

F 590 – Iniciação Científica I
Relatório Pré-Final

**Estudo da técnica de imageamento espectroscópico por
ressonância magnética (MRSI) e aplicação à avaliação
de metabólitos cerebrais de pacientes com lúpus
eritematoso sistêmico**



Aluna: Julia Horvath RA: 136337
j136337(arroba)dac.unicamp.br

Orientadora: Gabriela Castellano
Coordenador da Disciplina: José Joaquin Lunazzi

Instituição: Instituto de Física Gleb Wataghin, UNICAMP

Campinas, junho de 2017

Resumo

Os principais metabólitos mensuráveis em espectros de ressonância magnética de prótons (^1H -MRS) do cérebro são o N-acetil-aspartato e N-acetil-aspartil-glutamato (NAA+NAAG), a creatina e fosfocreatina (Cr+PCr), e a glicerofosfocolina e a fosfocolina (GPC+PCh) [1]. Um estudo realizado pela profa. Simone Appenzeller (FCM – UNICAMP) [2] mostrou que pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) possuem uma diminuição na razão NAA+NAAG/Cr+PCr e um aumento da razão GPC+PCh/Cr+PCr em relação a indivíduos saudáveis. Esse estudo foi realizado através da técnica de espectroscopia de ressonância magnética de voxel único. O objetivo principal deste trabalho foi estudar a técnica de espectroscopia multivoxel (MRSI, do inglês *magnetic resonance spectroscopy imaging*) e utilizá-la para avaliar os níveis metabólicos do corpo caloso de pacientes com LES e compará-los com os de indivíduos saudáveis. Outro objetivo do trabalho foi testar, pela primeira vez, um software criado pelo grupo da profa. Leticia Rittner (FEEC – UNICAMP), que casa imagens de ressonância magnética com a grade de espectros de MRSI.

1. Introdução

Conforme descrito no projeto deste trabalho, o plano de trabalho que foi realizado é composto das seguintes atividades:

1. Estudo sobre espectroscopia por ressonância magnética (MRS) e espectroscopia multivoxel por ressonância magnética (MRSI), incluindo a sequência de pulsos utilizada para a aquisição dos dados;
2. Estudo sobre lúpus eritematoso sistêmico;
3. Estudo do método LCMoel para quantificação de sinais de MRS e familiarização com o software de mesmo nome;
4. Familiarização com espectros cerebrais de ^1H -MRS *in vivo* e estudo dos principais metabólitos passíveis de avaliação com esta técnica;
5. Recuperação dos dados de MRSI e imagens de MR dos pacientes e controles; transformação dos dados de MRSI para os formatos do jMRUI e LCMoel;
6. Elaboração do relatório parcial;
7. Teste do software desenvolvido pelo grupo da profa. Leticia Rittner (FEEC - UNICAMP), aplicando-o para a combinação, para cada indivíduo, dos espectros relativos ao corpo caloso;
8. Quantificação dos espectros resultantes;
9. Comparação estatística entre os resultados obtidos para os grupos LES e controle;
10. Elaboração do relatório final.

Todas as atividades já foram realizadas e são explicadas ao longo deste relatório. As atividades 1 a 4, que envolvem estudos da técnica de MRSI, dos espectros de MRS cerebrais, da doença estudada neste trabalho (LES) e do software utilizado para a quantificação dos espectros (LCModel), foram feitas através de consultas a alguns livros, artigos e materiais da internet e um resumo sobre esses estudos é apresentado nas Seções 2 a 7.

Já as atividades 5, 7, 8 e 9 são explicadas na Seção 8, na qual é apresentada uma descrição da metodologia experimental que foi empregada neste trabalho.

2. Espectroscopia por Ressonância Magnética

A espectroscopia por ressonância magnética (MRS, do inglês *Magnetic Resonance Spectroscopy*) é uma técnica que possibilita a análise do conteúdo de uma amostra de forma não-invasiva, permitindo que se estude o conteúdo de uma determinada região cerebral *in vivo*.

Quando um núcleo com spin não-nulo é colocado em um campo magnético uniforme \vec{B}_0 , o vetor momento magnético do próton precessiona ao redor da direção do campo com uma frequência angular $\vec{\omega}_0$ dada pela equação de Larmor:

$$\vec{\omega}_0 = \gamma \vec{B}_0 \quad (1)$$

onde γ é a razão giromagnética, que é específica do núcleo a ser estudado e, para o caso do núcleo de hidrogênio, que é o utilizado nesse estudo, seu valor é de 42,58 MHz/T [1][3].

Porém, os núcleos experimentam diferentes valores de campo magnético devido à blindagem química que os rodeia. Desta forma, os núcleos com diferentes grupos químicos vizinhos terão frequências de ressonância diferentes e a Equação 1 pode ser reescrita como:

$$\vec{\omega}_i = \gamma \vec{B}_0 (1 - \sigma_i) \quad (2)$$

onde σ_i é o fator de blindagem química para o núcleo com i-ésimo tipo de grupo vizinho. Esta mudança nas frequências é a base da espectroscopia por ressonância magnética [3].

Desta forma, um espectro de ressonância magnética se trata de um gráfico de concentração (que pode ser relativa ou absoluta) de um determinado componente da amostra em função de sua frequência de ressonância, que, para eliminar sua dependência com a intensidade do campo magnético \vec{B}_0 , é apresentada em partes por milhão, ou ppm. Por convenção, os eixos espectrais medem a blindagem, onde os sinais dos núcleos mais fracamente blindados com frequências de ressonância maiores estão à esquerda e os núcleos mais fortemente blindados com frequências de ressonância menores estão à direita [3].

