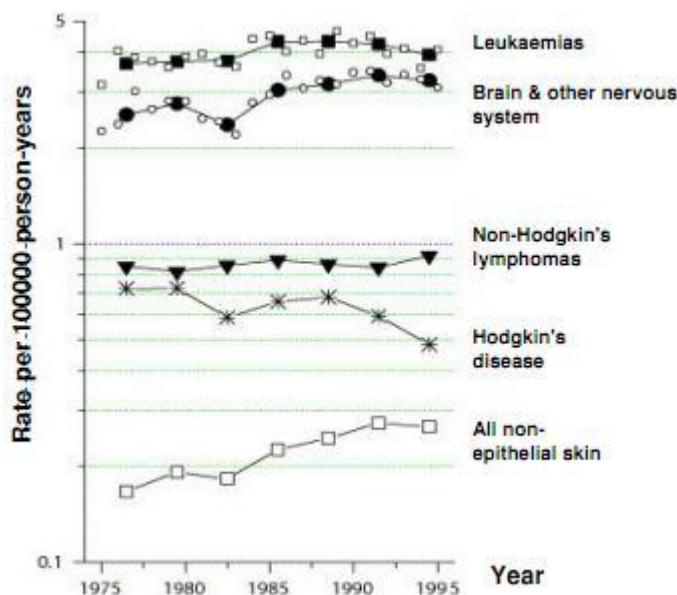


Figura 18 – Gráfico representativo dos tipos de tumores mais incidentes em crianças até aos 15 anos (WHO)

Ainda assim, a condição de malignidade dos tumores em crianças é relativamente rara, sendo que o prognóstico tem vindo a melhorar nos últimos 30 anos como resultado de diagnósticos mais precisos e melhores tratamentos, assim como mais eficazes. As principais causas de cancro em crianças são (WHO):

- Factores genéticos (5-15%)

- Exposições ambientais conhecidas e factores exógenos (< 5-10%)
- Causas Desconhecidas (75-90%).

Relativamente aos tumores encefálicos em crianças, notou-se um ligeiro aumento na sua incidência entre os anos de 1983 e 1986. Desde então os números têm-se mantido estáveis (WHO).

Quando estamos perante uma situação tumoral, o primeiro passo é fazer a sua gradação. A gradação tumoral é um sistema usado para classificar as células tumorais que deram origem ao mesmo, perceber o quanto anormais estas são e quão rápido é o seu crescimento e disseminação. Esta gradação classifica os tumores quanto ao seu grau de malignidade, indo do grau I (benigno), ao grau IV (maligno). Os tumores malignos vão conter vários tipos de células com graus diferentes, a gradação é dada a um tumor consoante o pior grau encontrado numa célula do mesmo, tendo em conta os factores: índice mitótico, vascularização tumoral, presença de células mortas (necrose) no centro do tumor e potencial disseminação.

No sistema de gradação tumoral da Organização Mundial de Saúde:

- **Grau I** – são tumores benignos, com um crescimento lento e, microscopicamente são quase normais. Apenas a cirurgia, sem qualquer outro tipo de tratamento, pode ser suficiente para a total remoção tumoral mas, no caso de o tumor estar num sítio pouco acessível, este pode por a vida do paciente em risco. Em condições normais os tumores de grau I estão associados a longos períodos de sobrevivência.
- **Grau II** – tumores que crescem ligeiramente mais rápido que os de grau I e demonstram pequenas anormalidades ao microscópio. Nestes casos existe a possibilidade de haver invasão dos tecidos saudáveis adjacentes e pode haver recorrência como um tumor de grau III e IV.
- **Grau III** – tumor maligno. Nos tumores de grau III existe uma reprodução activa de células anormais e invasão dos tecidos saudáveis circundantes. Nestes tumores existe recorrência frequente, muitas vezes como tumores de grau IV.

- **Grau IV** – são os tumores mais malignos e invadem largas áreas de tecido saudável adjacente. Estes tumores multiplicam-se rapidamente, contêm necrose no seu centro e microscopicamente apresentam-se muito anormais. Nos tumores de grau IV existe proliferação vascular, para suprir todas as necessidades metabólicas do tumor.

(IRSA) (Medicine) (Cassidy, Bissett, & OBE, 2002) (Tonn, westphal, & Rutka, 2010)

Dos tumores encefálicos primários, o mais comum é o glioma (umkrades).

1.3.2 – Células da Glia

Os gliomas são tumores desenvolvidos pelas células da glia. Também conhecidas como neuróglia, estas são formadas por um leque de tipos de células. São estas: astrócitos, oligodendrócitos, micróglia e células endoteliais. Estas células estão em proporção com os neurónios por 10:1. Estas células sustentam o sistema nervoso e formam os circuitos neuronais. As células da glia exercem ainda um papel isolante, permitindo a formação de circuitos neuronais independentes que vão impedir a propagação desordenada dos impulsos nervosos (Kavalco, 1999).

- **Astrócitos** – Os astrócitos são as maiores células da neuróglia. Estes possuem prolongamentos citoplasmáticos em todas as direcções. No sistema nervoso central estes prolongamentos situam-se sobre os órgãos superficiais, abaixo da pia-máter. Existem 3 tipos de astrócitos: protoplasmáticos, fibrosos e mistos.
- **Oligodendrócitos** – Os Oligodendrócitos possuem poucos prolongamentos e estes são curtos. Estão presentes tanto na substância branca como na cinzenta. Este tipo de célula está ligado com a complexidade do sistema nervoso. Quanto mais complexo for o sistema nervoso, oligodendrócitos vão estar presentes no mesmo. Por isso a raça humana é onde se verifica um maior número de oligodendrócitos.
- **Células da Micróglia** – Estas existem em pequena quantidade e apresentam prolongamentos curtos. Estas células encontram-se tanto na substância branca

como na cinzenta. Fazem parte do sistema mononuclear fagocitário do tecido nervoso.

- **Células Ependimárias** – Possuem uma constituição epitelial, ao contrário das demais células que possuem prolongamentos. As células ependimárias estão em contacto com o líquido cefalorraquidiano, pois revestem os compartimentos que conduzem o LCR.
- **Células de Schwann** – Os axónios do tecido nervoso adulto encontram-se envoltos em dobras únicas ou múltiplas, formadas pelas células de schwann. No sistema nervoso central não existem células de schwann.

1.3.3 – Gliomas

Existem vários tipos de gliomas, dependendo do tipo de célula de qual o tumor se desenvolve (Roche). O seu comportamento e prognóstico dependem fortemente do seu subtipo histológico (Cassidy, Bissett, & OBE, 2002). Ao contrário dos restantes tumores, os gliomas não vão crescer e pressionar o tecido saudável adjacente, vão matá-lo (Speert, 2012). Os gliomas representam 50% de todos os tumores do sistema nervoso central e 20% de todos os gliomas em crianças são malignos (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010).

- **Astrocitoma** – É um glioma que se forma a partir dos tecidos que sustentam e rodeiam as células nervosas, através dos astrócitos, é o glioma mais comum em crianças (Roche). Representam 70 a 80% de todos os gliomas. Os astrocitomas englobam um conjunto de tumores com forma e conduta biológica muito diferentes. Os tipos histológicos de astrocitomas mais comuns são: astrocitoma pilocítico e astrocitoma fibrilar, este último é um subtipo de glioma difuso. O astrocitoma pilocítico é o glioma mais comum nas duas primeiras décadas de vida e são, por isso, chamados de Juvenile Pilocytic Astrocytoma. Estes JPA podem-se desenvolver ao longo do neuro-eixo mas 80% destes tumores desenvolvem-se no cerebelo. Tanto o astrocitoma pilocítico como o fibrilar são considerados gliomas de baixo grau, ainda que o astrocitoma pilocítico seja de

grau I e o difuso de grau II. Astrocitomas supratentoriais representam entre 40 a 60% de todos os tumores encefálicos em pediatria, tanto em recém-nascidos como em crianças de maior idade (Tonn, westphal, & Rutka, 2010) (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010) (Figarella-Branger, b., Coulibaly, Quilichini, Paula, & al) (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010) (umkcrades).

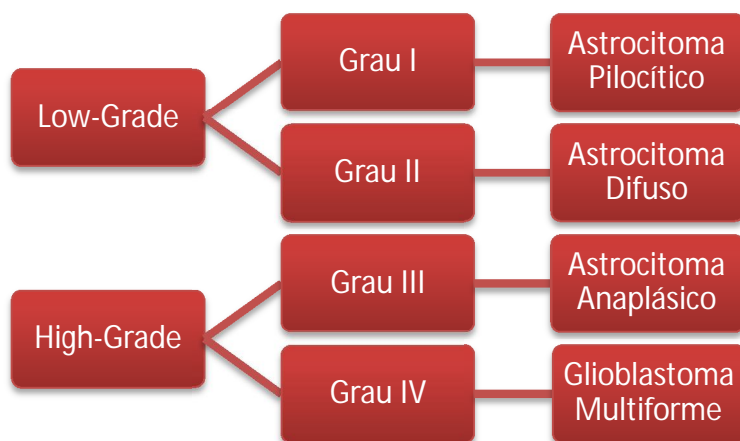


Figura 19 – Esquema graduação de Astrocitomas

A organização mundial de saúde criou um sistema de graduação tumoral para astrocitomas (WHO) (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010):

- **Astrocitoma Grau I** – (Pilocítico) benigno, com células bifásicas, alongadas e paralelas, com núcleos não mitóticos. Observam-se grupos compactos de células com filamentos gliais, fibras de Rosenthal e áreas com estruturas microcísticas mucóides. Estes tipos de tumores podem-se formar no encéfalo, nervo óptico, tronco cerebral e cerebelo. Nos astrocitomas de grau I, as células tumorais são mais diferenciadas, não tendo a capacidade de criar mutações significativas.
- **Astrocitoma Grau II** – (Astrocitoma Difuso) apesar de ser considerado benigno, apresenta algumas características malignas. Traduzem-se essencialmente nos tipos: fibrilar, protoplasmático, misto e gemistocítico, sendo este último predisposto a malignidade. Cerca de 80% dos tumores de grau II são fibrilares, ocorrendo predominantemente

na substância branca. Num exame histológico é possível observar-se hipercelularidade (dos astrócitos), grande suporte fibrilar, fibras neurogliais, observa-se baixa capacidade para mitose mas são recorrentes. Os astrocitomas de baixo grau são formados por células tumorais diferenciadas.

- **Astrocitoma Grau III** – (Astrocitoma Anaplásico) é considerado maligno e caracteriza-se por: mitoses e atipia nuclear, podendo existir proliferação vascular. Nos astrocitomas de grau III, as células tumorais são anaplásicas, ou seja, indiferenciadas. Perfaz 30% de todos os astrocitomas.
- **Astrocitoma Grau IV** – (Glioblastoma) é altamente maligno, caracterizando-se por: mitoses, atipia nuclear, proliferação endotelial, vascular e necrose.

(Cassidy, Bissett, & OBE, 2002) (Braga) (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010)
(Tonn, westphal, & Rutka, 2010) (WHO)

Existem várias modificações possíveis, a maior parte delas no grau III. A existência de células anaplásicas conduz automaticamente a um diagnóstico de malignidade. Isto porque as células anaplásicas resultam da aquisição de características mais primitivas, por parte de células adultas normais. Estas indicam desvios da normalidade e são irreversíveis. As células anaplásicas são mais indiferenciadas, tal como se verifica nas células embrionárias. As suas características mais marcantes são a sua grande variabilidade de tamanhos e o hipercromatismo nuclear (Pato Arte Geral) (So Biologia).

Os astrocitomas são mais comuns no sexo masculino, raça caucasiana, em idades compreendidas entre os 30 e os 50 anos e a sua localização, regra geral, é nos lóbulos frontais, parietais e temporais. Em astrocitomas diagnosticados entre os 30 e 34 anos, 34% dos exames histológicos realizados confirmam a malignidade, consoante a idade do portador da doença a incidência de glioblastoma cresce de 0,2/100.000 numa população com idade inferior a 14

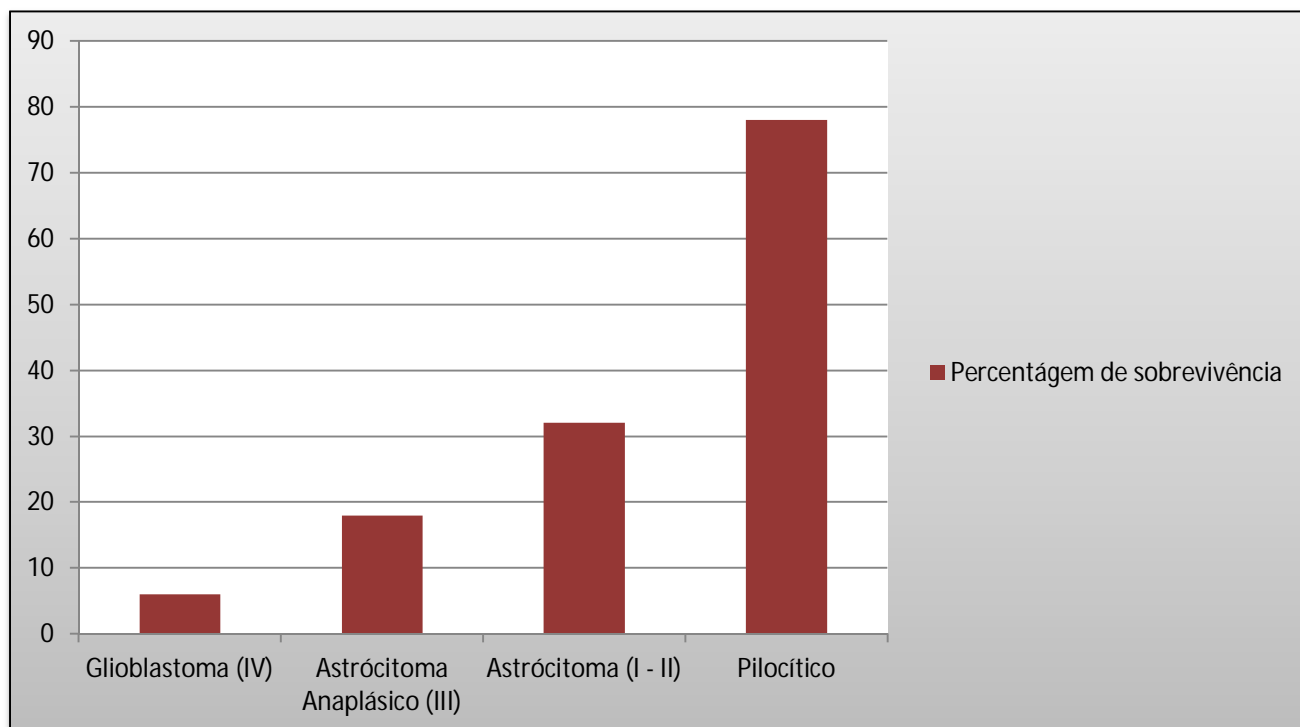


Figura 20 – Gráfico da sobrevivência média para os diferentes graus de astrocitomas num período de 5 anos

anos, para 4,5/100.000 para uma população acima dos 45 anos de idade. Ou seja, a probabilidade de um astrocitoma ser maligno, aumenta com a idade. Segundo a organização mundial de saúde a sobrevivência média para portadores de astrocitomas de grau III e grau IV é 28 e 8 meses, respectivamente (Braga) (WHO).

