

O cérebro humano em actividade: investigação imagiológica por ressonância magnética funcional

Patrícia Figueiredo

O FUNCIONAMENTO DO CÉREBRO HUMANO PODE HOJE SER ESTUDADO DE FORMA COMPLETAMENTE NÃO-INVASIVA E COM PRECISÃO E RESOLUÇÃO CRESCENTES, ATRAVÉS DA MEDIÇÃO DOS FENÓMENOS BIOFÍSICOS ASSOCIADOS À SUA ACTIVIDADE UTILIZANDO TÉCNICAS DE IMAGIOLOGIA POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.

São já familiares do público em geral as imagens do cérebro mostrando a sua anatomia em tons de cinzento, com manchas coloridas indicando zonas específicas relacionadas com uma certa função ou actividade (para exemplos, ver

Fig.1 ou Fig.2). De facto, desde o seu aparecimento no início da década de 1990, a técnica de ressonância magnética funcional (RMf) na qual se baseiam tais imagens tem sido frequentemente alvo da atenção da comunicação social. Este mediatismo deve-se sem dúvida ao fascínio e à curiosidade que os mistérios do funcionamento do cérebro exercem sobre todos nós, mas reflecte também os enormes desenvolvimentos da técnica a vários níveis durante a última década, patentes no número crescente de publicações científicas neste campo (Huettel et al., 2004).

DA RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR ÀS IMAGENS

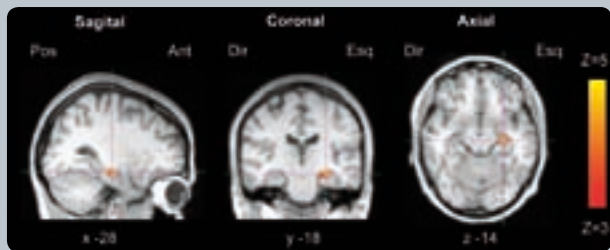
A técnica de RMf baseia-se no fenómeno quântico da ressonância magnética nuclear (RMN),

Figura 1. Imagem RMf da memória episódica

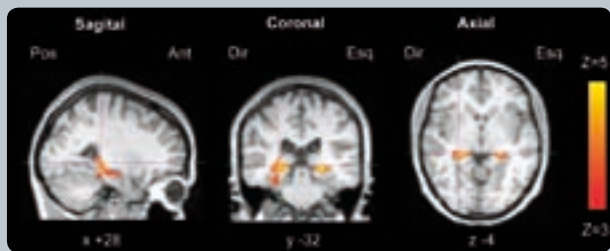
Imagens funcionais representando a actividade cerebral associada à memorização de palavras (Codificação Verbal) e desenhos (Codificação Visual), obtidas num sistema de 1.5 Tesla, com resolução 3.75x3.75x4.00 mm³. A região significativamente activada em cada caso é representada por um mapa estatístico de valores de Z (escala de cores), sobreposto à imagem anatómica de um cérebro standard. O pico de actividade está indicado pelo cursor e são mostrados os cortes sagital, coronal e axial e respectivas coordenadas (x,y,z).

A. Lateralização em função do material em indivíduos saudáveis

Codificação Verbal em indivíduos normais (N=10): o hipocampo anterior esquerdo é preferencialmente activado durante a memorização de palavras.

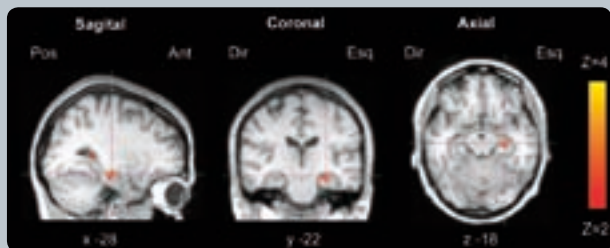


Codificação Visual em indivíduos normais (N=10): o hipocampo posterior bilateral e o parahipocampo direito são preferencialmente activados durante a memorização de desenhos.



B. Reorganização em doentes com epilepsia do lobo temporal

Comparação da actividade cerebral durante a memorização de desenhos (Codificação Visual), em doentes com epilepsia do lobo temporal com esclerose direita (N=10) e indivíduos saudáveis (N=10). Os doentes activam mais o hipocampo esquerdo, sugerindo mecanismos de reorganização adaptativa através da transferência da função para o hemisfério saudável, contra-lateral à patologia.