Existem dois tipos básicos de MRS *in vivo*, a de voxel único (*single voxel*) e a de múltiplos voxels (multivoxel). Na primeira, é coletado o sinal de apenas um único voxel, de tamanho suficiente para proporcionar uma boa relação sinal-ruído, gerando apenas um único espectro. Já na

técnica multivoxel, é possível a aquisição dos sinais de múltiplos voxels em uma, duas ou três direções, gerando vários espectros, um para cada voxel, que podem ser analisados separadamente ou em conjunto para melhorar a relação sinal-ruído. Além disso, o fato de se adquirir espectros de uma região maior do que um único voxel permite a realização de estudos que verificam se as concentrações dos metabólitos de interesse variam ao longo da grade de espectros.

3. Sequência de pulsos PRESS

Existem diversas sequências de pulsos que são utilizadas para a definição do volume de interesse (VOI, do inglês *volume of interest*) no qual serão coletados os dados. Neste trabalho, foi utilizada a sequência PRESS (do inglês *Point Resolved Spectroscopy*), na qual três pulsos de radiofrequência seletivos com gradientes de campo magnético ortogonais definem o VOI.

Conforme mostrado na Figura 1, a sequência PRESS é composta de três pulsos de radiofrequência de 90° , 180° e 180° , além do pulso CHES (Chemical-Shift-Selective pulse), que é utilizado para a supressão do pico da água [3].

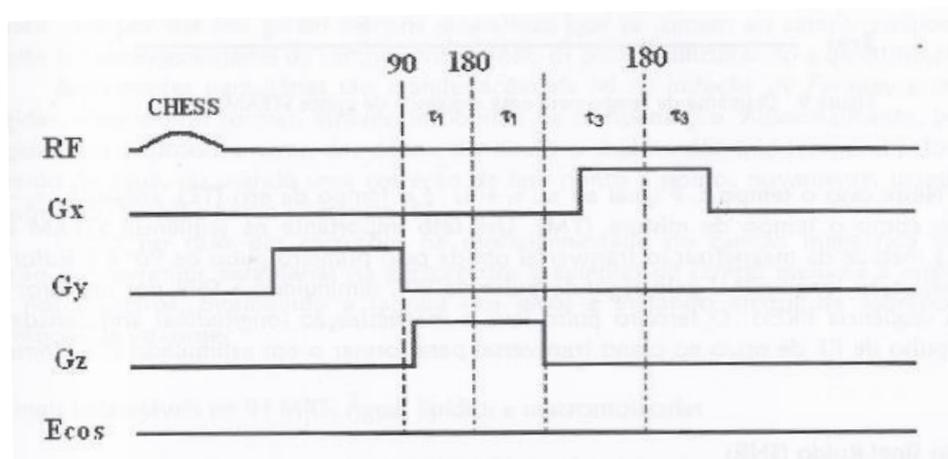


Figura 1: Diagrama dos gradientes de campo magnético (G_x , G_y e G_z) e pulsos de radiofrequência (RF) em função do tempo para a sequência de pulsos PRESS [3].

Quando o primeiro pulso de 180° é executado após um tempo τ_1 do pulso de excitação de 90° , um eco de spin é formado em $2\tau_1$. O segundo pulso de 180° reorienta esse eco, gerando um segundo eco de spin no tempo $2\tau_1+2\tau_3$. O primeiro eco contém o sinal da coluna resultante da intersecção das fatias ortogonais selecionadas pelos dois primeiros pulsos de RF. Já o segundo eco contém apenas o sinal da intersecção das três fatias selecionadas pelos pulsos de RF, resultando no VOI, conforme mostrado na Figura 2. O fato de essa sequência de pulsos resultar em dois ecos de spin faz com que ela também seja chamada de método de spin eco duplo [1].

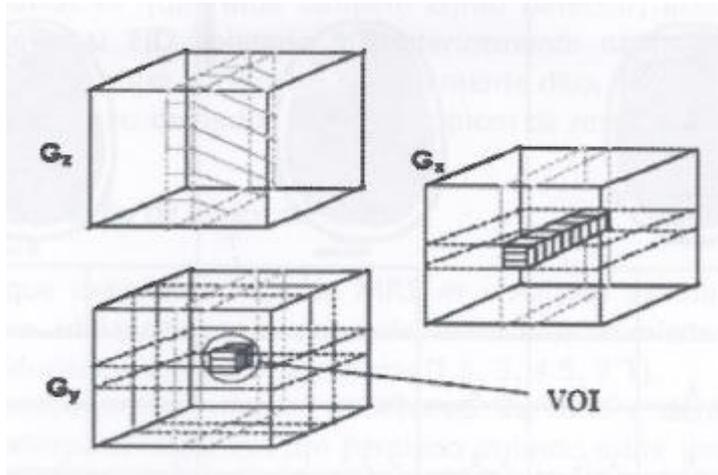


Figura 2: Volume de interesse (VOI) gerado pelos gradientes de campo magnético G_x , G_y e G_z da sequência de pulsos PRESS [3].

4. Principais metabólitos presentes em MRS cerebral

Os principais metabólitos presentes no cérebro humano e quantificáveis através da técnica de MRS são a água, o N-acetil-aspartato e N-acetil-aspartil-glutamato (NAA+NAAG), a creatina e fosfocreatina (Cr+PCr), e os compostos de colina, ou seja, a glicerofosfocolina e a fosfocolina (GPC+PCh). O primeiro, a água, é o mais abundante, representando 77% do cérebro de um adulto, sendo 73% na substância branca, 82% na substância cinzenta e mais de 95% no líquido cefalorraquidiano [1]. Desta forma, o pico da água em um espectro de MRSI é o mais proeminente e, na maioria dos casos, é necessário suprimir esse pico para ser possível analisar os demais.

