

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA**

LUCAS DIOVANI LOPES NARCISO

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE IMAGENS PET
COM [11C]-(R)-PK11195 NA INVESTIGAÇÃO DA ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

**Porto Alegre
2016**

LUCAS DIOVANI LOPES NARCISO

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE IMAGENS PET
COM [11C]-(R)-PK11195 NA INVESTIGAÇÃO DA ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, área de concentração de Sinais, Sistemas e Tecnologia da Informação, linha de pesquisa em Engenharia Biomédica.

Orientadora: Dra. Ana Maria Marques da Silva

**Porto Alegre
2016**

N222a Narciso, Lucas Diovani Lopes

Avaliação de métodos de quantificação de imagens PET com [11C]-(R)-PK11195 na investigação da esclerose múltipla / Lucas Diovani Lopes Narciso . – 2016.

100 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, PUCRS.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Maria Marques da Silva.

1. [11C]-(R)-PK11195. 2. PET. 3. Esclerose múltipla. 4. Quantificação. 5. SUVR. I. Silva, Ana Maria Marques da. II. Título.

**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE IMAGENS PET
COM [11C]-(R)-PK11195 NA INVESTIGAÇÃO DA ESCLEROSE
MÚLTIPLA**

CANDIDATO: LUCAS DIOVANI LOPES NARCISO

Esta Dissertação de Mestrado foi julgada para obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA ELÉTRICA e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

DRA. ANA MARIA MARQUES DA SILVA – ORIENTADORA

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Rosa Franco, PPGEE/PUCRS

Profa. Dra. Cristina Maria Moriguchi Jeckel, PPGGB/PUCRS

Profa. Dra. Thais Russomano, PPGEE/PUCRS

**Porto Alegre
2016**

*Dedico esta dissertação
aos pacientes com esclerose múltipla,
esperando que meus esforços possam ajudá-los!*

AGRADECIMENTOS

Mais uma vez os agradecimentos iniciais vão aos meus pais *Fátima* e *João*, por estarem cada vez mais próximos. Não existem formas de medir a forma e intensidade com os quais os amo!

Gostaria de agradecer intensamente minha orientadora por ser realmente o que uma orientadora deve ser! Seu apoio foi, sem dúvida, o melhor presente que um guia poderia me dar!

Gostaria de agradecer com muito carinho aos meus amigos que me acompanharam durante essa etapa. *Jisa, Gabi, Samara, Andréia, Caroline, Phelipi* e todos os outros que me apoiaram.

Muito obrigado!

There has been an alarming increase in the number of things I know
nothing about. (BUSHBERG et al., 2002, p. 7)

Tem havido um aumento alarmante no número de coisas que eu não
sei nada sobre. (BUSHBERG et al., 2002, p. 7, tradução nossa)

RESUMO

A ativação da micróglia é uma resposta importante a processos inflamatórios no sistema nervoso central (SNC). Estudos vêm utilizando a aquisição de imagens de tomografia por emissão de pósitrons (PET) com o radiotraçador [^{11}C]-(*R*)-PK11195, ligante seletivo para TSPO, presente em níveis baixos no SNC saudável. Embora a literatura traga diversos métodos quantitativos de análise das imagens de PET cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, não existe método padronizado de análise aplicável na prática clínica. Limitações envolvem a necessidade de amostragem de sangue arterial para aquisição da função de entrada para quantificação verdadeira de parâmetros cinéticos, tais como o potencial de ligação. Quando a função de entrada arterial não é adquirida, a utilização de modelos baseados em região de referência apresenta erros de quantificação, pois não existe uma região no cérebro que seja livre de ligação específica de [^{11}C]-(*R*)-PK11195. O objetivo desse trabalho é investigar métodos de análise quantitativa e semiquantitativa de imagens de PET cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, identificando suas limitações e potencialidades. Esse trabalho está inserido dentro de um estudo clínico com pacientes com esclerose múltipla (EM) do tipo remitente-recorrente em tratamento com fingolimode. Serão utilizadas imagens cerebrais de PET adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 e imagens estruturais de ressonância magnética ponderadas em T1. Métodos de análise quantitativa e semiquantitativa serão comparadas, levando em consideração aspectos específicos da EM. Na análise transversal, o uso do SUVR^{WM} na região justacortical e periventricular apresenta os melhores resultados de diferenciação entre grupos de pacientes com EM e o grupo controle. Na análise longitudinal, o uso do SUVR^{WM} e do SUVR^{CB} podem indicar o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 ao longo do tempo, sendo tais medidas potenciais indicadores de evolução da EM quando aplicados nas regiões justacortical e periventricular. Conclui-se que, dentre os métodos analisados, o método SUVR^{WM} apresenta resultados promissores e satisfatórios, em especial quando aplicado às regiões justacortical e periventricular.