No gráfico da figura suprajacente, distingue-se os astrocitomas pilocíticos, apesar deste ser um astrocitoma de grau I, dos restantes astrocitomas de grau I. Isto porque devido às suas características tem implicações menos graves e mais desmarcadas dos restantes astrocitomas de grau I.

- **Oligodendroglioma** – é um tumor que tem origem nas células que formam a substância adiposa que envolve e protege os nervos. Regra geral formam-se no encéfalo, têm uma progressão lenta e raramente se verifica disseminação para os tecidos cerebrais circundantes. Aproximadamente 5% de todos os tumores encefálicos primários são oligodendrócitos. A sua incidência é de 0.5 por 100,000 por ano. É mais comum em adultos de meia-idade, nos 40-45 anos.

Dos tipos de oligodendrogliomas:

- Oligodendroglioma (Grau II)
 - Oligodendroglioma Anaplásico (Grau III)
 - Oligoastrocitoma (Grau II)
 - Oligoastrocitoma Anaplásico (Grau III)
- **Ependimoma** – tumor que tem origem nas células que revestem os ventrículos e canal da espinal medula. Estes ocorrem ao longo de todo o sistema nervoso central. Podem ocorrer fora das estruturas ventriculares, dando origem à formação de um tumor raro chamado ependimoma ectópico. Este tumor é o terceiro mais comum em crianças.
 - Ependimoma (Grau II)
 - Ependimoma Anaplásico (Grau III)
 - Ependimoma Mixopapilar (Grau I)
 - Subependimoma (Grau I)
 - **Glioma do tronco cerebral** – é um grupo heterogéneo de neoplasias com vários subtipos, que variam com o prognóstico e padrões de crescimento. Os tumores do tronco cerebral representam 10 a 20% de todos os tumores intracranianos em pediatria e, destes, 90% são de origem glial. 75% Dos tumores do tronco cerebral em pediatria formam-se em crianças com menos de 10 anos. No geral, este tipo de tumor divide-se em:
 - Gliomas intrínsecos difusos
 - Gliomas do tronco cerebral não difusos
 - **Glioma Misto** – Os gliomas mistos são tumores que têm origem em 2 ou mais tipos de células da glia diferentes. Por exemplo, o oligoastrocitoma (Grau II) ou o oligoastrocitoma anaplásico (Grau III), que apesar de estarem na categoria dos

oligodendrogliomas, é um glioma misto e tem origem em astrócitos e oligodendrócitos. Estima-se que sejam entre 5 a 10% de todos os gliomas.

- **Glioma do nervo óptico** – o glioma do nervo óptico é maligno e é o tumor que se desenvolve no quiasma óptico. Estes tumores estão associados a pacientes com neurofibromatose.

(Cassidy, Bissett, & OBE, 2002) (Gupta, Barnejee, & Hass-Kogan, 2010) (Tonn, westphal, & Rutka, 2010) (Medicine).

Capítulo 2 – Materiais e Métodos

2.1 – Amostra

2.2 – Aquisição de Imagem

2.3 – Análise de Imagens/Espectros

2.4 – Análise Estatística

2 Materiais e Métodos

2.1 – Amostra

Talvez o maior obstáculo na realização deste estudo tenha sido a escassa amostra. Inicialmente não havia noção de um valor concreto, possível, para a realização do estudo e na apresentação da metodologia referiu-se que uma amostra aceitável seria de 20 pacientes. Quando houve acesso à lista de pacientes esta contava apenas 5 pacientes passíveis de participarem no estudo. Existiam outros pacientes mas estes tinham realizado os exames antes de existir suporte digital, PACS, não havendo portanto registo digital dos mesmos. Os critérios para a selecção dos pacientes foram:

- Biópsia: Paciente com biópsia que comprove tipo histológico tumoral (glioma);
- Idade: Estudo pediátrico engloba todos os pacientes dos 0 aos 18 anos de idade;
- Tumor primário: Não se estudam metástases, devido às características tumorais da célula de origem (diferente das células da glia);

Assim sendo, este estudo foi realizado numa amostra de 5 pacientes com glioma (5 crianças do sexo masculino com uma média de idades: 9 ± 5 anos).

Paciente	Idade	Tipo de Glioma
Paciente A	11 Anos	Glioblastoma (Grau IV OMS)
Paciente B	11 Anos	Glioblastoma com componente oligodendroglial (Grau IV OMS)
Paciente C	15 Anos	Glioblastoma (Grau IV OMS)
Paciente D	5 Anos	Astrócitoma Anaplásico (Grau III OMS)
Paciente E	3 Anos	Astrócitoma Anaplásico (Grau III OMS)

Tabela 1 – Caracterização da amostra estudada

2.2 – Aquisição de Imagem

As imagens foram adquiridas num scanner Siemens de 1,5 T e a sequência base usada é uma Spin Eco Multi-Voxel 3D (Chemical Shift Imaging) com um tempo de

repetição de 1500 ms e um tempo de eco de 135 ms. O protocolo do exame completo passou por se adquirir imagens em sagital T1, axial T2, difusão, T1 com gadolínio, em alguns casos perfusão e, por fim, espectroscopia. A aquisição de outros cortes anatómicos ficou ao critério do médico radiologista, uma vez que estes dependem de uma avaliação da patologia por parte do mesmo.

2.3 – Análise das Imagens/Espectros

A avaliação dos espectros foi feita através de rácios metabólicos. Os sinais em RM tanto variam de indivíduo para indivíduo como podem variar para o mesmo indivíduo em equipamentos diferentes e até mesmo no mesmo indivíduo, no mesmo equipamento, em sessões diferentes. Desta maneira, a avaliação por rácios metabólicos elimina o efeito destas variações, fazendo-se assim quantificação metabólica dita relativa. Em alternativa, quando se utiliza uma referência externa (rara no estudo do crânio, mas frequente em espectroscopia da mama), é possível determinar a concentração dos metabolitos no tecido, numa abordagem que se designa quantificação absoluta.

Em 3 dos 5 pacientes existiam voxels avaliados em zonas saudáveis do cérebro. Nestes casos determinam-se os valores de rácios médios, sendo estes posteriormente usados para comparação com os rácios obtidos em voxels situados em lesões. Para os restantes pacientes que não tinham voxels em zonas saudáveis, encontrar valores de referência foi um problema. Apesar de haver alguma literatura, os valores que estes indicavam não eram passíveis de serem utilizados como referência. Em alguns casos existia o problema das unidades, onde não havia uma razão para estabelecer relação com os pacientes deste estudo. Noutros era as idades das amostras que não coincidiam com as dos pacientes deste estudo (Krois, Hofmann, Kuhlmann, Boosch, Bossi, & Huppi, 2002). A solução passou por utilizar os valores de referência de outros pacientes da amostra, com idade mais aproximada. Os pacientes B e E não tinham voxels colocados em zonas não patológicas. Para o paciente B utilizou-se os valores de referência do paciente A, pois ambos tinham 11 anos. Para o paciente E (3 anos), utilizou-se os valores de referência do paciente D (5 anos).

Devido ao facto de alguns espectros não incluírem a quantificação relativa do pico de lactato, quando este existia, teve que se proceder ao cálculo do mesmo.

Em cada espectro sem quantificação do lactato, para cada metabolito, dividiu-se a quantificação relativa pela área por baixo do pico. Depois de termos a razão para cada metabolito, calculou-se a média entre as razões. Depois, utilizando o software Autocad, abrimos as imagens de cada espectro, em jpeg, e medimos a área por baixo do pico de lactato. Depois de calculada a área do pico de lactato, multiplicamos a mesma pela razão do espectro (média das razões dos vários picos metabólicos de cada espectro). Desta maneira obtivemos a quantificação relativa para os picos de lactato.

A avaliação dos rácios foi feita criteriosamente segundo a zona da colocação dos voxéis. Na maioria dos exames, consideraram-se 4 zonas distintas: zona saudável, zona central tumoral, zona intermédia tumoral e zona periférica tumoral.

Zona saudável (□): o ideal seria a selecção de um voxel, em zona saudável, simétrico, ou seja, no hemisfério contra lateral, relativamente a cada voxel colocado sobre a patologia;

Zona Central Tumoral (□): falamos da região mais central do tumor, não muito extensa (pois quanto mais nos afastamos do centro, menor será a probabilidade de incluirmos tecido necrótico no voxel, caso este exista);

Zona Intermédia Tumoral (□): qualquer tecido tumoral que não seja considerado tecido central ou tecido periférico;

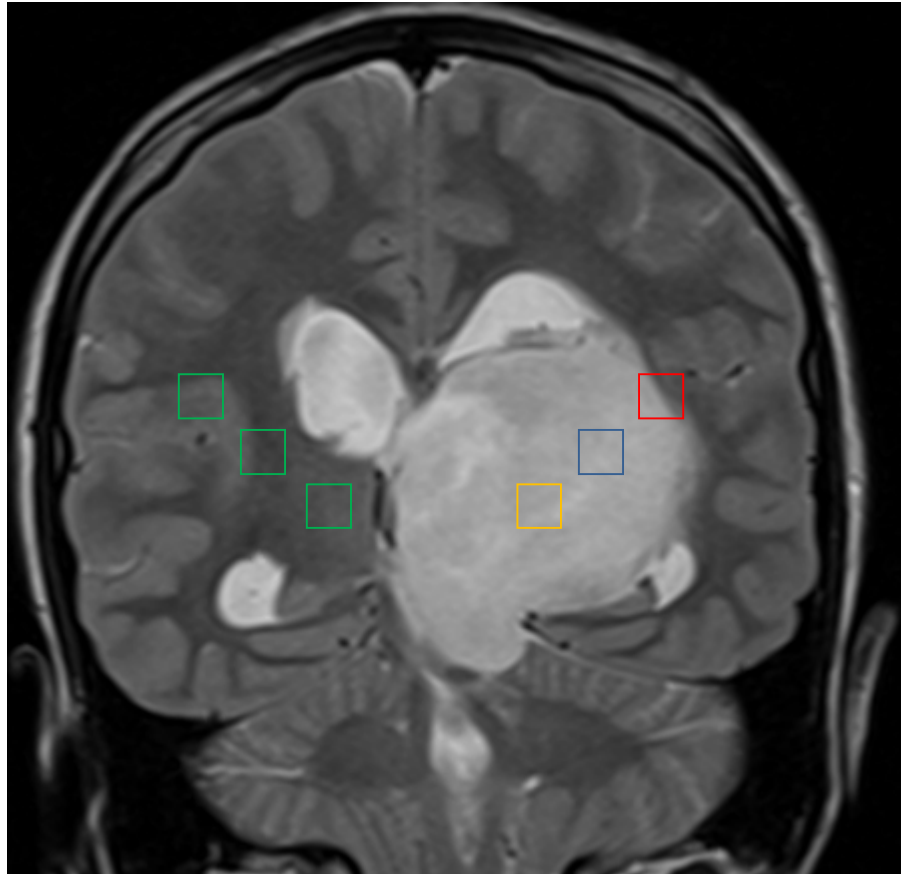


Figura 21 – Figura ilustrativa da colocação dos voxéis

Zona Periférica Tumoral (□): tecido tumoral periférico, assim como fronteira tumor-tecido saudável.

2.4 – Análise Estatística

A principal consequência da pequena amostra foi a alteração da avaliação dos espectros, o que levou a uma avaliação por região dos voxéis. Desta maneira, a amostra para tratamento estatístico deixa de ser de apenas 5 pacientes, para ser o número de voxéis existentes para cada zona de colocação dos voxéis. Também o facto de não haver uma relação na colocação dos voxéis nos diferentes exames dificultou a avaliação em conjunto dos dados.

A amostra foi analisada comparando-se os rácios metabólicos de todos os pacientes relativamente às posições dos voxels na patologia, com referência a voxels em zonas saudáveis. Para esta avaliação utilizou-se testes não paramétricos (teste de Mann-Whitney), devido à pequena amostra existente.

Foram ainda utilizados gráficos boxplot para uma melhor demonstração da estatística dos valores obtidos.

Capítulo 3 – Resultados

3.1 – Paciente A – E

3.2 – Estadística

Resultados

3.1.1 – Paciente A

Paciente A realizou o exame quando tinha 11 anos de idade. Glioma situava-se na zona cortical do lobo parietal direito e segundo a biópsia tratava-se de um glioblastoma (grau IV OMS).