Desconsiderando a água, o pico com maior amplitude é o do NAA+NAAG, cujo pico principal aparece em 2.01 ppm [1]. O NAA, que corresponde à maior parte do pico observado, é localizado exclusivamente no sistema nervoso central e periférico, sendo que sua concentração varia de acordo com a região em que está localizado. Além de ser o metabólito com maior concentração, o NAA é importante em espectros de MRS pois seu pico geralmente é utilizado para referenciar o espectro.

Já o grupo Cr+PCr é um composto de aminoácidos presente nas fibras musculares e no cérebro e aparece pura (Cr) ou fosforilada, conhecida como fosfocreatina (PCr). As frequências de ressonância para o grupo metil desses dois tipos são muito próximas, 3.027 ppm para Cr e 3.029 ppm para PCr, sendo impossível separar esses dois picos em espectros *in vivo* [1].

Por fim, temos os compostos de colina (GPC+PCh), que tratam-se de uma amina natural encontrada nos lipídios presentes na membrana celular e no neurotransmissor acetilcolina. Seu pico aparece em 3.21 ppm.

Na Figura 3, é mostrado um esquema de um espectro de MRSI cerebral com o pico da água suprimido e com destaque para os picos dos grupos metabólicos mencionados.

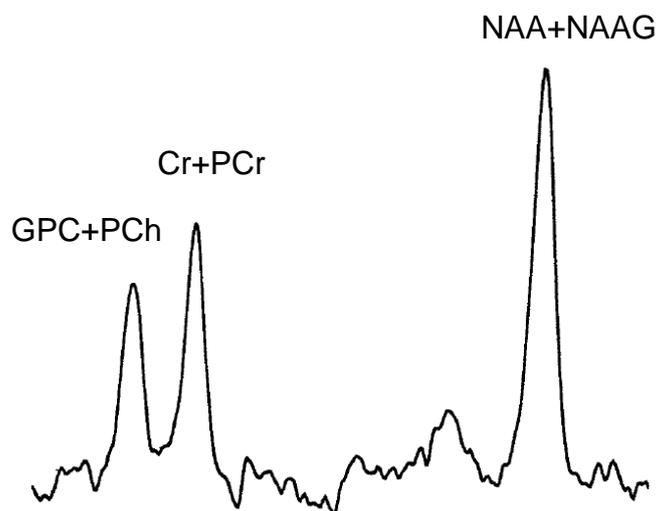


Figura 3: Espectro de ressonância magnética de cérebro de um indivíduo saudável, com supressão do pico da água. Em destaque estão os picos dos grupos colina (GPC+PCh), creatina (Cr+PCr) e N-acetil-aspartato (NAA+NAAG). [2]

5. Lúpus Eritematoso Sistêmico

Lúpus eritematoso sistêmico (LES) é uma doença crônica, autoimune e multissistêmica, de causa desconhecida e não contagiosa, que pode afetar qualquer parte do corpo. Assim como ocorre em outras doenças autoimunes, o sistema imunológico ataca as células e tecidos do corpo, resultando em inflamação e dano tecidual. É mais predominante em mulheres, com uma relação de 10:1 entre mulheres e homens. As principais manifestações clínicas incluem erupções cutâneas, artrite, glomerulonefrite, anemia hemolítica, trombocitopenia e envolvimento do sistema nervoso central [4].

Fatores genéticos e ambientais estão envolvidos no aparecimento das crises de lúpus, como exposição ao sol, uso de certos medicamentos, determinados vírus e bactérias e o hormônio estrógeno. Esse último fator pode justificar o fato de a doença acometer mais mulheres em idade fértil do que homens.

6. LCModel

LCModel (<http://s-provencher.com/lcmodel.shtml>) é um software que é utilizado para quantificação automática, no domínio da frequência, de espectros de ressonância magnética adquiridos *in vivo*. Por ser um método totalmente automático, não interativo, maximiza a reprodutibilidade e possibilita a comparação de resultados ao evitar erros provenientes da subjetividade introduzida pelo usuário.

Seu objetivo é ajustar uma função modelo aos dados que consiste de uma combinação linear de espectros completos dos metabólitos de interesse, que podem ser medidos *in vitro* ou simulados. Isto difere de outros métodos comumente usados, que ajustam ressonâncias (picos) isoladas aos

dados, ao invés do espectro completo. Como cada metabólito é responsável, geralmente, por múltiplas ressonâncias no espectro, essa abordagem faz com que a função modelo ajuste melhor o sinal medido. Dessa forma, contribuições de metabólitos que possuem picos sobrepostos em uma dada frequência de ressonância podem ser mais facilmente separadas, desde que seus espectros possuam picos em outras frequências distintas [3][5].