[P. Figueiredo et al., 2008]

Figura 2. Imagem RMf da organização retinotópica do córtex visual

Imagens funcionais representando a actividade cerebral em resposta à estimulação de cada quadrante do campo visual (A), obtidas num sistema de 1.5 Tesla, com resolução 3.75x3.75x4.00 mm³, para um indivíduo saudável (B).

A. Estimulação retinotópica de cada quadrante do campo visual, por meio de um padrão de xadrez preto e branco alternando à frequência de 8Hz.



observado em núcleos atómicos com número de spin não nulo quando expostos a campos magnéticos intensos. A excitação destes núcleos com radiação de frequência proporcional ao campo magnético aplicado (frequência de Larmor) leva depois à emissão de um sinal na mesma frequência, cuja intensidade depende directamente da densidade de núcleos e decai com constantes de tempo determinadas pelos mecanismos de relaxação através das suas interações com o meio circundante (Fig.7). Este fenómeno foi descoberto de modo independente por Felix Bloch e Henry Purcell em 1945, descoberta essa que lhes valeu o Prémio Nobel da Física em 1952. Seguiu-se imediatamente o desenvolvimento de técnicas espectroscópicas para o estudo da estrutura química da matéria.

No entanto, só nos anos 70 viriam a ser introduzidos os princípios para a construção de imagens a partir dos sinais de RMN dos núcleos de hidrogénio das moléculas de água, presentes em abundância nos tecidos biológicos. Em 1973, Paul Lauterbur obteve as primeiras imagens de RM, por meio da imposição de gradientes espaciais ao campo magnético aplicado, de modo a codificar a posição dos núcleos num espaço de frequências (Fig.7). Richard Ernst introduziu depois a transformada de Fourier na reconstrução da imagem, tal como é hoje realizada, pelo que recebeu o Prémio Nobel da Química em 1991.

Os avanços que se seguiram, em particular o desenvolvimento por Peter Mansfield de métodos de aquisição cada vez mais rápidos, permitiram a aplicação da técnica à visualização do corpo humano com grande utilidade clínica. Surgiu então o termo de imagem por ressonância magnética (IRM), em que o 'N' de 'Nuclear' era retirado com o objectivo de evitar a conotação negativa que esta palavra tinha entretanto adquirido noutros contextos. O enorme impacto da IRM na prática clínica levou a mais um reconhecimento através da atribuição a Paul Lauterbur e Peter Mansfield do Prémio Nobel da Medicina em 2003. De entre as diversas vantagens apresentadas pela técnica de IRM relativamente a outras técnicas imagiológicas existentes, nomeadamente a tomografia axial computadorizada (TAC), são de realçar o seu carácter completamente não-invasivo, com ausência de radiação ionizante (como os raios X usados em TAC), e a sua grande versatilidade, não só em termos da orientação, extensão e resolução das imagens produzidas, mas também em termos dos tipos de contraste que é possível obter entre os vários tecidos e componentes biológicos. De facto, mediante a manipulação de um certo número de parâmetros na aquisição das imagens, é possível definir diferentes tipos de imagem. Por exemplo, num mesmo exame podem obter-se imagens anatómicas de alta resolução espacial e elevado contraste entre os tecidos, assim como imagens angiográficas dos vasos sanguíneos ou ainda imagens capazes de evidenciar lesões específicas. É ainda possível tornar o sinal de cada pixel da imagem sensível a parâmetros fisiológicos, tais como a difusão de água nos tecidos ou a perfusão sanguínea nos capilares.

A RESPOSTA HEMODINÂMICA À ACTIVIDADE CEREBRAL

É precisamente nesta versatilidade da técnica de IRM que reside a possibilidade de produzir imagens funcionais do cérebro (RMf), as quais reflectem o nível de actividade das células nervosas em cada região. O princípio fisiológico fundamental subjacente é a relação existente entre a actividade destas células e a dinâmica do sangue na sua proximidade, relação esta que foi originalmente postulada por Roy e Sherrington no século XIX: “[...] Estes factos parecem indicar a existência de um mecanismo automático através do qual o fluxo sanguíneo para qualquer parte do tecido cerebral varia de acordo com a actividade relacionada com as modificações químicas dessa parte.” (Roy & Sherrington, 1890). Embora seja hoje bem conhecida a relação entre a actividade neuronal, o metabolismo energético associado e vários parâmetros da hemodinâmica cerebral, não estão ainda completamente esclarecidos todos os mecanismos envolvidos.