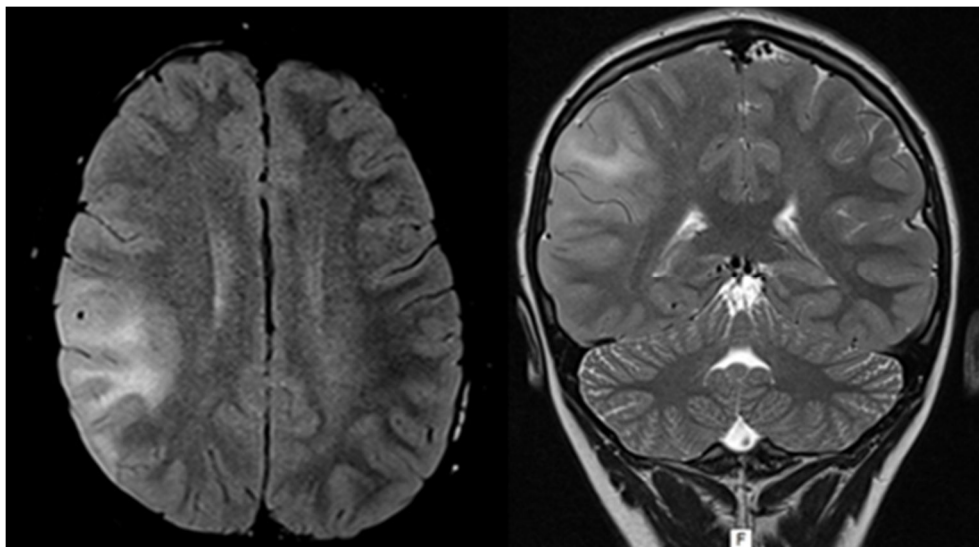


Figura 22 – Cortes axial e coronal, respectivamente, do exame do paciente A

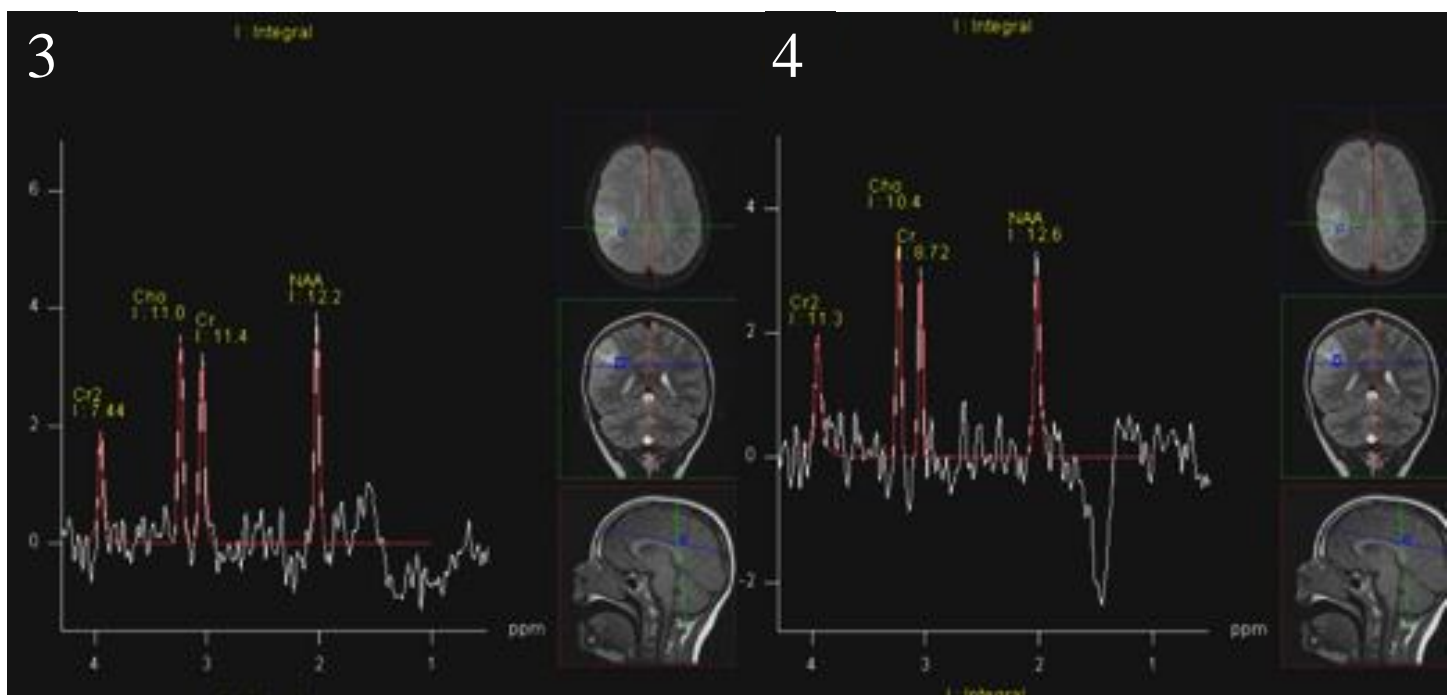


Figura 23 – Espectros dos voxéis 3 e 4 do exame do paciente A

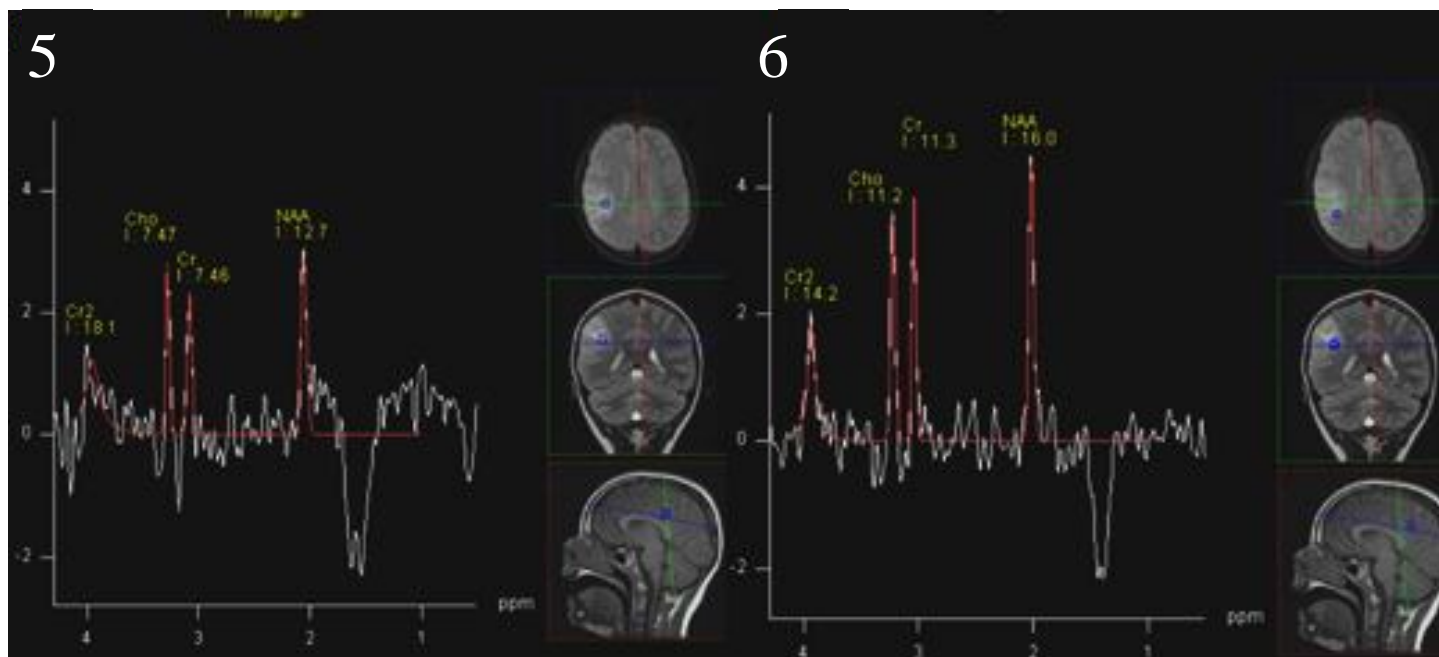


Figura 24 – Espectros dos voxels 5 e 6 do exame do paciente A

Voxel	NAA/Cho		NAA/(Cr+Cho)		Lac/Cr		NAA/Cr		Cho/Cr			
	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico		
3º Voxel	3,04	1,11	1,35	0,54	0,00	0,00	2,44	1,07	0,82	0,96		
4º Voxel		1,21		0,66						3,50	1,44	1,19
5º Voxel		1,70		0,85						3,93	1,70	1,00
6º Voxel		1,43		0,71						1,75	1,42	0,99

	Voxel Periferia
	Voxel Central
	Voxel Intermedio

Tabela 2 – Tabela dos rácios do exame do paciente A (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).

Em todos os voxels se registou uma diminuição no rácio NAA/Cho. Também no rácio NAA/(Cr+Cho) se verificou uma redução em todos os voxels. Já no rácio Lac/Cr houve um aumento em 3 dos 4 voxels, sendo que no 3º não houve tradução do rácio em causa. Em último, o rácio NAA/Cr, todos os voxels registaram uma diminuição do valor deste rácio. Quanto ao rácio Cho/Cr este registou um aumento em todos os voxels.

3.1.2 – Paciente B

Paciente B, 11 anos de idade, glioma situava-se entre os lobos parietal e temporal esquerdos e o resultado da biópsia indicava glioma misto: glioblastoma com componente oligodendroglial (Grau IV OMS).

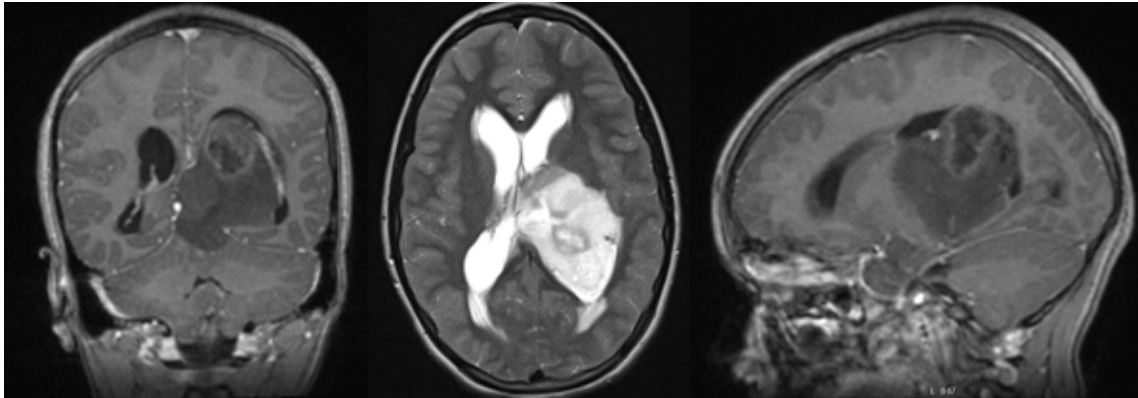


Figura 25 – Cortes coronal, axial e sagital, respectivamente, do exame do paciente B