Supondo que $y(t)$ é o FID (*free induction decay*) medido e $Y(\nu)$ é sua transformada de Fourier, ou seja, o espectro medido, o LCModel modela o espectro como:

$$\hat{Y}(\nu_k) = \exp[-i(\phi_0 + \nu_k \phi_1)] \left[\sum_{j=1}^{N_B} \beta_j B_j(\nu_k) + \sum_{l=1}^{N_M} C_l \sum_{n=-N_S}^{N_S} S_n M_l(\nu_{k-n}; \gamma_l, \varepsilon_l) \right], \quad (3)$$

com as restrições:

$$C_l \geq 0, \quad \gamma_l \geq 0, \quad \sum_{n=-N_S}^{N_S} S_n = 1. \quad (4)$$

Nessas equações, C_l são as concentrações dos N_M metabólitos. $M_l(\nu; 0, 0)$ são os espectros de metabólitos na base de dados *in vitro* ou simulada, que são alargados com os parâmetros γ_l (para levar em conta o encurtamento dos tempos T_2 que ocorre *in vivo*) e deslocados com os parâmetros ε_l (para ter em conta pequenos erros no referenciamento do espectro), resultando em

$$M_l(\nu; \gamma_l, \varepsilon_l) = F\{m_l(t) \exp[-(\gamma_l + i\varepsilon_l)t]\}, \quad (5)$$

onde F denota a transformada de Fourier, e $m_l(t)$ é a transformada de Fourier inversa do espectro modelo $M_l(\nu; 0, 0)$. A última somatória na Equação 3 representa uma convolução para levar em conta inhomogeneidades de campo, correntes parasitárias etc., utilizando os coeficientes de forma de linha (*lineshape*) S_n . As N_B funções $B_j(\nu)$ são *B-splines* com nós igualmente espaçados, utilizadas para modelar a linha de base (*baseline*) do espectro. Finalmente, ϕ_0 e ϕ_1 representam as correções de fase de zero e primeira ordem respectivamente [5].

O objetivo do método é encontrar os valores das concentrações C_l , juntamente com os valores dos parâmetros ϕ_0 , ϕ_1 , γ_l , ε_l , $\mathbf{\beta}$ (o vetor dos β_j), e \mathbf{S} (o vetor dos S_n). Para isso, utiliza-se um método de análise que é uma modificação dos mínimos quadrados de Gauss-Newton [5], com o critério:

$$\frac{1}{\sigma^2(Y)} \sum_{k=1}^N \{\text{Re}[Y(\nu_k) - \hat{Y}(\nu_k)]\}^2 + \|\alpha_S R_S \mathbf{S}\|^2 + \|\alpha_B R_B \mathbf{\beta}\|^2 + \sum_{l=1}^{N_M} \left\{ \frac{[\gamma_l - \gamma_l^0]^2}{\sigma^2(\gamma_l)} + \frac{\varepsilon_l^2}{\sigma^2(\varepsilon_l)} \right\} = \text{mínimo}. \quad (6)$$

Na Equação 6, o primeiro termo nada mais é que o critério padrão de mínimos quadrados aplicado à parte real do espectro, $\text{Re}[Y(\nu)]$. $\sigma(Y)$ é o desvio padrão do ruído, e é estimado a partir do desvio padrão de um ajuste preliminar, utilizando a Equação 6 com $\alpha_S = \alpha_B = 0$. R_S é uma matriz de regularização que impõe suavidade e condições de fronteira nulas nos coeficientes de forma de

linha S_N . R_B é uma matriz de regularização para as funções *B-spline* da linha de base. O último termo na Equação 6 representa distribuições normais de probabilidade *a priori* para os γ_i e ε_i .

7. Análise Estatística: Teste de Wilcoxon

Os testes estatísticos são comumente utilizados em estudos que têm como objetivo comparar condições experimentais e podem ser divididos em paramétricos e não paramétricos. Nos testes paramétricos os valores da variável estudada devem ter distribuição normal ou aproximação normal. Já os testes não paramétricos, também chamados de testes de distribuição livre, não têm exigências quanto ao conhecimento da distribuição da variável na população [6].

O teste de Wilcoxon é um teste não paramétrico que é aplicado quando estão em comparação dois grupos relacionados e a variável é de mensuração ordinal. Os procedimentos que constituem o teste são [6]:

- a. Para cada par, determinar a diferença d , com sinal;
- b. Atribuir postos a essas diferenças independentemente de seu sinal. Em caso de empates, atribuir a média dos postos empatados;
- c. Para cada posto atribuir o sinal + ou – da diferença d que ele representa;
- d. Obter o valor T , que representa a menor das somas dos postos com mesmo sinal;
- e. Determinar N , que é o número total de diferenças, independentemente do sinal;
- f. Se $N \leq 25$, obter p através da distribuição binomial:

$$p = P(X \leq k) = \sum_{x=0}^k \binom{N}{x} p^x q^{N-x} \quad (7)$$

- g. Se $N > 25$, determinar a média e o desvio padrão aproximado da soma dos ranks dos postos. Em seguida, obter o valor de z e z_{tab} , conforme mostrado nas Equações 10 e 11. Ou seja, aproxima a distribuição das populações por uma distribuição Normal:

$$\mu_T = \frac{N(N+1)}{4} \quad (8)$$

$$\sigma_T = \sqrt{\frac{N(N+1)(2N+1)}{24}} \quad (9)$$

$$z = \frac{T - \mu_T}{\sigma_T} \quad (10)$$

$$z_{tab} = z_{\frac{\alpha}{2}} \quad (11)$$

- h. Por fim, comparar os valores z e z_{tab} . Se o valor de z for menor que o de z_{tab} , não se pode rejeitar a hipótese nula, ou seja, os dois grupos podem ser considerados equivalentes.

8. Metodologia

No início do projeto, foi feita a recuperação dos dados de MRSI e imagens de MR dos pacientes e controles na área de ressonância magnética do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Nesse momento, coletei os espectros, tomando o cuidado de coletar apenas os espectros de indivíduos que também possuíssem a imagem de MR anatômica, pois esta é necessária para o pré-processamento dos dados.