De qualquer forma, é consensual a observação de que um aumento da actividade neuronal numa certa região do cérebro resulta num aumento do fluxo sanguíneo local tal que a saturação de oxigénio no sangue também aumenta – resposta hemodinâmica (Fig.3). De acordo com um dos modelos mais proeminentes (Buxton et al., 1998), apesar do consumo de oxigénio aumentar com a actividade dos neurónios, levando a um aumento da extracção do oxigénio do sangue, o aumento do fluxo sanguíneo que é entretanto desencadeado é tal que, para além de repor o oxigénio extraído, conduz ainda a um aumento do volume sanguíneo cerebral local disponibilizando desta forma um excedente de oxigénio no sangue.

MÉTODOS DE IMAGEM FUNCIONAL POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

Existem vários métodos de obter informação acerca da resposta hemodinâmica usando o sinal de RM, entre as quais o mais popular é de longe o contraste chamado BOLD (“Blood Oxygen Level Dependent”) que varia em função da oxigenação sanguínea. Este método baseia-se nas propriedades magnéticas da hemoglobina, que é diamagnética quando transporta quatro moléculas de oxigénio (Hb) mas adquire um carácter paramagnético à medida que é desoxigenada (dHb). A presença de dHb no sangue introduz então distorções no campo magnético local, que resultam numa redução do sinal RM quando usados os parâmetros de aquisição apropriados (Ogawa et al., 1990). A resposta hemodinâmica à actividade cerebral pode portanto ser medida através do sinal das imagens com contraste BOLD (Kwong et al., 1992) (Fig.3).

É também possível obter imagens funcionais de RM usando um mecanismo de contraste baseado no fluxo sanguíneo cerebral local, ou perfusão. A técnica de marcação de spins arteriais (“Arterial Spin Labeling”, ASL) recorre à manipulação da magnetização das moléculas de água no sangue para obter um marcador endógeno do fluxo sanguíneo (Figueiredo et al., 2005). Um certo tempo após a marcação, o sinal das imagens adquiridas nos tecidos será afectado por esta manipulação da magnetização arterial, em função do valor do fluxo sanguíneo. A diferença

B. Mapa retinotópico normal

A região significativamente activada pela estimulação de cada quadrante é representada pelo mapa estatístico de valores de Z na escala de cores respectiva (como em A.), sobreposto à imagem anatómica do cérebro. Nesta série de cortes axiais é visível a organização retinotópica das áreas visuais no córtex occipital: respostas corticais em localizações adjacentes correspondem a estímulos adjacentes no campo visual.

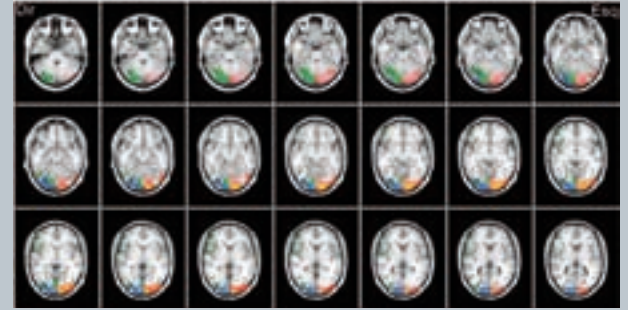


Figura 3. Imagem RMf por contraste BOLD.

Ilustração do mecanismo de contraste BOLD, reflectindo a resposta hemodinâmica associada a um estímulo e respectiva actividade neuronal: o fluxo (CBF) e volume (CBV) sanguíneos locais aumentam de tal modo que a concentração de Hb também aumenta (diminuindo a concentração de dHb), apesar do aumento da extracção de O_2 pelas células.

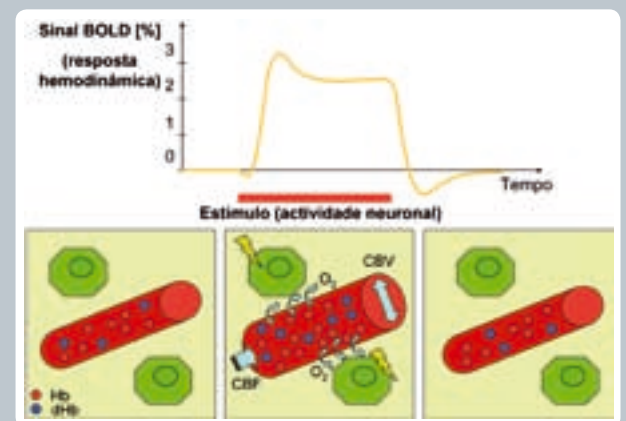


Figura 4. Imagem RMf: comparação dos contrastes BOLD e ASL

Mapas da actividade cerebral associada ao movimento da mão direita, obtidos usando o contraste devido à oxigenação sanguínea BOLD e o contraste de perfusão por meio de ASL, num sistema de 3 Tesla. A localização do pico de actividade em cada caso (verde) é comparada à posição da veia mais próxima (azul), de acordo com a identificação efectuada a partir de uma angiografia. Verifica-se que o pico BOLD está mais próximo da veia e, logo, mais distante da rede de capilares das células.