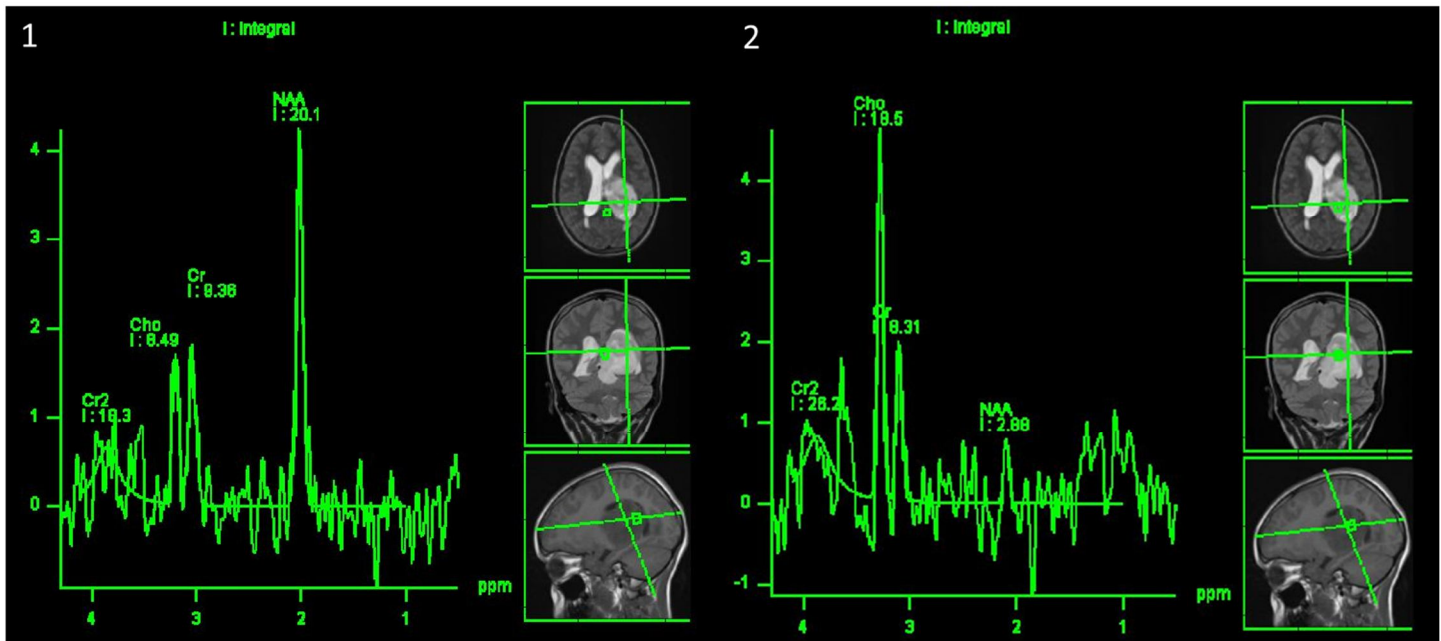


Figura 26 – Espectros dos voxels 1 e 2 do exame do paciente B

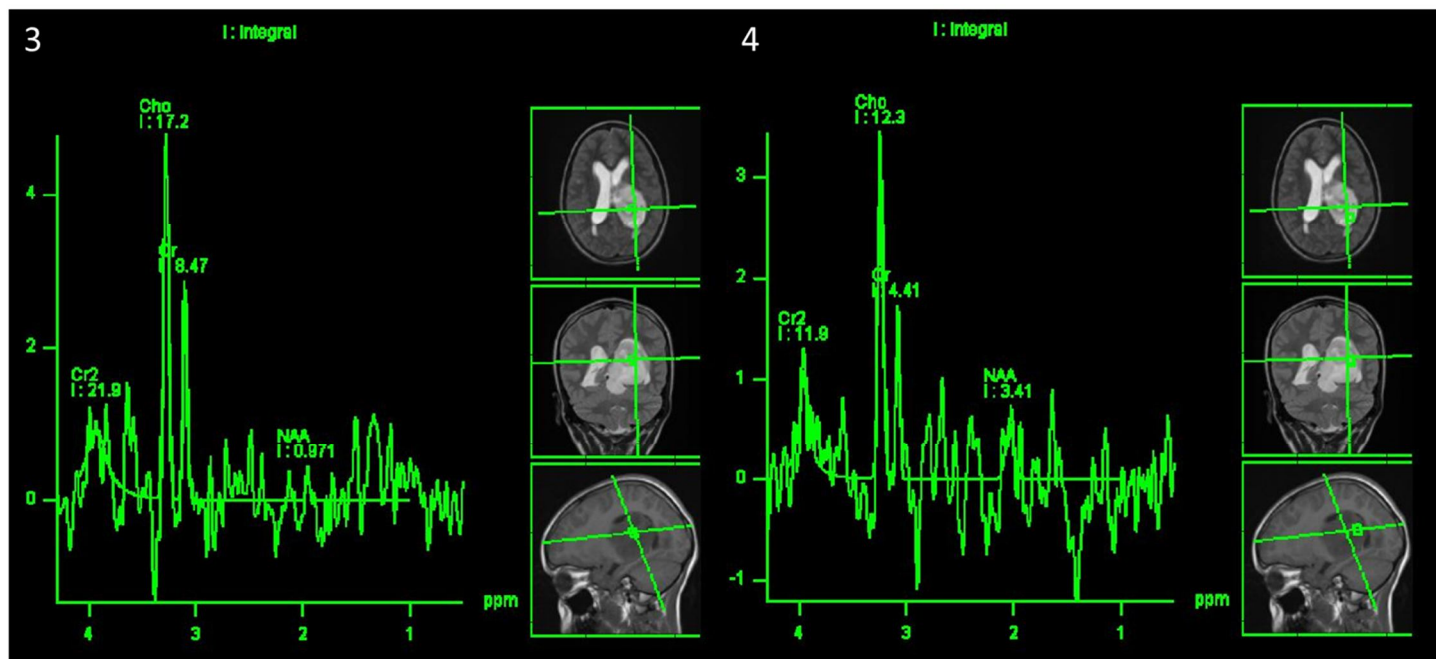


Figura 28 – Espectros dos voxels 3 e 4 do exame do paciente B

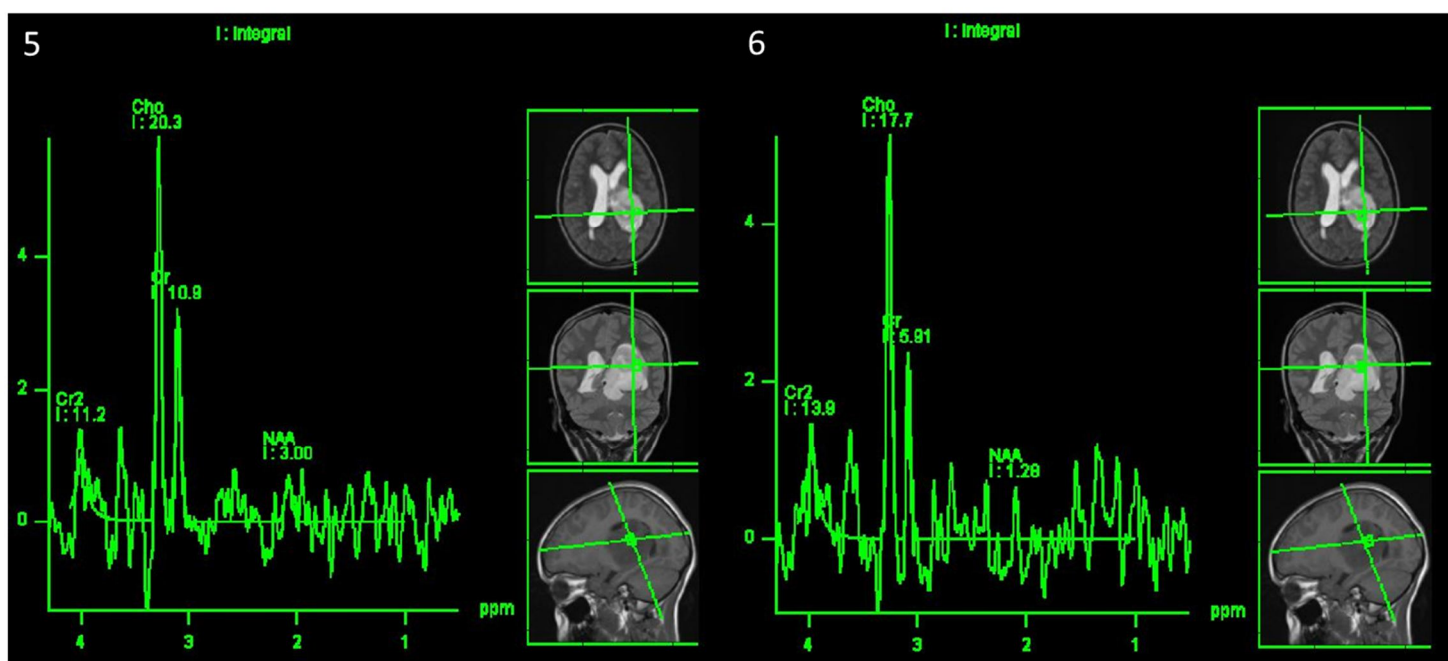


Figura 27 – Espectros dos voxels 5 e 6 do exame do paciente B

Voxel	NAA/Cho		NAA/(Cr+Cho)		Lac/Cr		NAA/Cr		Cho/Cr		
	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	
1º Voxel	3,04	2,37	1,35	1,13	0,00	0,00	2,44	2,15	0,82	0,91	
2º Voxel		0,16		0,11				0,00		0,35	2,23
3º Voxel		0,06		0,04				0,00		0,11	2,03
4º Voxel		0,28		0,20				2,65		0,77	2,79
5º Voxel		0,15		0,10				0,00		0,28	1,86
6º Voxel		0,07		0,05				0,00		0,22	2,99

	Voxel Periferia
	Voxel Central
	Voxel Intermedio

Tabela 3 – Tabela dos rácios do exame do paciente B (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).

Em todos os voxéis se observou que os rácios NAA/Cho, NAA/(Cr+Cho) e NAA/Cr se apresentavam diminuídos relativamente aos valores de referência. Pelo contrário, no rácio Cho/Cr em todos os voxéis se verificou um aumento. No rácio Lac/Cr apenas um voxel registou um aumento, tendo os restantes mantendo-se nulos.

3.1.3 – Paciente C

Paciente C, realizou exame quando tinha 15 anos de idade. Glioma situava-se entre os lobos parietal e temporal esquerdos e o resultado da biópsia indicava glioma misto: glioblastoma com componente oligodendroglial (Grau IV OMS).

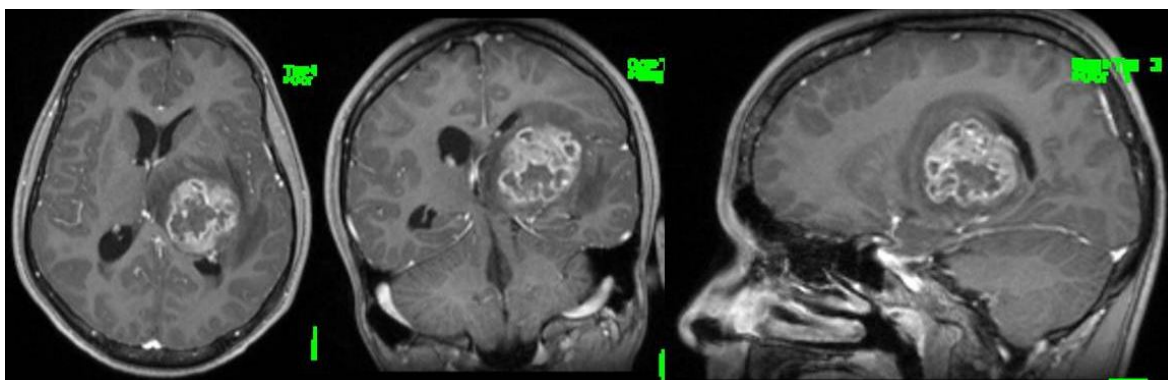


Figura 29 – Cortes axial, coronal e sagital, respectivamente, do exame do paciente C

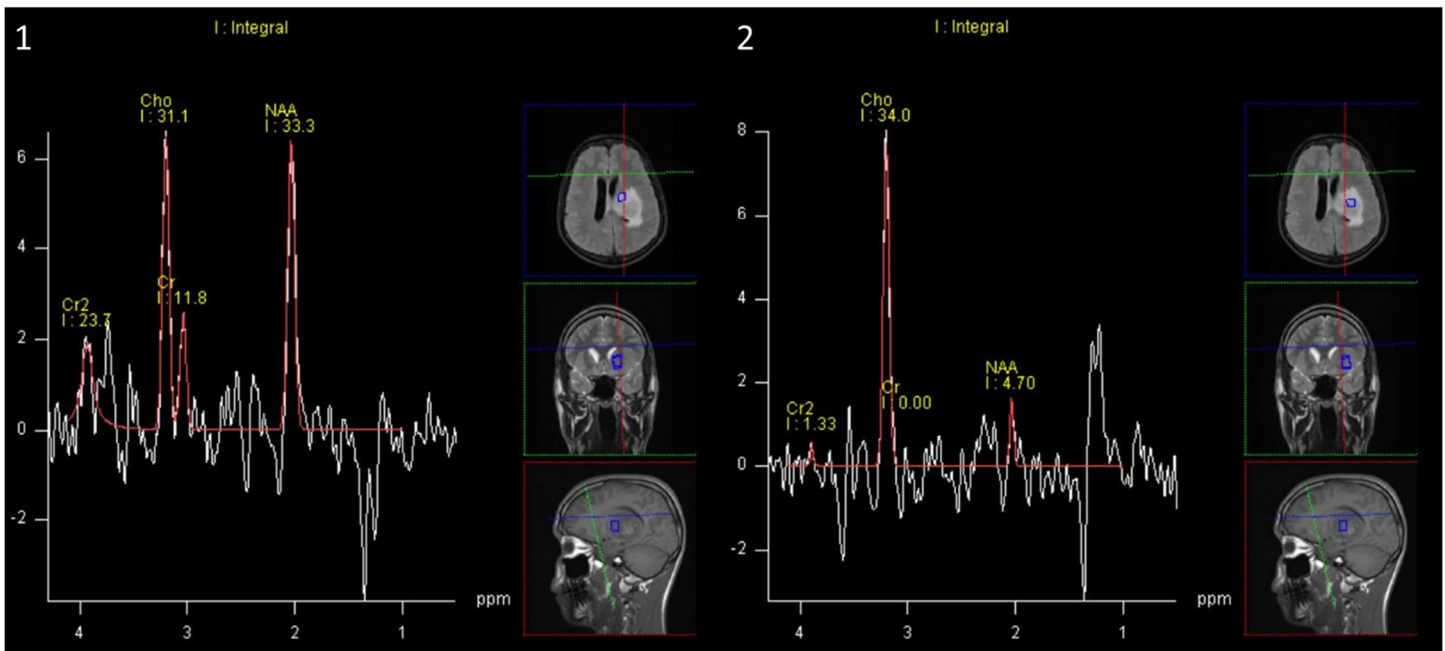


Figura 31 – Voxeis 1 e 2 do exame do paciente C

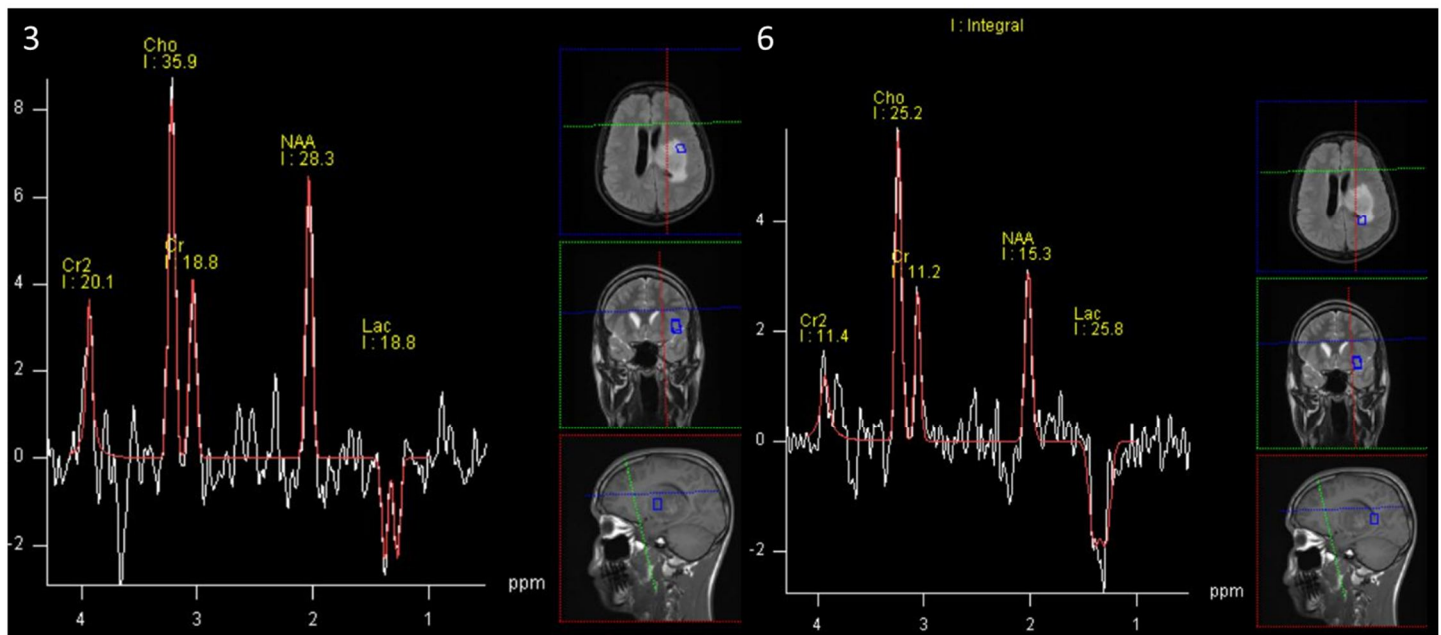


Figura 30 – Voxeis 3 e 6 do exame do paciente C

Voxel	NAA/Cho		NAA/(Cr+Cho)		Lac/Cr		NAA/Cr		Cho/Cr	
	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico
1° Voxel	1,64	1,07	0,84	0,78	0,05	2,99	1,74	2,82	1,06	2,64
2° Voxel*		n.d		0,14		n.d		n.d		
3° Voxel		0,79		0,52		1,00		1,51		1,91
6° Voxel		0,61		0,42		2,30		1,37		2,25

	Voxel Periferia
	Voxel Central
	Voxel Intermedio

Tabela 4 – Tabelas dos rácios do exame do paciente C (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).

Em todos os voxéis se verificou uma diminuição dos rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho). Já nos rácios Lac/Cr e Cho/Cr houve um aumento. No rácio NAA/Cr em dois dos voxéis houve uma diminuição.

3.1.4 – Paciente D

Paciente D tinha 7 anos quando realizou o exame. Glioma situava-se na protuberância anular e o resultado da biópsia foi Astrócitoma Anaplásico (Grau III OMS).