Este pré-processamento dos dados foi feito através do software criado pelo grupo da profa. Letícia Rittner. Este software, criado através do ambiente *Adessowiki* (<http://adessowiki.fee.unicamp.br/adesso/>), casa imagens de MR com as grades de espectros de MRSI, o que permite verificar se a grade de espectros está corretamente localizada na região de interesse que, neste caso, corresponde ao corpo caloso do indivíduo estudado [7]. Na Figura 4 é mostrada uma grade corretamente localizada, visualizada através deste software.

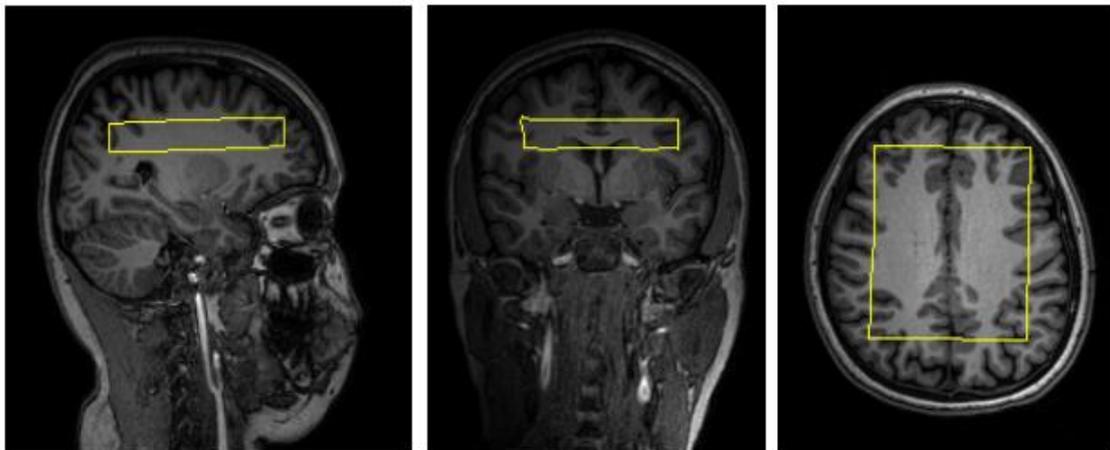


Figura 4: Visualização da posição da grade de espectros de MRSI através do software desenvolvido pelo grupo da profa. Letícia. Neste caso a grade está corretamente localizada no corpo caloso do indivíduo estudado.

Já na Figura 5, é mostrado um exemplo de posicionamento incorreto da grade de MRSI. Neste caso, os dados de MRSI não são utilizados, pois não é possível identificar exatamente sua proveniência em termos de estrutura ou tecido cerebral. Assim, é de suma importância esta etapa de verificação do posicionamento das grades, pois, desta forma, esses casos podem ser descartados para que não contribuam de forma errônea no resultado final do estudo.

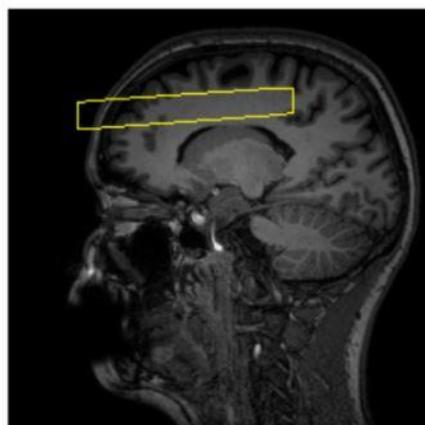


Figura 5: Exemplo de um corte sagital com o posicionamento da grade de MRSI incorreto, visualizado através do software desenvolvido pelo grupo da profa. Leticia.

Além disso, o software permite que se quantifique apenas espectros com porcentagens pré-determinadas de cada tipo de tecido (substância branca, cinzenta ou líquido cefalorraquidiano). Isso é feito através uma tabela com as porcentagens de contribuição dos diferentes tecidos para todo o VOI (*volume of interest*), que corresponde a toda a grade de espectros, e as porcentagens em cada espectro (voxel) do VOI. Como a parte do cérebro estudada neste trabalho, o corpo caloso, é formada por substância branca, foram quantificados apenas os espectros que contêm no mínimo 90% de substância branca. Na Figura 6 é mostrado um exemplo desta tabela.

Porcentagem relativa de GM, WM e CSF no VOI

REGIÃO	GM (%)	WM (%)	CSF (%)
CORPO CALOSO	17.82	69.82	12.36

Porcentagem relativa de GM, WM e CSF em cada espectro do VOI

ESPECTRO	REF. LCMODEL	GM (%)	WM (%)	CSF (%)
3	1-3	5.72	90.77	3.51
4	1-4	3.53	92.79	3.68
5	1-5	2.44	97.23	0.33
12	1-12	3.06	92.63	4.31
20	2-4	4.53	91.82	3.65
21	2-5	6.61	93.23	0.16
36	3-4	4.7	91.93	3.38
37	3-5	5.85	91.55	2.6
51	4-3	3.76	90.6	5.64
53	4-5	7.54	90.95	1.51
117	8-5	6.08	90.27	3.65
133	9-5	6.49	91.47	2.05
149	10-5	6.68	92.49	0.84
165	11-5	5.04	93.94	1.01
181	12-5	5.3	92.65	2.06
197	13-5	5.14	91.67	3.19
Total:	16			

Figura 6: Exemplo da tabela feita pelo software mostrando as porcentagens de contribuição dos diferentes tecidos, substância branca (WM), cinzenta (GM) ou líquido cefalorraquidiano (CSF) em todo o VOI (acima) e em cada espectro do VOI (abaixo). Note-se que na segunda tabela (abaixo) apenas estão mostrados espectros que possuem no mínimo 90% de WM, que correspondem aos espectros utilizados neste estudo.