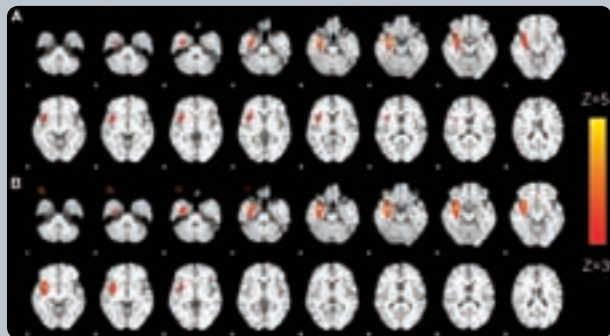


[T. Tjandra et al., 2005].

Figura 5. Registo simultâneo de EEG e RMf para a localização de fontes epileptogénicas

Mapa das regiões cerebrais cujo sinal BOLD está relacionado com a actividade paroxística (entre crises epiléticas) do sinal de EEG, identificada manualmente por um neurofisiologista (A) ou automaticamente através de um algoritmo de análise de componentes independentes (B). O método automático exhibe uma boa concordância com o método manual, sugerindo que na re-

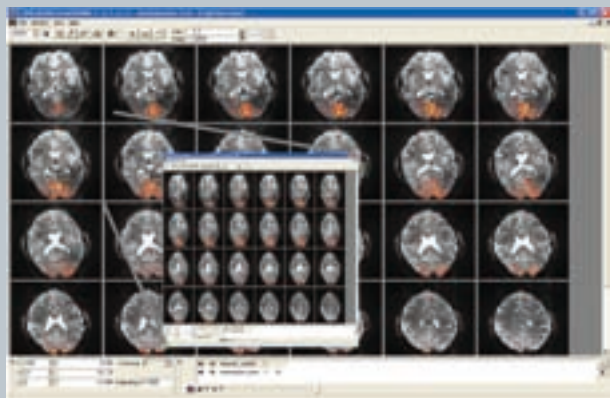
gião assim identificada reside a fonte da actividade paroxística observada no EEG.



[J.P. Marques et al., 2006].

Figura 6. Imagem RMf em campos magnéticos ultra-altos de 7 Tesla

Imagens funcionais representando a actividade do córtex visual primário, obtidas num indivíduo saudável num sistema de 7 Tesla (Siemens, CIBM-EPFL, Suíça), com resolução de 10101 mm^3 . Ao contrário das imagens obtidas em campos magnéticos inferiores, estas apresentam uma resolução espacial e razão sinal-ruído tais que é possível observar em detalhe a actividade do córtex visual, distinguindo-o dos tecidos circundantes.



[W. Van der Zwaag et al., 2008, com permissão]

Figura 7. Da ressonância magnética nuclear (RMN) à imagem (IRM)

Ilustração do fenómeno de RMN para núcleos de hidrogénio num campo magnético B_0 : polarização dos níveis de energia com frequência de Larmor ω_1 e sinal após excitação (*Free Induction Decay*, FID) com constante de relaxação T_2 .

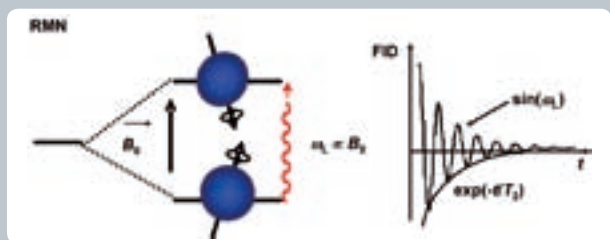
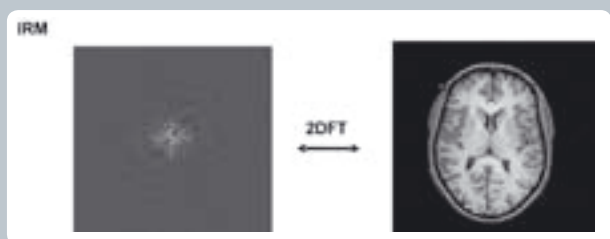