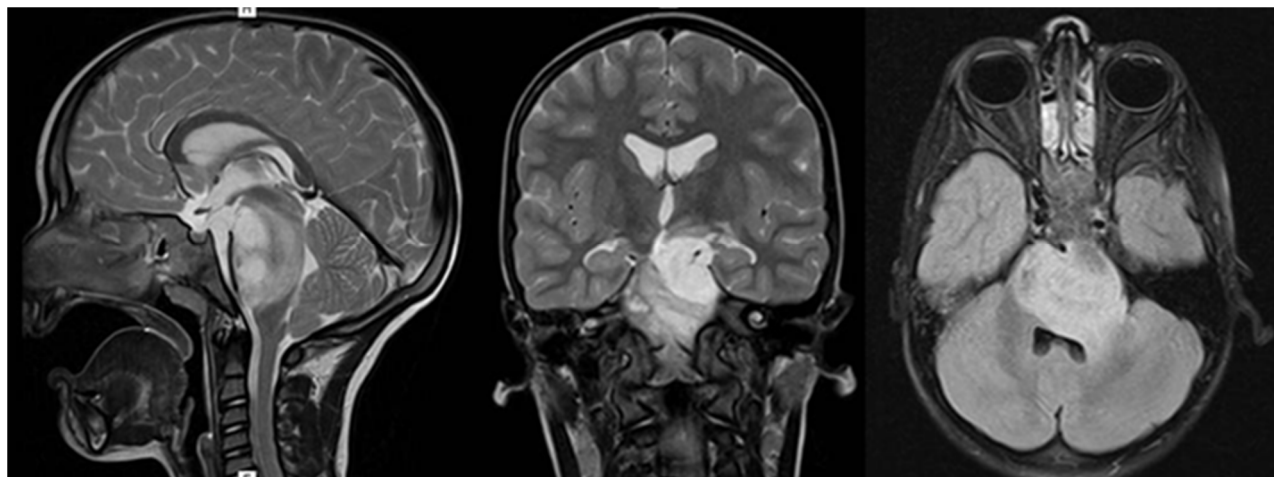


Figura 32 – Cortes sagital, coronal e axial, respectivamente, do exame do paciente D

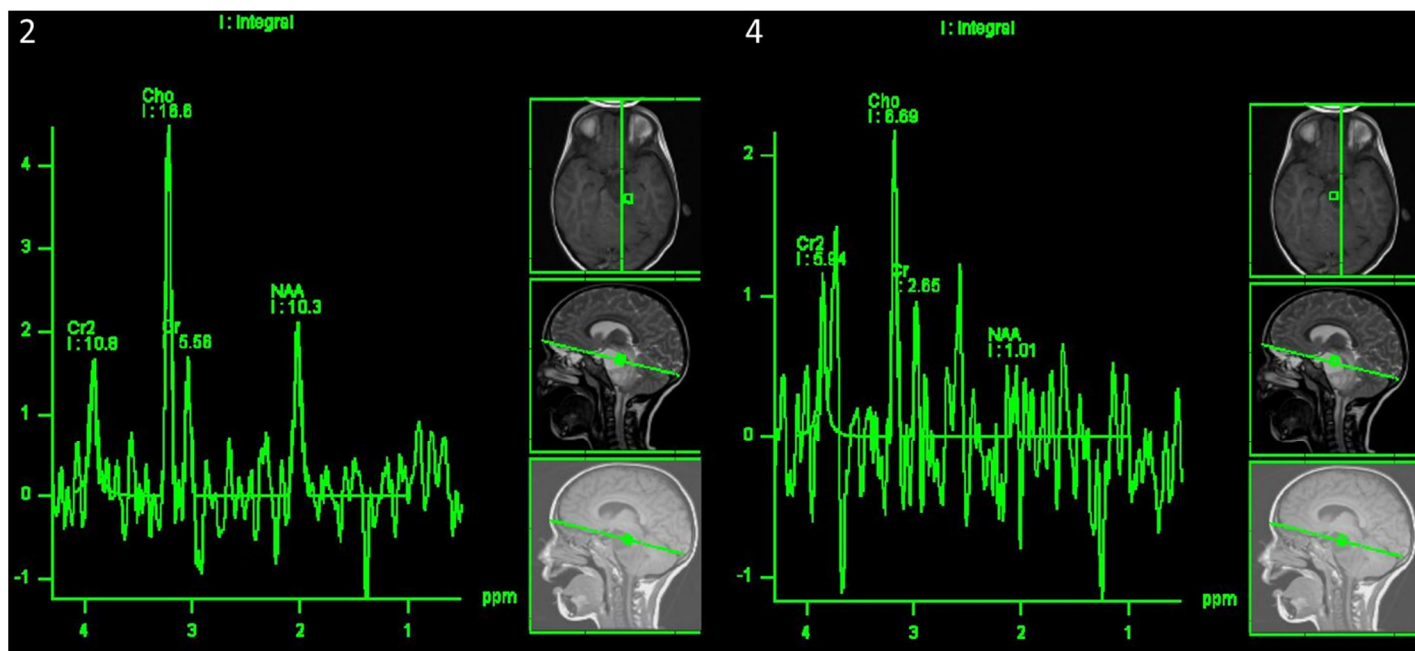


Figura 33 – Espectros dos voxéis 2 e 4 do exame do paciente D

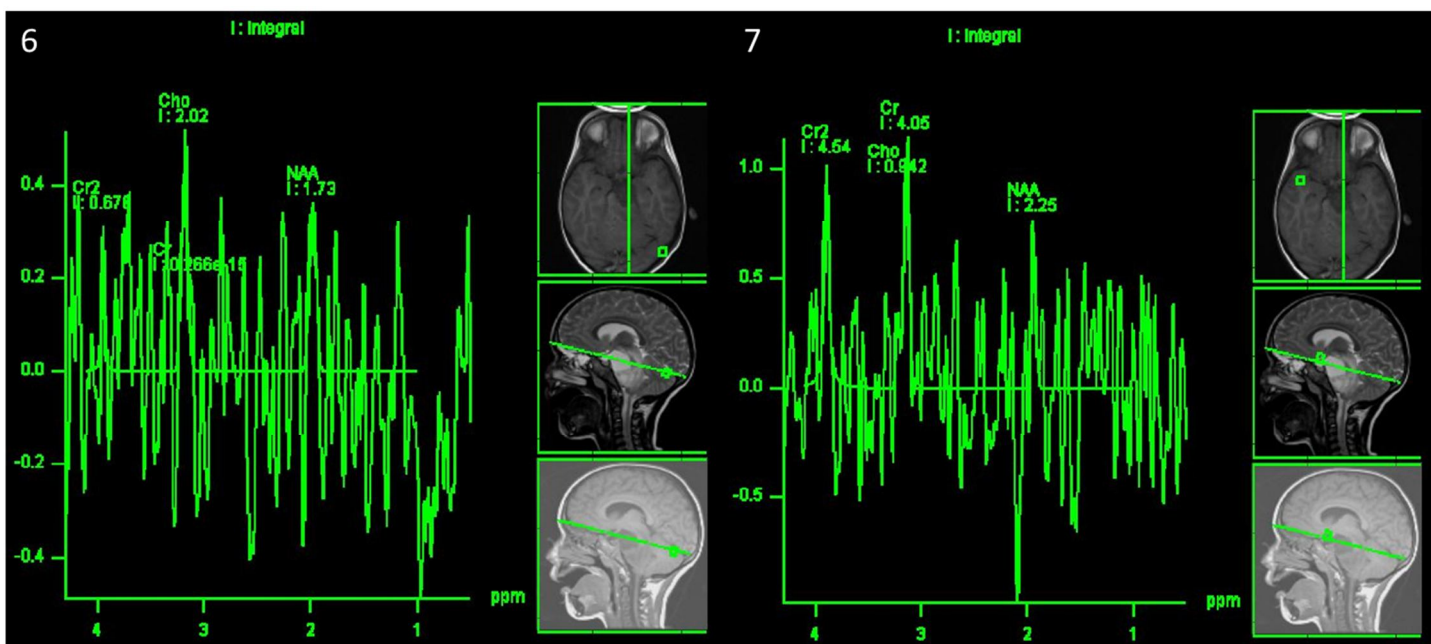


Figura 34 – Espectros dos voxéis 6 e 7 do exame do paciente D

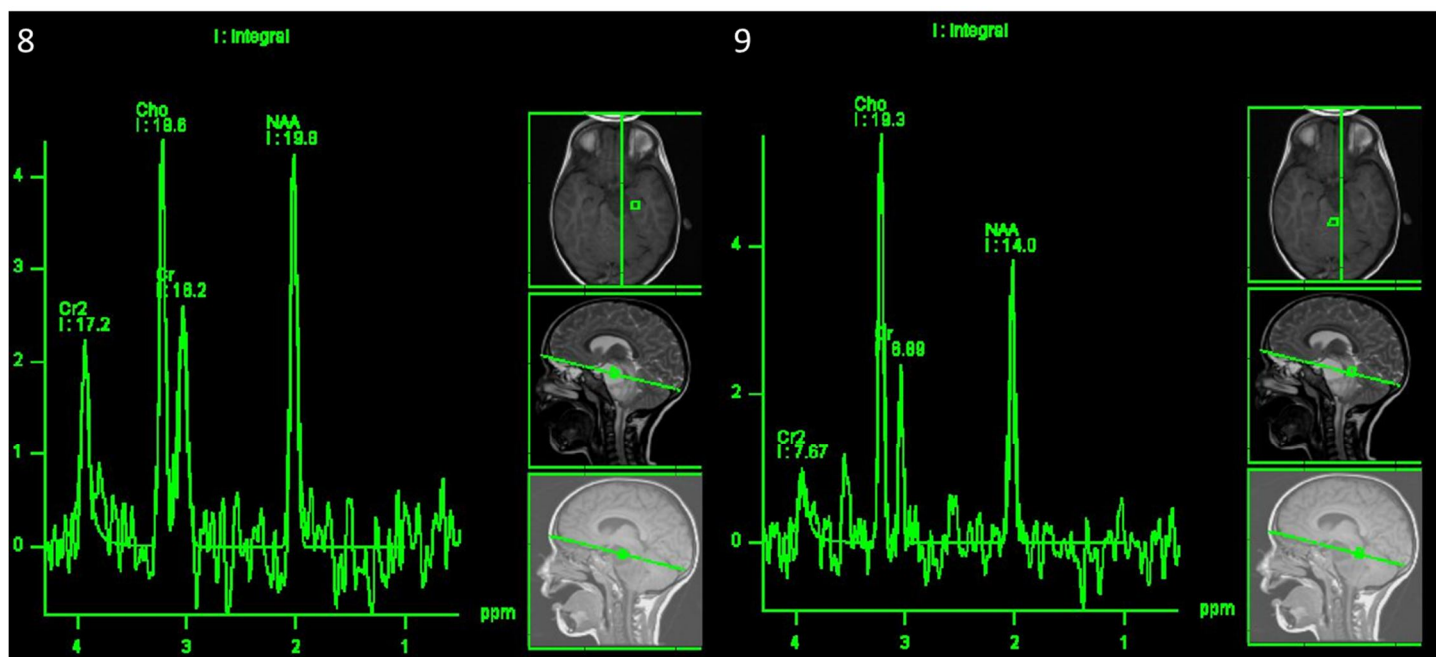


Figura 35 – Espectros dos voxels 8 e 9 do exame do paciente D

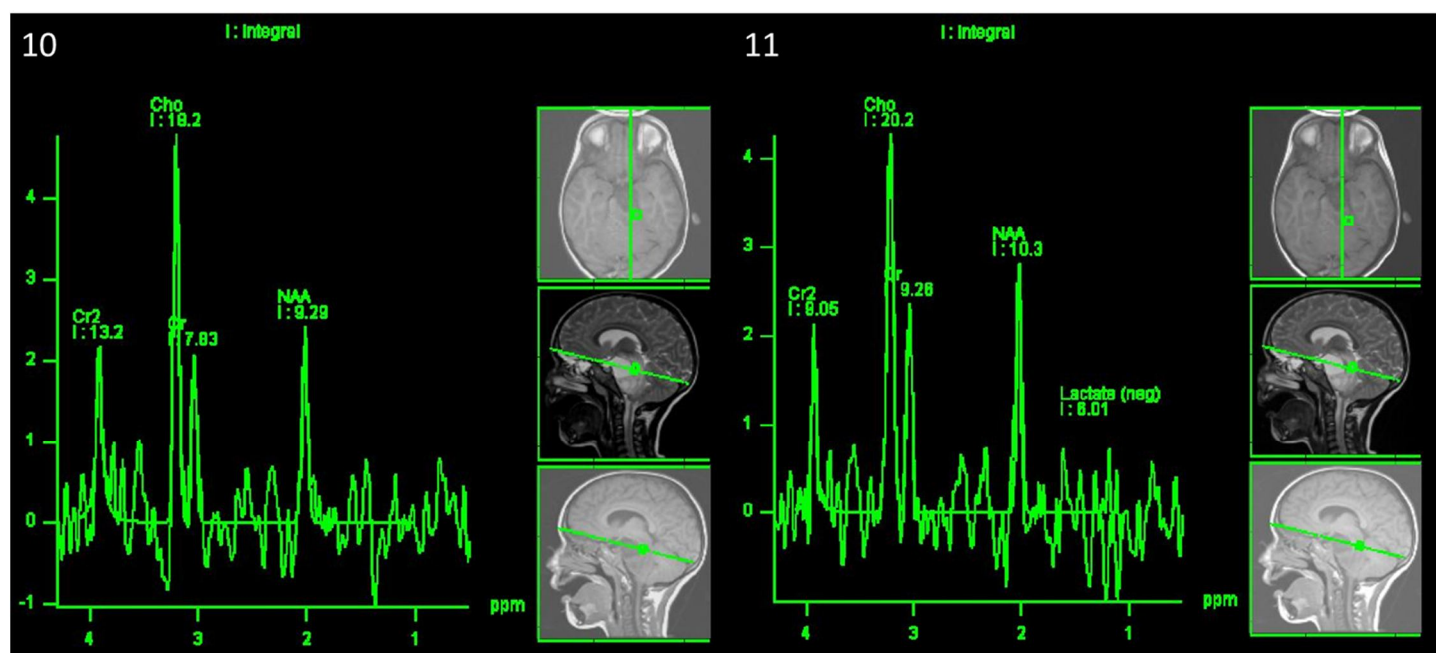


Figura 36 – Espectros dos voxels 10 e 11 do exame do paciente D

Voxel	NAA/Cho		NAA/(Cr+Cho)		Lac/Cr		NAA/Cr		Cho/Cr	
	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico
2º Voxel	2,09	0,62	0,88	0,46	0,00	0,96	1,52	1,85	0,73	2,99
4º Voxel		0,15		0,11		4,14		0,38		2,52
7º Voxel		2,39		0,45		0,00		0,56		0,23
8º Voxel		1,06		0,54		0,00		1,09		1,02
9º Voxel		0,73		0,53		0,00		2,03		2,80
10º Voxel		0,51		0,36		0,56		1,19		2,32
11º Voxel		0,51		0,35		0,65		1,11		2,18

	Voxel Periferia
	Voxel Central
	Voxel Intermédio

Tabela 5 – Tabela dos rácios do exame do paciente D (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).