Desta forma, é possível visualizar através do software os espectros corretamente localizados e com a porcentagem desejada de substância branca. Na Figura 7 são mostrados dois exemplos destes espectros; é importante ressaltar que os espectros são mostrados pelo software apenas para que possa ser feita uma análise visual dos mesmos e, por essa razão, os eixos dos gráficos não estão na escala correta.

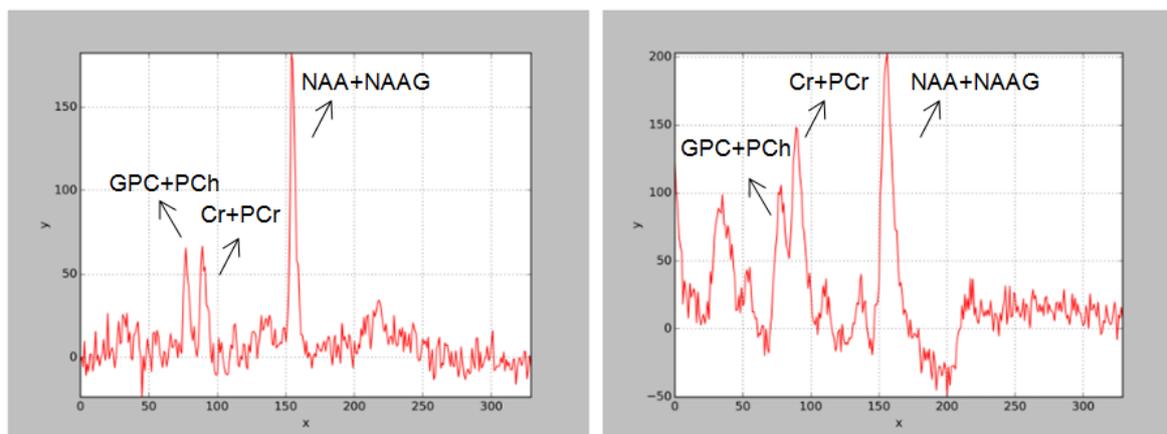


Figura 7: Exemplos de espectros visualizados através do software do grupo da profa. Leticia, com destaque para os picos de GPC+PCh, Cr+PCr e NAA+NAAG. Como são apenas para visualização, os eixos não estão em escala.

Ao final, o software gera os arquivos necessários para a quantificação dos espectros, que foi executada no *LCModel* (<http://s-provencher.com/lcmodel.shtml>). A cada quantificação, o *LCModel* cria um arquivo com o espectro medido sobreposto pelo espectro estimado, conforme explicado na Seção 6. Na Figura 8, é mostrado um exemplo deste arquivo, onde pode ser observado que, ao lado do espectro, também são mostradas as concentrações dos metabólitos de interesse, o desvio padrão relativo destas concentrações e a razão da concentração do metabólito em questão com a concentração dos compostos de creatina (Cr+PCr). No topo da figura gerada pelo software está o resíduo, que é a diferença entre o espectro estimado e o medido. Espera-se que este resíduo não contenha nenhum grande pico (tenha uma aparência de “ruído”), caso contrário, é possível que o modelo utilizado para ajustar os dados não contenha o metabólito responsável pelo pico que não foi ajustado; ou talvez o espectro medido tenha artefatos que não possibilitaram um bom ajuste, em cujo caso, deverá ser descartado.