Ilustração da formação de imagens IRM a partir da transformada de Fourier 2D do sinal adquirido no espaço das frequências (espaço k), mediante a aplicação de gradientes espaciais ao campo magnético B_0 .



entre imagens marcadas e imagens não marcadas oferece portanto uma medida da perfusão em cada pixel, pelo que a resposta hemodinâmica poderá ser detectada através desta técnica, com algumas vantagens relativamente ao contraste BOLD. Em particular, a perfusão observa-se ao nível dos capilares em proximidade com as células, enquanto que a concentração de Hb varia mais nas vénulas e veias que drenam o sangue dos capilares (Fig.4). O facto do método ASL não ser tão frequentemente utilizado como o BOLD para a realização de RMf deve-se essencialmente a razões de ordem prática, tais como o facto de ser necessária uma sequência de aquisição especialmente dedicada e as limitações que advêm da fraca razão sinal-ruído intrínseca do sinal em ASL.

TENDÊNCIAS ACTUAIS E FUTURAS DA RMf

A técnica de RMf tem vindo a ser utilizada num número crescente de estudos da função cerebral, quer em voluntários saudáveis quer em doentes com diferentes patologias neurológicas e psiquiátricas (e.g., Figueiredo et al., 2008; Fig.1 e Fig.2). Pela primeira vez na história das Neurociências, foi possível observar o cérebro humano em funcionamento de forma completamente não-invasiva, com uma resolução espacial da ordem dos milímetros cúbicos e uma resolução temporal da ordem dos segundos. Embora seja possível obter informação metabólica e hemodinâmica usando imagens de tomografia por emissão de positrões (TEP), estas requerem a administração de um agente de contraste radioactivo e apresentam limitações em termos de resolução. As técnicas de electro-encefalografia (EEG) e magneto-encefalografia (MEG), por seu lado, medem à superfície do escalpe os campos eléctricos e magnéticos resultantes da actividade cerebral e beneficiam de uma resolução temporal muito melhor, mas exibem grandes limitações ao nível da localização espacial das fontes neuronais da actividade observada. As técnicas de imagem por difusão óptica (IDO), desenvolvidas recentemente para a medição das concentrações de Hb e dHb a partir da luz reflectida na gama dos infra-vermelhos próximos, apresentam boas características temporais mas são limitadas em termos da profundidade dos tecidos aos quais são sensíveis.

Apesar do grande sucesso da técnica de RMf durante a última década, permanecem ainda questões em aberto relativamente aos correlatos neuronais e metabólicos do sinal medido. Alguns estudos em macacos, em que foram registados simultaneamente com o sinal BOLD os campos eléctricos extra-celulares, mostraram já a relação da RMf com a actividade neuronal (e.g., Logothetis et al. 2001). Por outro lado, a combinação de medições BOLD com medições do fluxo e do volume sanguíneos cerebrais usando diferentes métodos de IRM (tais como o ASL), assim como com medições da concentração de Hb e dHb usando IDO, têm contribuído para uma melhor compreensão da resposta hemodinâmica conduzindo a modelos cada vez mais rigorosos (e.g., Hoge et al. 2005). Actualmente, a tendência dominante é precisamente a medição combinada de diferentes parâmetros hemodinâmicos, no sentido de uma potencial quantificação da actividade cerebral por RMf.

Bibliografia:

1. Buxton R., Wong E., Frank L. (1998) Dynamics of blood flow and oxygenation changes during brain activation: the balloon model. *Magn.Reson.Med.* 6(39):855-864.
2. Figueiredo P., Santana I., Teixeira J., Cunha C., Machado E., Almeida, E., Sales, F., Castelo-Branco M. (2008) Adaptive visual memory reorganization in right medial temporal lobe pathology. *Epilepsia*, in press.
3. Figueiredo P., Clare S., Jezzard P. (2005) Quantitative Perfusion Measurements using Pulsed Arterial Spin Labelling: Effects of Large ROI Analysis. *J Magn Reson Imag.* 21:676-682.
4. Hoge R.D., Franceschini M.A., Covolan R.J.M., Huppert T., Mandeville J.B., Boas D.A. (2005) Simultaneous recording of task-induced changes in blood oxygenation, volume, and flow using diffuse optical imaging and arterial spin-labeling MRI. *NeuroImage* 25:701-707.
5. Huettel S., Song A., McCarthy G. (2004) *Functional Magnetic Resonance Imaging*. Sinauer.
6. Kwong K.K., Belliveau J.W., Chesler D.A., Goldberg I.E., Weisskoff R.M., Poncelet B.P., Kennedy D.N., Hoppel B.E., Cohen M.S., Turner R., et al. (1992) Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 89:5675-5679.
7. Logothetis N.K., Pauls J., Augath M., Trinath T. & Oeltermann A. (2001) Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* 412:150-157.
8. Ogawa S., Lee T.M., Kay A.R., Tank D.W. (1990) Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 87:9868-9872.
9. Marques J.P., Figueiredo P., Sales F., Castelo-Branco M. (2006) On the usage of ICA decomposition of EEG signal for fMRI processing. 12th Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, Italy.
10. Roy C.S., Sherrington C.S. (1890) On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol.* 11(1-2):85-158.17.
11. Tjandra T., Brooks J.C.W., Figueiredo P., Wise R., Matthews P.M., Tracey I. (2005) Quantitative Assessment of the Reproducibility of Functional Activation measured with BOLD and MR Perfusion Imaging: Implications for Clinical Trial Design. *Neuroimage* 27(2):393-401.
12. Van der Zwaag W., Marques J., Kober T., Gruetter R. (2008) A continuous Nyquist ghost correction for EPI-based fMRI. 16th Scientific Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine, Canada.

Adicionalmente, há também um interesse crescente na integração multi-modal das técnicas de RMf com técnicas complementares, nomeadamente em termos da resolução temporal, em particular o EEG / MEG, ou a IDO. Para além de ultrapassar os desafios instrumentais do registo simultâneo dos diferentes tipos de sinal, é ainda necessário desenvolver modelos apropriados para a completa integração da informação assim obtida (e.g., Marques et al., 2006; Fig.5). Finalmente, um desafio constante em RMf consiste na exploração de campos magnéticos cada vez mais elevados, na busca de mais sinal e, em virtude disso, de melhor resolução espacial e temporal (e.g., Van der Zwaag et al., 2008; Fig.6).

Em conclusão, a técnica imagiológica de RMf é hoje uma ferramenta fundamental na investigação funcional do cérebro humano, tendo já revolucionado o conhecimento em áreas das Neurociências até há pouco difíceis de abordar quantitativamente e guardando ainda a promessa de medições cada vez mais detalhadas dos processos envolvidos. No entanto, a aparente facilidade com que é possível gerar imagens do cérebro em actividade tem permitido o aparecimento de conclusões mais ou menos arrojadas, levando a críticas por parte dos mais cépticos. É portanto crucial neste momento focar as atenções, não só na aplicação cuidada desta poderosa técnica imagiológica, mas também numa mais completa compreensão dos mecanismos biofísicos subjacentes. A esta complexa tarefa dedicam-se actualmente

investigadores das mais variadas áreas da Ciência, desde a Física, a Matemática e a Engenharia, à Biologia, à Medicina e à Psicologia. O dilema filosófico que a revelação dos enredos do nosso cérebro possa causar, esse teremos nós que enfrentar com outras ferramentas.

GLOSSÁRIO:

- ASL** - Arterial Spin Labeling
- BOLD** - Blood Oxygen Level Dependent
- EEG** - Electro-Encefalografia
- IDO** - Imagem de Difusão Óptica
- IRM** - Imagem por Ressonância Magnética
- MEG** - Magneto-Encefalografia
- RM** - Ressonância Magnética
- RMf** - Ressonância Magnética funcional
- RMN** - Ressonância Magnética Nuclear
- TAC** - Tomografia Axial Computorizada



Patrícia Figueiredo licenciou-se em Engenharia Física Tecnológica pelo Instituto Superior Técnico em 1996 e completou depois a pós-graduação em Biofísica e Engenharia Biomédica na Universidade de Lisboa. Doutorou-se em 2003 na área da Neuroimagem pela Universidade de Oxford, onde se especializou em imagem funcional por ressonância magnética. Após ter leccionado como Professora Convidada na Universidade de Thammasat na Tailândia, regressou a Portugal como investigadora de pós-doutoramento na Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra em 2004. Tem desde então vindo a trabalhar no desenvolvimento e aplicação das técnicas de neuroimagem funcional, área em que lidera actualmente vários projectos de investigação. É desde Maio de 2007 Professora Auxiliar no Instituto Superior Técnico, onde lecciona na área científica da Engenharia Biomédica.