A par do que se verificou nos casos anteriores, também em todos os voxéis, nos rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho) se verificou um aumento. No rácio Lac/Cr houve um aumento em grande parte dos voxéis, enquanto os restantes mantiveram-se nulos. No rácio NAA/Cr apenas dois voxéis aumentaram, enquanto no rácio Cho/Cr apenas um diminuiu.

3.1.5 – Paciente E

O paciente E tinha, na altura em que realizou o exame, 3 anos. O glioma situava-se no tronco encefálico, mais precisamente na protuberância anular. O resultado da biópsia indicou astrócitoma anaplásico (grau III OMS).

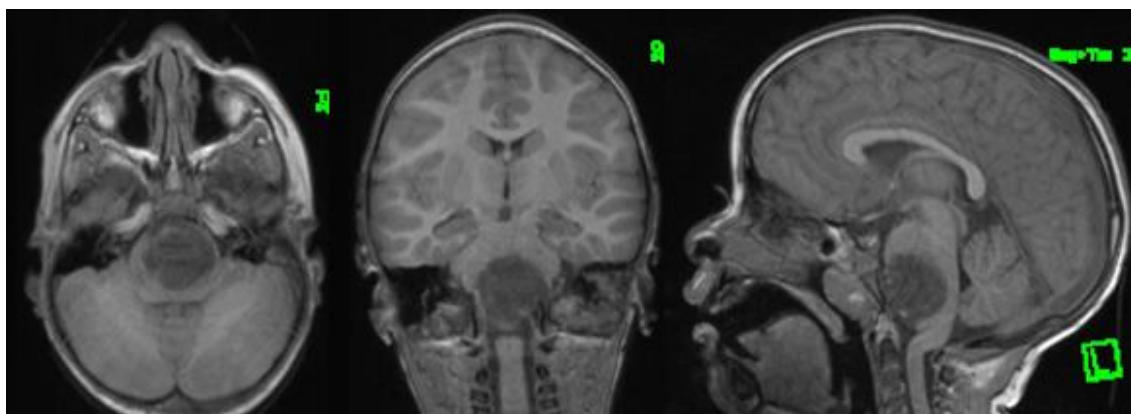


Figura 37 – Cortes axial, coronal e sagital, respectivamente, do exame do paciente E

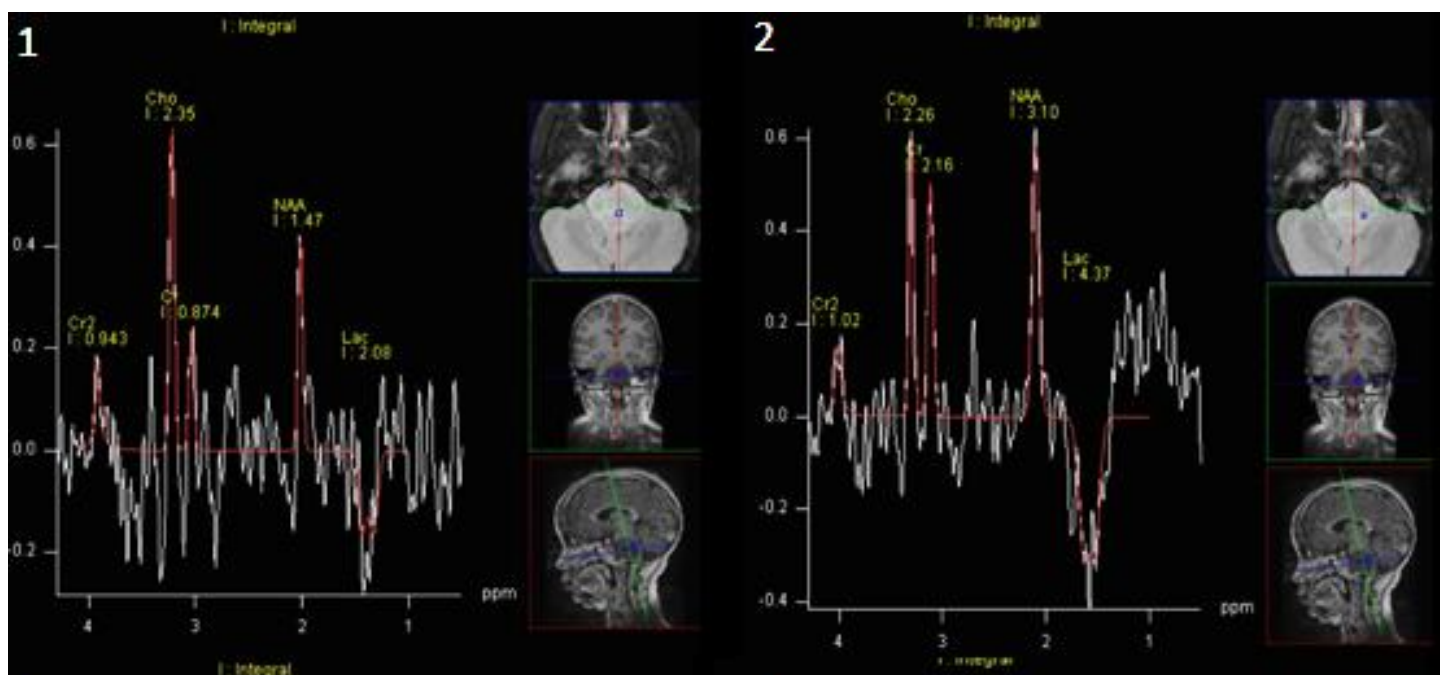


Figura 38 – Espectros dos voxéis 1 e 2 do exame do paciente E

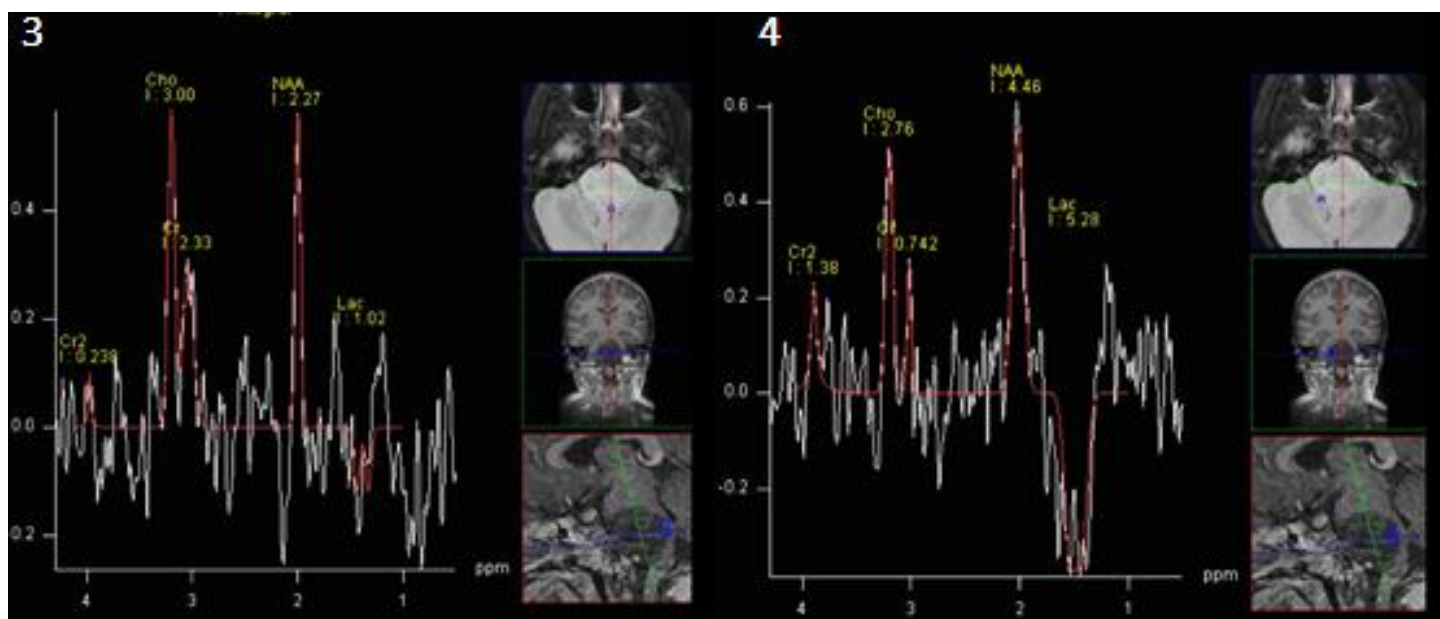


Figura 39 – Espectros dos voxéis 3 e 4 do exame do paciente E

Voxel	NAA/Cho		NAA/(Cr+Cho)		Lac/Cr		NAA/Cr		Cho/Cr		
	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	Referência	Patológico	
1º Voxel	2,09	0,63	0,88	0,46	0,00	2,39	1,52	1,69	0,73	2,70	
2º Voxel		1,37		0,70				2,02		1,44	1,05
3º Voxel		0,76		0,43				0,44		0,97	1,29
4º Voxel		1,62		1,27				7,12		6,01	3,73

	Voxel Periferia
	Voxel Central
	Voxel Intermedio

Tabela 6 – Tabela dos rácios do exame do paciente E (referência diz respeito aos valores metabólicos obtidos em parênquima saudável).

Em todos os voxels o rácio NAA/Cho diminuiu. O rácio NAA/(Cr+Cho) apenas um voxel diminuiu enquanto no Lac/Cr todos aumentaram. No rácio NAA/Cr dois dos voxels diminuiram e no rácio Cho/Cr todos aumentaram.

3.2 – Estatística

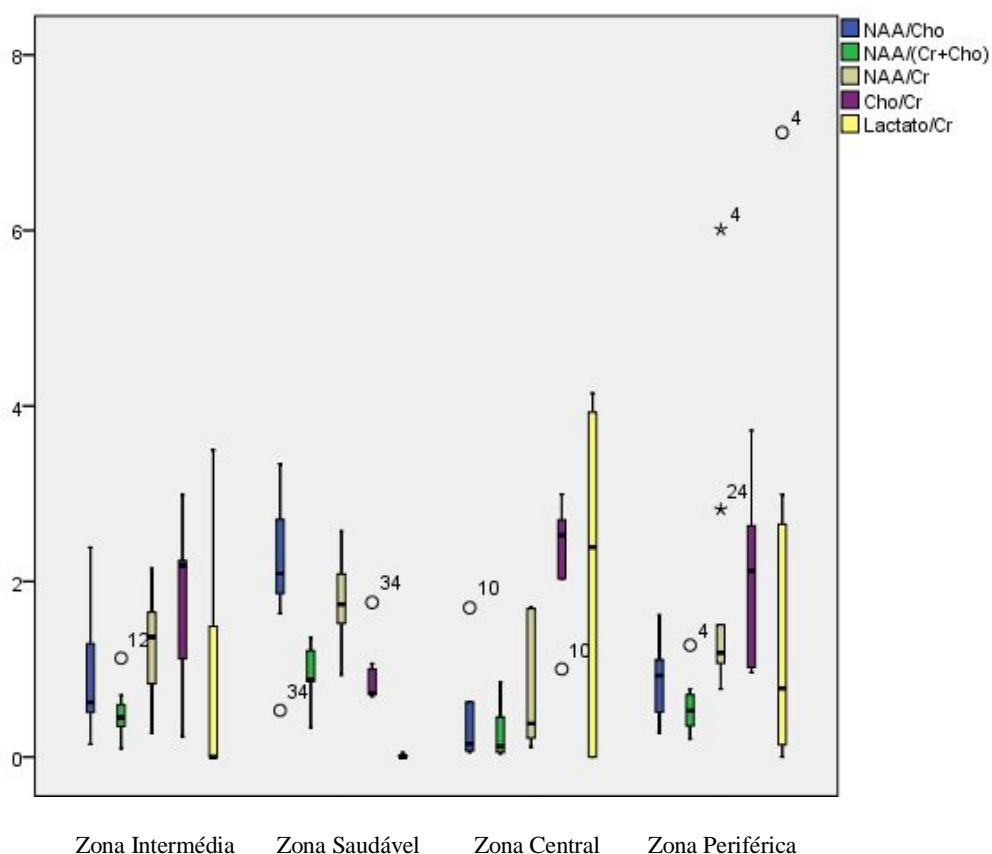


Figura 40 – Gráfico boxplot mostra os valores dos rácios de todos os pacientes, por zona de colocação dos voxels.

O gráfico boxplot demonstra a distribuição de todos os valores dos rácios metabólicos, de todos os pacientes, por zona de colocação dos voxels.

No primeiro gráfico podemos ver que na zona intermédia obtemos valores relativamente aproximados (em comparação com os restantes). Especial atenção para o Lac/Cr em que a mediana se encontra no valor 0. Na zona saudável observamos grandes diferenças na distribuição entre os diferentes rácios. Já na zona central podemos ver que houve uma grande variedade de valores no rácio Lac/Cr. Também em na zona periférica houve uma grande variedade no rácio Lac/Cr mas, nesta última, a mediana foi mais baixa.