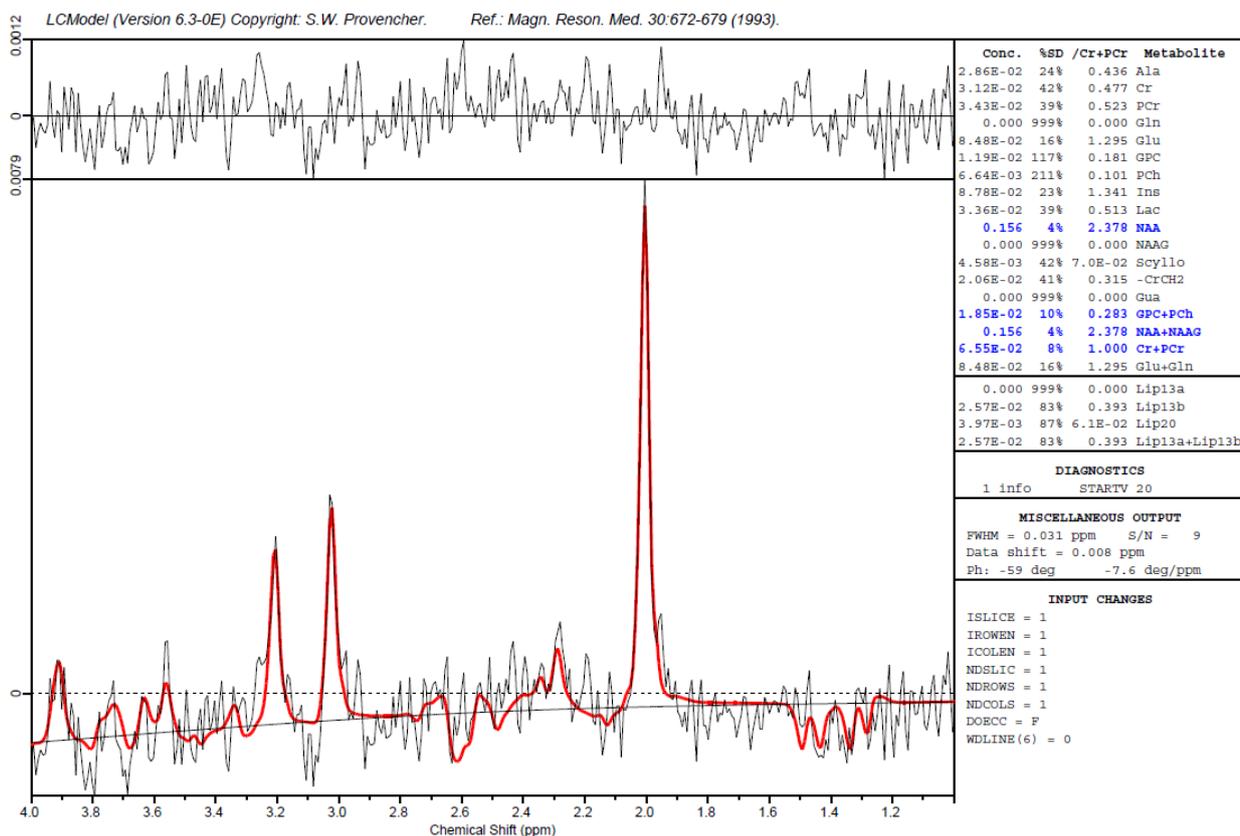


Figura 8: Exemplo de um arquivo gerado pelo software *LCModel* durante o processo de quantificação dos espectros, com destaque para o espectro medido (em preto) sobreposto pelo espectro estimado (em vermelho) e para as concentrações dos metabólitos de interesse, o desvio padrão relativo das concentrações e a razão da concentração do metabólito em questão com a concentração dos compostos de creatina (Cr+PCr), mostrados à direita. No topo está mostrado o resíduo (ruído), que é a diferença entre o espectro estimado e o medido.

O *LCModel* também cria um arquivo em formato csv (*comma-separated values*) com os resultados obtidos, facilitando a análise dos mesmos, que foi realizada por meio do software *SYSTAT* (<https://systatsoftware.com/>) através do método não paramétrico de Wilcoxon, descrito na Seção 7. Os resultados obtidos são apresentados na Seção 9.

9. Resultados

Através do software *LCModel*, foi possível obter as concentrações dos metabólitos de interesse do corpo caloso dos indivíduos estudados (15 pacientes e 15 controles), conforme explicado na Seção 8. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 1.

Paciente / Controle	Cr+PCr (abs)	Cr/Cr +PCr	Glu/Cr +PCr	PCh/Cr +PCr	Ins/Cr +PCr	NAA/Cr +PCr	Gua/Cr +PCr	GPC+PCh/Cr+PCr	NAA+NAAG/Cr+PCr	Glu+Gln/Cr+PCr
Paciente 1	0.544	0.878	0.889	0.308	0.877	2.071	0.278	0.308	2.071	0.889
Paciente 2	0.618	0.822	0.580	0.196	0.691	1.841	0.191	0.294	1.841	0.580
Paciente 3	0.463	0.633	0.633	0.259	0.789	1.930	0.162	0.362	1.930	0.633
Paciente 4	0.363	0.749	0.651	0.245	1.029	2.048	0.163	0.410	2.048	0.651
Paciente 5	0.355	0.666	0.568	0.200	1.102	1.814	0.252	0.351	1.814	0.568
Paciente 6	0.387	0.728	0.832	0.210	0.794	2.226	0.196	0.335	2.226	0.832
Paciente 7	0.480	1.000	0.667	0.343	1.060	1.646	0.350	0.343	1.677	0.667
Paciente 8	0.217	0.441	0.543	0.190	0.904	2.348	0.174	0.303	2.348	0.543
Paciente 9	0.328	0.729	0.682	0.363	0.923	2.042	0.073	0.363	2.149	0.682
Paciente 10	0.361	0.638	0.771	0.216	0.937	2.097	0.111	0.326	2.097	0.771
Paciente 11	0.782	0.749	0.636	0.213	0.835	1.949	0.210	0.343	1.949	0.636
Paciente 12	0.191	1.000	1.044	0.440	0.595	2.685	0.000	0.440	2.685	1.044
Paciente 13	0.425	0.861	0.696	0.348	0.819	1.836	0.179	0.348	1.836	0.696
Paciente 14	0.323	0.555	0.834	0.250	1.017	1.739	0.168	0.397	1.739	0.834
Paciente 15	0.314	0.694	0.774	0.239	0.854	2.043	0.159	0.369	2.043	0.774
Controle 1	0.260	0.632	0.785	0.284	0.675	2.457	0.124	0.284	2.457	0.785
Controle 2	0.066	0.477	1.295	0.101	1.341	2.378	0.000	0.283	2.378	1.295
Controle 3	0.396	0.678	0.548	0.300	0.869	1.964	0.189	0.300	1.965	0.548
Controle 4	0.557	0.763	0.796	0.180	0.800	2.062	0.252	0.296	2.062	0.796
Controle 5	0.097	0.313	0.446	0.180	1.217	1.825	0.000	0.319	1.825	0.446
Controle 6	0.147	0.655	0.717	0.382	1.309	2.583	0.194	0.382	2.583	0.717
Controle 7	0.397	0.846	0.757	0.269	1.342	2.045	0.082	0.399	2.045	0.757
Controle 8	0.275	0.759	0.702	0.205	1.143	2.171	0.224	0.359	2.171	0.702
Controle 9	0.173	0.745	0.580	0.361	1.145	1.753	0.361	0.361	1.753	0.580
Controle 10	0.497	0.642	0.810	0.362	0.923	2.227	0.154	0.362	2.227	0.810
Controle 11	0.370	0.760	0.758	0.241	0.852	2.165	0.194	0.320	2.165	0.758
Controle 12	0.426	0.674	0.620	0.203	0.891	2.003	0.237	0.353	2.003	0.620
Controle 13	0.365	0.725	0.586	0.174	0.783	1.841	0.106	0.323	1.841	0.586
Controle 14	0.254	0.418	0.735	0.215	1.065	2.428	0.135	0.350	2.428	0.735
Controle 15	0.354	1.000	0.618	0.213	1.267	1.827	0.163	0.393	1.827	0.618

Tabela 1: Resultados obtidos através do software *LCModel* para as concentrações dos metabólitos de interesse (em mMol/kg) para os 15 pacientes e controles analisados.

Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo Teste de Wilcoxon através do software *SYSTAT*. Esse teste fornece o chamado *valor p*, que indica se os resultados obtidos apresentam variações significativas entre os grupos estudados, neste caso pacientes e controles, ou se os dois grupos podem ser considerados equivalentes. Os valores p encontrados são mostrados na Tabela 2.

Metabólito	Valor p
Cr+PCr (absoluto)	0.178
Cr/Cr+PCr	0.350
Glu/Cr+PCr	0.772
PCh/Cr+PCr	0.407
Ins/Cr+PCr	0.068
NAA/Cr+PCr	0.281
Gua/Cr+PCr	0.604
GPC+PCh/Cr+PCr	0.407
NAA+NAAG/Cr+PCr	0.319
Glu+Gln/Cr+PCr	0.772

Tabela2: Resultados obtidos do valor p do Teste de Wilcoxon para os valores das concentrações dos metabólitos de interesse obtidos para os dois grupos analisados, pacientes e controles.

Comumente, considera-se que dois grupos apresentaram resultados com diferenças significativas caso o valor p do teste de Wilcoxon apresente um valor abaixo de 0.05. Isso significa que há 95% de chance de que as diferenças observadas não foram obtidas ao acaso.

Conforme pode ser observado na Tabela 2, para o caso da concentração absoluta dos compostos de Creatina (Cr+PCr), o valor p encontrado é maior que 0.05, o que mostra que a concentração destes metabólitos não apresentou variações significativas para os dois grupos. Isso permite que sejam utilizadas as razões das concentrações dos diferentes metabólitos com a concentração dos compostos de creatina no estudo.

Desta forma, analisando as concentrações dos demais metabólitos normalizadas pela concentração dos compostos de creatina, é possível observar que o valor p para todos os casos foi maior que o limiar de 0.05, conforme pode ser visto na Tabela 2. Portanto, não se pode dizer que os grupos apresentaram resultados significativamente diferentes para as concentrações dos metabólitos estudados.

10. Conclusão

Embora um estudo realizado pela profa. Simone Appenzeller [2] tenha mostrado que pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) possuem uma diminuição na razão NAA+NAAG/Cr+PCr e um aumento da razão GPC+PCh/Cr+PCr em relação a indivíduos saudáveis, através deste estudo não foi possível encontrar o mesmo resultado. Talvez fosse possível atingir este resultado com o aumento do número de pacientes e controles estudados, o que será feito

no segundo semestre deste ano. Porém foram atingidos importantes objetivos deste trabalho, como os estudos realizados e o teste do software do grupo da profa. Leticia Rittner pela primeira vez.

11. Comentário do Orientador

Minha orientadora concorda com o expressado neste relatório final e deu a seguinte opinião:

“A aluna vem realizando um trabalho excelente, que deverá ser continuado no 2º semestre deste ano. Ela tem se mostrado independente e proativa, e aprendeu bem os conceitos propostos neste estudo. Além disso, o relatório mostra com clareza as tarefas desenvolvidas. Considero seu desempenho muito bom.”

Referências

- [1] GRAAF, R.A. *In Vivo NMR Spectroscopy: Principles and Techniques*, 2ed. John Wiley & Sons, Chichester, 2007. Capítulos 1, 2, 4 e 6.
- [2] APPENZELLER, S.; COSTALLAT, L.T.; LI, L.M.; CENDES, F. *Magnetic resonance spectroscopy in the evaluation of central nervous system manifestations of systemic lupus erythematosus*. *Arthritis Rheum.* 2006 Oct 15;55(5):807-11.
- [3] CASTELLANO, G.; BAENA, S. P. C.; DIAS, C. S. B.; LI, L. M.. *Espectroscopia de RM dinâmica para estudo do cérebro*. In: Li Li Min; Paula Teixeira Fernandes; Roberto J. M. Covolan; Fernando Cendes. (Org.). *Neurociências e epilepsia (Série CInAPCe, 1/2008)*. 1ed. São Paulo: Editora Plêiade, 2008, v. 1, p. 125-145.
- [4] PILLAI, Shiv; ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. H. *Imunologia Celular e Molecular*. 8ª Edição. Elsevier Brasil, 2015. Página 411.
- [5] Provencher SW, *Magn Reson Med* 30: 672-679, 1993.
- [6] HACKBARTH NETO, Arthur Alexandre; STEIN, Carlos Efrain. *Uma abordagem dos testes não-paramétricos com utilização do excel*. Disponível em: http://www.mat.ufrgs.br/~viali/estatistica/mat2282/material/textos/artigo_11_09_2003.pdf. Acesso em: 30 de maio de 2017.
- [7] PEREIRA, D. R.; FRITOLLI, R. B.; LAPA, A. T.; APPENZELLER, S.; LOTUFO, R. A.; RITTNER, L. *Metodologia para seleção de espectros de interesse em espectroscopia multi-voxel por ressonância magnética*. XXV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica – CBEB, Foz do Iguaçu-PR, 2016.