Palavras-chave: [^{11}C]-(*R*)-PK11195; PET; esclerose múltipla; quantificação; semiquantificação; SUV; SUVR.

ABSTRACT

Evaluation of [¹¹C]-(R)-PK11195 PET images quantification methods in the study of multiple sclerosis

The activation of microglia is an important response to inflammatory processes in the central nervous system (CNS). There has been an increase in the number of researches in positron emission tomography (PET) using the radiotracer [¹¹C]-(R)-PK11195, a selective ligand for TSPO, present at low levels in the healthy CNS. Although the literature brings many quantitative methods to analyze [¹¹C]-(R)-PK11195 PET brain images, there is no standardized method of analysis applicable in clinical practice. Limitations involve the need for arterial blood sampling for the input function acquisition, aiming absolute quantification of kinetic parameters, such as the binding potential. When the arterial input function is not acquired, the use of models based on a reference region has quantification errors, since there is no brain region free of [¹¹C]-(R)-PK11195 specific binding. The aim of this study is to investigate methods of quantitative and semiquantitative analysis of [¹¹C]-(R)-PK11195 PET brain images, identifying limitations and capabilities. This work is inserted into a clinical study of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis (MS) in treatment with fingolimod. There will be used [¹¹C]-(R)-PK11195 PET brain images and structural T1-weighted magnetic resonance images. Methods of quantitative and semiquantitative analyzes will be compared, taking into consideration the specific aspects of MS. In the cross-sectional analysis, the use of $SUVR^{WM}$ in juxtacortical and periventricular regions presented the best results in differentiate between groups of patients with MS and the healthy control group. In the longitudinal analysis, the use of $SUVR^{WM}$ and $SUVR^{CB}$ may indicate the [¹¹C]-(R)-PK11195 uptake behavior over time, and such measurements may be potential indicators of MS evolution when applied in the juxtacortical and periventricular regions. In conclusion, among the methods analyzed, $SUVR^{WM}$ method shows promising and satisfactory results, especially when applied to juxtacortical and periventricular regions.

Keywords: [¹¹C]-(R)-PK11195; PET; multiple sclerosis; quantification; semi-quantification; SUV; SUVR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de decaimento do pósitron.....	21
Figura 2. Esquema da detecção de aniquilação por coincidência.....	22
Figura 3. Esquema de eventos que podem ocorrer na detecção por coincidência.....	23
Figura 4. Modelo de dois compartimentos reversível.	36
Figura 5. Modelo de compartimentos com tecido de referência.	38
Figura 6. Equipamentos GE Healthcare nos quais as aquisições ocorrerão.....	45
Figura 7. Exemplo de imagens de PET/CT e por MR corregistradas.	48
Figura 8. Diagrama de blocos com etapas de aquisição dos dados.	49
Figura 9. Fluxograma das etapas de processamento das imagens de PET/CT e MR cerebrais para extração dos dados.....	50
Figura 10. Exemplos de máscaras utilizadas na extração dos dados das imagens de PET/CT.	53
Figura 11. Exemplo de imagem adquirida com a amostragem temporal sugerida.....	59