O teste de Mann-Whitney é um teste não paramétrico, alternativo ao t-Student, em que se compara as médias de duas amostras independentes):

	NAA/Cho	NAA/(Cr+Cho)	Lac/Cr	NAA/Cr	Cho/Cr
Saudável/Central	0.018	0.008	0.202	0.073	0.010
Saudável/Periférica	0.005	0.033	0.010	0.193	0.005
Intermédia/Saudável	0.020	0.020	0.328	0.085	0.20
Intermédia/Central	0.221	0.216	0.267	0.320	0.377
Central/Periférica	0.165	0.073	0.859	0.310	0.513
Intermédia/Periférica	0.605	0.349	0.282	0.863	0.654

Tabela 7 – Tabela com os valores de p do teste Mann-Whitney

Capítulo 4 – Discussão

Discussão

Na avaliação espectroscópica dos gliomas, os seguintes rácios indicam:

N-Acetilaspártato/Creatina (NAA/Cr) – este rácio apresenta-se diminuído na presença de neoplasia. Isto porque existe um declínio estatisticamente significativo na intensidade de sinal do NAA que se correlaciona inversamente com o grau de malignidade do tumor. Apesar de haver dano neuronal por toda a região tumoral é no seu centro que se espera que a concentração de NAA diminua mais significativamente, em particular no caso da existência de necrose (ver abaixo);

N-Acetilaspártato/(Creatina+Colina) (NAA/(Cr+Cho)) – quando não existe uma boa distinção entre os picos das concentrações de Cr e Cho, o rácio em causa garante-nos alguma segurança;

Lactato/Creatina (Lac/Cr) – este rácio é nulo em condições saudáveis, e espera-se que aumente significativamente em zonas de suposta necrose. Como já foi referido anteriormente, a malignidade tumoral está associada ao comportamento do tumor. Quanto mais agressivo for o tumor, mais maligno é. Quando este cresce rapidamente, destrói os tecidos saudáveis adjacentes. Devido ao seu rápido crescimento, o tumor vai ter uma actividade metabólica bastante elevada. O que leva a um défice no aporte sanguíneo nas zonas mais centrais do tumor, causando falência nessas zonas. Quando isto se verifica, duas situações podem acontecer: a zona em falência não consegue fornecimento para as suas necessidades metabólicas e devido a hipoxia, os tecidos necrosam ou, deparando-se com este défice metabólico, as células conseguem realizar metabolismo anaeróbio (produção de ATP sem recurso a oxigénio). Quando se verifica o primeiro caso, é suposto a concentração de todos os metabolitos baixar, isto porque na presença de necrose é suposto não haver nada. Já no segundo caso, as células vão produzir ATP através de glicose. Vão resultar resíduos desta reacção, duas moléculas de água e outras duas de ácido láctico. O lactato é a forma ionizada do ácido láctico (Rocha, 2011);

N-Acetilaspártato/Colina (NAA/Cho) – este rácio mostra a relação entre a densidade neuronal e a capacidade de proliferação celular do tumor. Reduções acentuadas no valor do rácio podem sugerir dano neuronal associado a alta capacidade de multiplicação celular;

Colina/Creatina (Cho/Cr) – tem especial importância pois é um marcador de malignidade. Valores elevados deste rácio estão associados à capacidade de rápido crescimento do tumor. Isto porque a colina está presente na estrutura das membranas celulares (fosfatidilcolina) e a proliferação celular desregulada é característica de células neoplásicas. A concentração de Colina num espectro é dada por vários metabolitos, todos eles desempenham funções centrais no metabolismo fosfolipídico das membranas celulares. Demonstrou-se em alguns estudos que existe uma correlação directa entre a intensidade de sinal da Colina ou o rácio Colina/Creatina e o grau de malignidade dos gliomas, tendo este facto sido associado ao elevado *turnover* das membranas celulares (Azevedo, 2005) (Joana Graça, 2003). A avaliação do rácio Cho/Cr é, essencialmente, pertinente à periferia.

Gráficos Boxplot:

Zona Saudável – a distribuição de valores está de acordo com o esperado. Os valores do rácio NAA/Cho estão muito elevados sugerindo normalidade nas concentrações de NAA e Cho. Quanto ao rácio NAA/(Cr+Cho) não há muito a dizer, este apresenta-se com valores mais baixos que o NAA/(Cho), o normal devido à soma das concentrações da Cho e Cr. Os valores do rácio Lac/Cr encontram-se no 0, estando de acordo com a literatura, em tecidos saudáveis os níveis de lactato são praticamente nulos. Quanto ao rácio NAA/Cr este também apresenta valores elevados, como esperado, contudo estes deveriam ser mais elevados que os valores de NAA/Cho, uma vez que em condições saudáveis a Cho apresenta maiores concentrações que a Cr. Relativamente aos valores do rácio Cho/Cr, estes também estão dentro do esperado, apesar de, como disse anteriormente, a Cho apresentar maiores concentrações que a Cr, a diferença não é assim tão expressiva;

Zona Central – os valores dos rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho) sugerem a existência de necrose. Ambos os rácios apresentaram uma mediana próxima de 0. Os

valores sugerem também a produção de lactato. A mediana dos valores do rácio Lac/Cr é significativamente alta, sendo a mais alta de todas as zonas de colocação dos voxéis. Já para o rácio NAA/Cr, a mediana foi o esperado. Talvez a maior incongruência da avaliação em zona central tenha sido os valores do rácio Cho/Cr, que de facto, não correspondem ao esperado. Isto porque a multiplicação celular, em zona central, está em causa devido ao insuficiente aporte sanguíneo. Contudo este facto sugere a realização de metabolismo anaeróbio, evitando a necrose dos tecidos.

Zona Periférica – A distribuição dos valores dos rácios nos voxéis periféricos não foi a esperada. Devido ao turnover das membranas celulares esperávamos valores do rácio de NAA/Cho mais baixos, como aconteceu na distribuição dos valores dos rácios nos voxéis centrais. Também se esperava uma distribuição de valores de NAA/(Cr+Cho) mais alta, pela mesma razão que no caso do rácio NAA/Cho. Outro facto do qual não se esperava é a presença de lactato. A existência de lactato à periferia é uma incógnita pois não é suposto haver falta de aporte sanguíneo à periferia. Já o rácio NAA/Cr apresenta-se como esperado. Relativamente aos valores do rácio Cho/Cr, estes apresentam-se como esperado. Devido ao turnover das membranas celulares esperávamos um aumento dos valores do rácio Cho/Cr.

Zona Intermédia – era esperado algo como uma situação intermédia entre características tumorais centrais e periféricas. A diminuição dos valores do rácio NAA/Cho sugere dano neuronal. Principalmente no caso dos gliomas de alto grau, devido à grande capacidade de multiplicação celular. A resistência da Cr a condições patológicas é confirmada pelo facto dos valores de NAA/(Cr+Cho) terem registado uma menor diminuição que os valores do rácio NAA/Cho. Apesar de existirem valores de Lac/Cr significativamente diferentes da mediana, esta é 0, tal como é suposto, sugerindo a ausência de Lac. O lactato apenas é produzido na ausência de oxigénio e as zonas intermédias não deverão apresentar falta de fornecimento sanguíneo, logo o esperado é não haver produção de lactato. O rácio NAA/Cr sugere resistência da Cr a condições patológicas assim como dano neuronal pouco significativo. Apesar de existirem valores de rácio NAA/Cr mais baixos, a diferença de medianas entre os voxéis saudáveis e intermédios não é muito grande. Já o rácio Cho/Cr confirmou o que se esperava, em zonas intermédias tumorais é suposto verificar-se, tal como na periferia, uma maior

capacidade de multiplicação celular, principalmente comparando-se os valores do rácio entre os voxéis saudáveis e intermédios. Apesar de existirem alguns valores díspares das medianas, tanto no caso dos voxéis saudáveis como nos voxéis intermédios, a diferença entre estas é muito expressiva.

Teste Mann-Whitney

O facto da distribuição dos dados não ser normal, condicionou o tratamento estatístico. Teve de se realizar testes não paramétricos (teste Mann-Whitney) para perceber se existia diferença estatística. Considerou-se que a diferença seria estatisticamente significativa para valores de p abaixo de 0.05 ($p < 0.05$).

	NAA/Cho	NAA/(Cr+Cho)	Lac/Cr	NAA/Cr	Cho/Cr
Saudável/Central	0.018	0.008	0.202	0.073	0.010
Saudável/Periférica	0.005	0.033	0.010	0.193	0.005
Intermédio/Saudável	0.020	0.020	0.328	0.085	0.20
Intermédio/Central	0.221	0.216	0.267	0.320	0.377
Central/Periférico	0.165	0.073	0.859	0.310	0.513
Intermédio/Periférico	0.605	0.349	0.282	0.863	0.654

Tabela 8 – Tabela com os valores de p do teste Mann-Whitney. Verde – valores de $p < 0.05$; Castanho – valores de $p > 0.05$

Como podemos ver na tabela 8, não houveram muitos rácios, quando comparados entre diferentes posições de voxéis, que demonstraram uma diferença estatisticamente significativa. Por exemplo, no primeiro caso, Saudável/Central, o valor de p mais baixo que se registou foi o do rácio NAA/(Cr+Cho). Isto significa que houve de facto alterações significativas no rácio NAA/(Cr+Cho) entre os voxéis saudáveis e centrais. Apesar de parecer estranho a tabela apresentar vários valores a castanho e, portanto, sem valor conclusivo, estes são sobretudo na comparação entre voxéis patológicos. Sempre que comparamos voxéis saudáveis com voxéis patológicos, os

rácios com valores de distribuição com valor conclusivo ($p < 0.05$) estão em maior número.

Saudável/Central – Constata-se que o valor de p para o rácio NAA/Cho registou uma diferença significativa. Este facto aliado ao valor de p do rácio Lac/Cr sugere que, possivelmente, nos centros tumorais existiria uma maior quantidade de tecidos necróticos que tecidos a produzir lactato. Sabemos que se registou uma diferença estatisticamente significativa e que o NAA não aumenta a sua concentração em situação patológica. Portanto, é possível que o NAA tenha diminuído. Contudo e partindo do princípio que a Cr é de facto resistente e a sua concentração mantém-se relativamente estável, olhando para os rácios NAA/Cho e NAA/Cr percebemos que a redução do NAA não é assim tão grande, uma vez que perante a creatina não registou uma diferença estatisticamente significativa. Pelo contrário, o rácio NAA/Cho demonstrou uma diferença estatisticamente significativa, tendo em conta que o NAA não reduziu assim tanto, podemos concluir que o valor da Cho aumentou significativamente. Concluindo desta maneira que no centro do tumor existe um aumento da proliferação celular. O que não corresponde com o facto de haver indicação de necrose.

Saudável/Periferia – na comparação entre voxels saudáveis e periféricos, verificou-se o maior número de rácios com diferença estatisticamente significativa. O rácio NAA/Cho apresenta um valor de p muito baixo levando a crer que de facto houve uma grande diferença de valores entre as zonas tumorais, sugerindo que à periferia se regista um aumento da Cho. Também o rácio Cho/Cr registou um valor de p muito baixo. A única maneira de existir uma grande diferença é haver um aumento significativo na concentração da Cho (partindo do princípio que a Cr não altera significativamente a sua concentração). Seria de esperar que não houvesse produção de lactato à periferia, contudo, olhando para o valor de p do rácio Lac/Cr percebemos que este registou uma diferença estatisticamente significativa, o que só pode sugerir o aumento do lactato. Mantendo-se o lactato nulo, nenhuma alteração da colina poderia afectar o rácio, fosse ela um aumento ou uma diminuição da sua concentração. Este valor do lactato pode estar relacionado com o turnover das membranas celulares. A elevada multiplicação celular exige maior energia (ATP), que por sua vez exige maior

aporte sanguíneo à zona. Se não existe um suprimento destas necessidades, as células vão realizar metabolismo anaeróbio para manter a proliferação, levando a uma produção do lactato.

Intermédio/Saudável – Neste caso apenas os rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho) apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Num voxel intermédio esperamos uma situação mista relativamente aos voxels central e periférico. Percebemos que houve um aumento da concentração da colina associado a uma diminuição do NAA.

Nos restantes casos não se registou um único rácio com uma diferença estatisticamente significativa. A razão é que a comparação é feita entre voxels patológicos que já apresentam valores metabólicos alterados.

Esta abordagem estatística só foi possível pois todos os gliomas em estudo eram gliomas de alto grau. Caso contrário não seria correcto comparar valores metabólicos quando seria expectável que estes fossem significativamente diferentes de paciente por paciente.

Na aquisição das imagens utilizou-se sempre um tempo de eco de 135 ms. Isto condicionou a avaliação dos espectros no sentido em que com um tempo de eco de 30 ms, outros picos metabólicos iriam-se evidenciar, o que poderia ser pertinente para o estudo. No caso de se usar, por exemplo, um tempo de eco de 30 ms, vamos obter outros picos metabólicos, nomeadamente o pico do mio-inositol e da glutamina e glutamato (Fig. 44). Isto porque, tal como na aquisição de imagens por ressonância sem recurso a técnicas, também os metabolitos apresentam diferentes tempos de relaxação, o que os vai levar a ter diferentes traduções em diferentes tempos de eco. A avaliação das concentrações destes metabolitos poderia vir a ser importante no estudo de gliomas. Isto porque o aumento da concentração do mio-inositol está associado a neoplasia glial (G. Vucurevic, 2003). Já o pico glutamato e glutamina podem ser um marcador de neoplasia glial pois, como já vimos anteriormente, os gliomas não empurram os tecidos adjacentes, mata-os. Para os conseguir matar, os gliomas vão produzir grandes quantidades de glutamato (que é um neurotransmissor). O excesso de glutamato é tóxico para os neurónios (Speert, 2012). Também o pico dos lípidos poderia ser importante na

gradação tumoral dos gliomas, uma vez que um aumento estatisticamente significativo na sua concentração está associado à agressividade do glioma (Joana Graça, 2003).

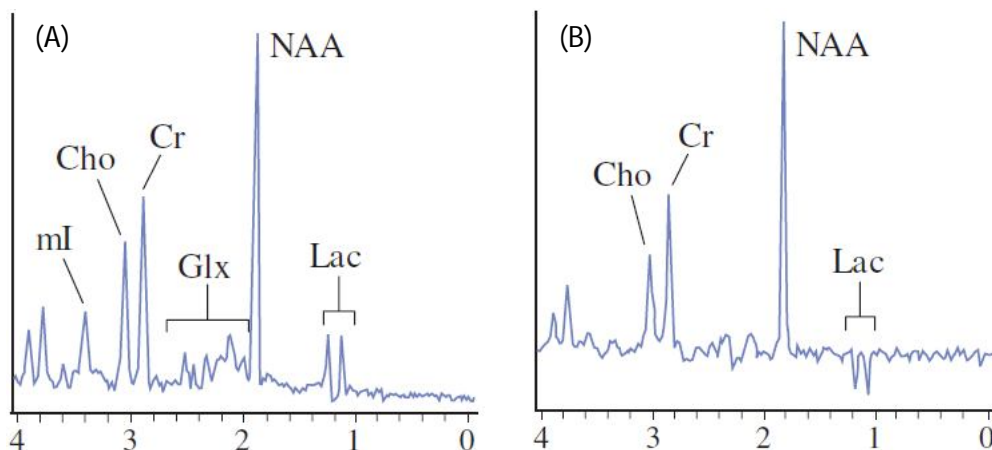


Figura 41 – Espectros representativos para os diferentes tempos de eco. (A) – espectro com tempo de eco de 30 ms; (B) – espectro com tempo de eco de 135 ms (McRobbie, Moore, Graves, & Prince, 2006)

A avaliação espectroscópica das concentrações torna-se, aparentemente, constante a partir dos 6 meses de idade (Fig. 46). É este facto que torna possível a utilização dos valores de referência saudáveis do paciente D no paciente E, apesar de este ter mais 2 anos. Apesar de ainda se verificarem alterações nas concentrações metabólicas, estas são ligeiras. Para a escolha de valores de referência, o critério usado foi apenas a idade dos pacientes. Também a zona anatómica onde foram colocados os voxels poderia ser um critério a ter em conta uma vez que existem diferenças nas concentrações metabólicas entre as diferentes áreas encefálicas. Não se pode incluir este critério no estudo pois iria complicar ainda mais a avaliação dos resultados. Uma vez que, como já foi dito anteriormente, o ideal seria uma colocação homogénea, comum, de todos os voxels (central intermédio e periférico) em todos os exames e ter uma referência saudável (voxel colocado em parênquima saudável simetricamente ao voxel patológico) e como não existiu esta lógica de colocação de voxels, seria muito difícil utilizar o critério da zona anatómica para a referência saudável.

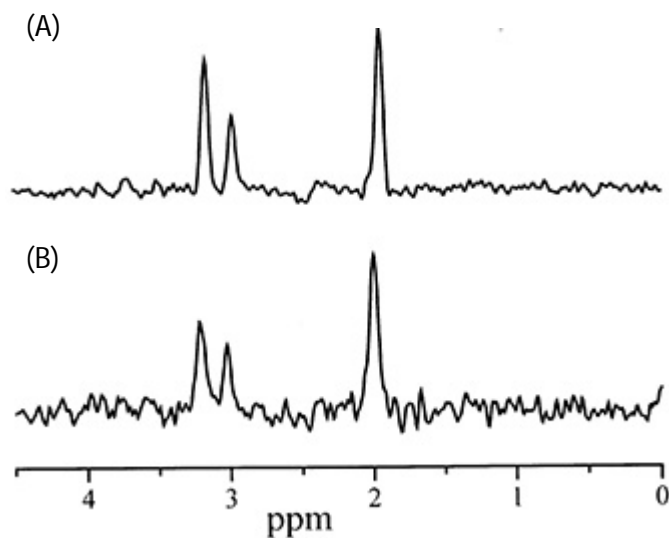


Figura 42 – Espectros adquiridos (A) aos 6 meses de idades (B) idade adulta (18 anos) (Robertson & Cox, 2002-2012)

A colocação dos voxels periféricos, apesar de válida, poderia ter sido realizada visando uma avaliação dos tecidos adjacentes ao tumor, sendo pertinente no sentido em que se iria tentar perceber se o tumor já estaria a invadir os mesmos.

Outro problema que se registou foi, no caso do paciente C, o valor de referência saudável do rácio Cho/Cr foi maior que 1. Em condições normais este valor não pode ser maior que 1, uma vez que a creatina se encontra em maior quantidade que a Cho. A razão para este facto pode ter sido uma má diferenciação entre as concentrações dos picos da colina e da creatina. Pode acontecer existir uma soma das concentrações, havendo assim, erradamente, uma leitura do espectro me que se note um valor de concentração da colina maior que o da creatina.

Conclusão

Conclusão

Os resultados do trabalho demonstraram que a espectroscopia por RM consegue mostrar diferenças significativas, nas concentrações metabólicas em gliomas relativamente a parênquima saudável. Os rácios NAA/Cho e NAA/(Cr+Cho) demonstraram sempre uma alteração estatisticamente significativa. No caso do NAA/Cho mais expressivo na comparação entre parênquima saudável/periférico ($p = 0.005$), enquanto o NAA/(Cr+Cho) foi mais expressivo na comparação entre parênquima saudável/central ($p = 0.008$). Pelo contrário, o rácio NAA/Cr não registou qualquer alteração significativa, em nenhum dos casos. Também a diferença que o rácio Cho/Cr demonstrou na comparação entre parênquima saudável/periférico foi muito significativa ($p = 0.005$). Não se verificou diferenças entre as zonas centrais, intermédias e periféricas, o que é algo estranho uma vez que alguns gliomas poderão demonstrar heterogeneidades. Uma das possíveis razões para tal é à pequena amostra, pelo que eventuais diferenças não serão visíveis.

Para além da pequena amostra, que condicionou bastante os resultados do trabalho, outros problemas surgiram. Os mais importantes foram a impossibilidade de participar activamente na aquisição dos dados, assim como criar e usar um protocolo que fosse usado em todos os pacientes. Este seria importante não só para a aquisição dos espectros mas também para o estudo dos gliomas, através, por exemplo, da administração de contraste. Esta seria, sem dúvida, uma mais-valia para a avaliação e definição das diferentes áreas tumorais o que poderia ser importante para a colocação dos voxels.

Sendo a ressonância magnética o método de eleição para a avaliação imagiológica de gliomas e havendo a tendência a subestimar a extensão tumoral e as áreas de maior malignidade dentro do tumor, as técnicas como a espectroscopia podem vir a desempenhar um papel fundamental na acuidade da determinação do grau de malignidade, assim como na instituição de um plano terapêutico mais adequado.

Bibliografia

Bibliografia

- **adm.** (21 de Maio de 2007). Espectroscopia de Protões por Ressonância Magnética no diagnóstico da doença de Alzheimer.
- **Almeida, D. E.** (s.d.). *Lincx*. Acedido a 30 de Abril de 2010, de Lincx: <http://www.lincx.com.br/lincx/cientificos/medicos/cardiologia/difusao.asp>
- **Azevedo, C.** (2005). *Biologia Celular e Molécula*. Lousã: LIDEL.
- **Braga, J. L.** (s.d.). Astrócitoma Anaplásico.
- **Braz, D. A.** Difusão.
- **Cassidy, J., Bissett, D., & OBE, R. A.** (2002). *Oxford Handbook of Oncology*. New York: Oxford University Press.
- **Cavalheiro, F.** (s.d.). *Revisão Bibliográfica - Difusão*.
- **CETAC.** (s.d.). Acedido a 28 de Abril de 2010, de CETAC: <http://www.cetac.com.br/>
- **cmsilva.** (2007). *Princípios Físicos das Imagens de Ressonância Magnética Nuclear*.
- **Correia, D. P.** (2002). *Análise Estrutural - Espectroscopia de RMN, Universidade da Madeira, Departamento de Química*. Funchal: Universidade da Madeira.
- **Costa, A.** (s.d.). *AngelFire*. Acedido a 30 de Abril de 2010, de AngelFire: <http://www.angelfire.com/ar3/alexcosta0/RelHid/Rhw3.htm>
- **Editora, P.** (s.d.). *Infopedia*. Obtido em 19 de Maio de 2010, de Infopedia: www.infopedia.pt
- **espectroscopia.** In Infopédia. Porto: Porto Editora, 2.-2. (s.d.). *espectroscopia*. In *Infopédia. Porto: Porto Editora, 2003-2010*. Acedido a 5 de 03 de 2010, de espectroscopia. In Infopédia. Porto: Porto Editora, 2003-2010: [http://www.infopedia.pt/\\$espectroscopia](http://www.infopedia.pt/$espectroscopia)
- **Figarella-Branger, D., b., C. C., Coulibaly, B., Quilichini, B., Paula, A. M., & al, C. F.** (s.d.). Classification histologique et moléculaire des gliomes.
- **G. Vucurevic, et. al.** (2003). 1H MRS in vivo and HRMAS spectroscopy of glial tumors: myo-inositol content in different tumor types and physiological conditions. *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 11.
- **Gupta, N., Barnejee, A., & Hass-Kogan, D.** (2010). *Pediatric CNS Tumors*. California: Springer.
- **<http://www.ligacontracancro.pt>** (s.d.). *Liga Contra o Cancro*. Acedido a 3 de Janeiro de 2012, de Liga Contra o Cancro: <http://www.ligacontracancro.pt>
- **<http://www.tiosam.net/enciclopedia/?q=Difusao>** (s.d.). <http://www.tiosam.net/enciclopedia/?q=Difusao>. Acedido a 25 de 04 de 2010, de <http://www.tiosam.net/enciclopedia/?q=Difusao>: <http://www.tiosam.net/enciclopedia/?q=Difusao>
- **IRSA.** (s.d.). *IRSA*. Acedido a 11 de Janeiro de 2012, de IRSA: http://www.irsam.org/brain_tumors.html
- **J. C. Tonn, M. W.** (2006). *Neuro Oncology of CNS Tumors*. Germany: Springer.
- **Joana Graça, et. al.** (2003). Avaliação dos Gliomas Cerebrais por Técnicas Avançadas de Ressonância Magnética. *Acta Médica Portuguesa*, 117-123.

- **Joana Graça**; et al. (2003). Artigo de Revisão - Acta Médica Portuguesa 2003; 16: 117-123 - Avaliação dos Gliomas Cerebrais por Técnicas Avançadas de Ressonância Magnética. Serviço de Neurorradiologia, Hospital Egaz Moniz, Lisboa; Unidade Clínica Autónoma de Neurorradiologia, Hospital Fernando Fonseca, Amadora; Ressonância Magnética de Caselas, Lisboa.
- **Jonathan Gillard**; Adam Waldman; Peter Barker. (n.d). *Clinical MR Neuroimaging: Diffusion, Perfusion and Spectroscopy*. Cambridge: n.d.
- **Joseph Panno**, P. (2005). *CANCER The Role of Genes, Lifestyle and Environment*. New York: The New Biology.
- **Kavalco, K.** (1999). *Biociência*. Acedido a 5 de Janeiro de 2012, de Biociência: http://biociencia.org/index.php?option=com_content&task=view&id=84&Itemid=72
- **Krois, R., Hofmann, L., Kuhlmann, B., Boosch, C., Bossi, E., & Huppi, P. S.** (2002). Brain Metabolite Composition During Early Human Brain Development as Measured by Quantitative In Vivo H Magnetic Resonance Spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine*, 949-958.
- **LucasMS.** (s.d.). *infoescola*. Acedido a 25 de Abril de 2010, de infoescola: <http://www.infoescola.com/biologia/difusao-molecular/>
- **Mazzola, A. A.** (3 de Janeiro de 2009). Ressonância Magnética: princípios de formação de imagem e aplicações em imagem funcional. *Revista Brasileira de Física Médica*, pp. 117-129.
- **McRobbie, D. W.**, Moore, E. A., Graves, M. J., & Prince, M. R. (2006). *MRI From Picture to Proton*. Cambridge: Cambridge University Press.
- **Medicine, H.** (s.d.). *Hopkins Medicine*. Acedido a 11 de Janeiro de 2012, de Hopkins Medicine: http://www.hopkinsmedicine.org/neurology_neurosurgery/specialty_areas/brain_tumor/center/glioma/types/
- **Melo, Mariana Vieira de**; Guimarães, Raquel Portugal; Rodrigues, Maria Olívia; Garcia, Maria Concepción; Tavares, Leandro; Reed, Umbertina Conti; Rosemberg, Sergio; Leite, Claudia da Costa. (2008). Meduloblastoma: correlação entre ressonância magnética convencional, difusão e espectroscopia de prótons. *SciELO - Radiologia Brasileira*, 2.
- **Pato Arte Geral.** (s.d.). Acedido a 10 de Janeiro de 2012, de Pato Arte Geral: <http://143.107.23.244/lido/patoartegeral/patoartecres6.htm>
- **Peter J. Basser**; Derek K. Jones. (9 de Janeiro de 2002). Diffusion-tensor MRI: theory, experimental design and data analysis - a technical review. *NMR IN BIOMEDICINE*, pp. 456-467.
- **Ramiro, H.**, & Aguiar, S. (21 de Março de 2005). Angio-TC e Angio-RM.
- **RMN Universidade Coimbra**, E. U. (s.d.). *Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear*. Acedido a 24 de 04 de 2010, de Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear: <http://www1.ci.uc.pt/rmn/>
- **RMN_apontamentos.** (2007). *Princípios Físicos das Imagens de Ressonância Magnética Nuclear*.
- **Robertson, N. J.**, & Cox, J. (2002-2012). *MRI of Neonatal Brain*. Acedido a 17 de Junho de 2012, de MRI of Neonatal Brain: <http://www.mrineonatalbrain.com/ch04-16.php#ref-53>
- **Rocha, N.** (28 de 11 de 2011). *Metabolismo Anaeróbio x Aeróbio*. Acedido a 1 de 7 de 2012, de Forma: Actividade Física Sustentável e Equilibrada para Todos: <http://informaunb.blogspot.pt/2011/12/metabolismo-anaeribio-x-aerobio.html>

- **Roche.** (s.d.). Acedido a 5 de Janeiro de 2012, de Roche: <http://www.roche.pt/sites-tematicos/infocancro/index.cfm/tipos/cancro-do-cerebro/cc-estadiamento/>
- **Saúde, F. -M.** (27 de Agosto de 2007). *Fleury - Medicina e Saúde*. Acedido a 28 de Maio de 2010, de Fleury - Medicina e Saúde: <http://www.fleury.com.br/Medicos/SaudeEmDia/ManualNeuro/pages/espectroscopia.aspx>
- **SHVOONG.** (s.d.). Acedido a 23 de Maio de 2010, de SHVOONG: <http://pt.shvoong.com/medicine-and-health/medicine-history/172653-hist%C3%B3ria-da-resson%C3%A2ncia-magn%C3%A9tica/>
- **So Biologia.** (s.d.). Acedido a 10 de Janeiro de 2012, de So Biologia: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Citologia2/nucleo2.php>
- **Souza, A. A., & Jr., A. L.** (22 de Fevereiro de 2002). Aplicação da Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear para estudos de Difusão Moléculas em Líquidos: Técnica DOSY. *Química Nova*.
- **Souza, A. d.,** Medidas de Difusão em Soluções Micelares Contendo Iões Aromáticos por Ressonância Magnética Nuclear.
- **Speert, D.** (16 de 2 de 2012). *BrainFacts*. Acedido a 7 de Março de 2012, de BrainFacts: <http://www.brainfacts.org/Diseases-Disorders/Cancer/Articles/2008/Glioma-Brain-Tumors>
- **Tania Shiminski-Maher, P. C.** (s.d.). *www.brainumor.org*. Acedido a 2 de Janeiro de 2012, de Brain Tumor: <http://www.brainumor.org/patients-family-friends/about-brain-tumors/brain-tumor-faq.html#q3547>
- **Tonn, J.-C., westphal, M., & Rutka, J. T.** (2010). *Oncology of SNC Tumors*. Berlin: Springer.
- **umkcrades.** (s.d.). *umkcrades*. Acedido a 5 de Janeiro de 2012, de umkcrades: <http://www.umkcrades.org/education/neuro/Spec/RADPAGE/MRS%20CASE%20TOTAL.htm>
- **WHO.** (s.d.). *World Health Organization*. Acedido a 3 de Janeiro de 2012, de World Health Organization: <http://www.who.int/ceh/capacity/cancer.pdf>