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Exemplo de TAC de [¹¹ C]-(R)-PK11195.	51
Gráfico 2. TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles utilizando 12 quadros temporais de cinco segundos.	56
Gráfico 3. TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles utilizando amostragem temporal sugerida.	58
Gráfico 4. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.	67
Gráfico 5. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{WM} para as regiões do tálamo e JP.	68
Gráfico 6. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{CB} para as regiões do tálamo e JP.	70
Gráfico 7. Valores de BP _{ND} ao longo do tempo para o grupo P0.	74
Gráfico 8. Valores de BP _{ND} ao longo do tempo para o grupo P1.	74
Gráfico 9. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP para o grupo P0, comparação entre visitas.	75
Gráfico 10. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP para o grupo P1, comparação entre visitas.	75
Gráfico 11. Valores de SUV ao longo do tempo para o grupo P0.	76
Gráfico 12. Valores de SUV ao longo do tempo para o grupo P1.	77
Gráfico 13. Diagrama de caixas dos valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	77
Gráfico 14. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{WM} referentes às três visitas (grupo P0).	78
Gráfico 15. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{WM} das três visitas (grupo P1).	79
Gráfico 16. Valores de SUV ^{WM} ao longo do tempo para o grupo P0.	80
Gráfico 17. Valores de SUV ^{WM} ao longo do tempo para o grupo P1.	80
Gráfico 18. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{WM} referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	81
Gráfico 19. Diagrama de caixas dos valores de SUV ^{CB} para as regiões do tálamo e JP para o grupo P0, comparação entre visitas.	82

Gráfico 20. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP para o grupo P1, comparação entre visitas.	82
Gráfico 21. Valores de SUV^{CB} ao longo do tempo para o grupo P0.....	83
Gráfico 22. Valores de SUV^{CB} ao longo do tempo para o grupo P1.....	83
Gráfico 23. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Amostragem temporal utilizada por diferentes estudos.....	32
Tabela 2. Informações básicas dos voluntários.	46
Tabela 3. Informações dos participantes coletadas na visita inicial.	46
Tabela 4. Informações das amostras das três visitas dos participantes.	47
Tabela 5. Amostragens temporais consideradas.....	52
Tabela 6. Amostragem temporal modificada sugerida.....	58
Tabela 7. Valores SUV médios e desvio padrão para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.....	61
Tabela 8. Valores de $SUVR_{DEB}$ para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.	62
Tabela 9. Valores de $SUVR^{WM}$, para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.	62
Tabela 10. Valores do teste t e valores p após a retirada dos valores atípicos.	62
Tabela 11. Resumo das amostras utilizadas nas análises transversal e longitudinal.....	64
Tabela 12. Valores de R_1 obtidos a partir do SRTM para as regiões do tálamo e JP.....	66
Tabela 13. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes à V1.....	66
Tabela 14. Valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.....	67
Tabela 15. Resultados do teste estatístico t <i>Student</i> para os valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.....	67
Tabela 16. Valores de $SUVR^{WM}$ para as regiões do tálamo e JP.	68
Tabela 17. Resultados do teste estatístico t <i>Student</i> para os valores de $SUVR^{WM}$ para as regiões do tálamo e JP.	69
Tabela 18. Valores de $SUVR$ para as regiões do tálamo e JP.	69
Tabela 19. Resultados do teste estatístico t <i>Student</i> para os valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP.....	70
Tabela 20. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.....	73

Tabela 21. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às V1 e V2.	73
Tabela 22. Valores de SUV para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.....	75
Tabela 23. Resultados do teste estatístico <i>t Student</i> para os valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.....	76
Tabela 24. Valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.....	77
Tabela 25. Resultados do teste estatístico <i>t Student</i> para os valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	78
Tabela 26. Valores de $SUVR^{WM}$ das três visitas, para as regiões do tálamo e JP.....	79
Tabela 27. Valores de $SUVR^{WM}$ das V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	80
Tabela 28. Valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.....	81
Tabela 29. Valores de $SUVR^{CB}$ referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.	83

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

^{11}C	Carbono-11
^{18}F	Flúor-18
BHE	Barreira hematoencefálica
BP	Potencial de ligação (do inglês, <i>binding potential</i>)
Bq	Becquerel
Ci	Curie
CSF	Fluido cefalorraquidiano (do inglês, <i>cerebrospinal fluid</i>)
CT	Tomografia computadorizada (do inglês, <i>computed tomography</i>)
EDSS	Escala Expandida do Estado de Incapacidade de Kurtzke (do inglês, <i>Expanded Disability Status Scale</i>)
EM	Esclerose múltipla
GM	Substância cinzenta (do inglês, <i>gray matter</i>)
kg	Quilograma
mL	Mililitro
MR	Ressonância magnética (do inglês, <i>magnetic resonance</i>)
MRI	Imageamento por MR (do inglês, <i>magnetic resonance imaging</i>)
PET	Tomografia por emissão de pósitrons (do inglês, <i>positron emission tomography</i>)
PK11195	1-(2-clorofenil)-N-metil-N-(1-metilpropil)-3-isoquinolina carboxamida
SNC	Sistema nervoso central
PVE	Efeito de volume parcial (do inglês, <i>partial volume effect</i>)
ROI	Região de interesse (do inglês, <i>region of interest</i>)
SRTM	Modelo simplificado de tecido de referência (do inglês, <i>simplified reference tissue model</i>)
SUV	Valor de captação padronizada (do inglês, <i>standardized uptake value</i>)
SUVR	Razão entre SUVs (do inglês, <i>standardized uptake value ratio</i>)
SVCA	Algoritmos de agrupamento supervisionado (do inglês, <i>supervised cluster algorithm</i>)
TAC	Curva de atividade ao longo do tempo (do inglês, <i>time activity curve</i>)
TSPO	Proteína translocadora (18 kDa)
V_T	Volume de distribuição
WM	Substância branca (do inglês, <i>white matter</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	PROBLEMA E OBJETIVOS	19
2.1	CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA	19
2.2	OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS	20
3	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	21
3.1	TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS.....	21
3.1.1	Correções necessárias para quantificação	24
3.2	IMAGEAMENTO DA NEUROINFLAMAÇÃO	26
3.2.1	Proteína translocadora (18 kDa) ou TSPO.....	27
3.2.2	Esclerose múltipla	29
3.3	AQUISIÇÃO, PROCESSAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE IMAGENS DE PET: REVISÃO DA LITERATURA.....	30
3.3.1	Aquisição de imagens de PET.....	30
3.3.2	Quantificação e semiquantificação de [¹¹ C]-(R)-PK11195.....	33
3.4	DESAFIOS.....	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
4.1	CONTEXTO DO ESTUDO CLÍNICO.....	44
4.1.1	Amostras e coleta de dados	46
4.2	PREPARAÇÃO, PROCESSAMENTO E EXTRAÇÃO DOS DADOS	47
4.2.1	Preparação das imagens dinâmicas	50
4.2.2	Preparação das imagens estáticas.....	52
4.2.3	Regiões de interesse para extração dos dados.....	53
4.3	MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO	54

4.4	ANÁLISES TRANSVERSAL E LONGITUDINAL	54
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	56
5.1	PREPARAÇÃO E PROCESSAMENTO DAS IMAGENS	56
5.1.1	Preparação das imagens dinâmicas	56
5.1.2	Preparação das imagens estáticas	60
5.2	ANÁLISES TRANSVERSAL E LONGITUDINAL	64
5.2.1	Análise transversal	65
5.2.2	Análise longitudinal	71
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
7	REFERÊNCIAS	90
	APÊNDICE A	95

1 INTRODUÇÃO

A tomografia por emissão de pósitrons ou PET (*positron emission tomography*) tem sido amplamente utilizada para imageamento cerebral no estudo de doenças neurodegenerativas, demência, epilepsia, desordens do neurodesenvolvimento e psíquicas e traumatismo craniano, entre outros (BANATI et al., 2000; CHAUVEAU et al., 2008).

A molécula 1-(2-clorofenil)-N-metil-N-(1-metilpropil)-3-isoquinolina carboxamida (PK11195), ao ser ligada com um radioisótopo, como o ^{11}C , pode ser utilizada como radiotraçador em imagens de PET *in vivo*, em especial em estudos de doenças neurodegenerativas nas quais a neuroinflamação está presente (CHAUVEAU et al., 2008; SCHWEITZER et al., 2010), conforme apontam estudos com pequenos animais (VOWINCKEL et al., 1997). Sua utilização no diagnóstico de doenças neurodegenerativas inclui a doença de Alzheimer (ANDERSON et al., 2007; GROOM et al., 1995; KROPHOLLER et al., 2007; TOMASI et al., 2008), a doença de Parkinson (BARTELS et al., 2010; GERHARD et al., 2006; VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006) e a esclerose múltipla (EM) (BANATI et al., 2000; DEBRUYNE et al., 2002, 2003; POLITIS et al., 2012; VERSIJPT et al., 2005).

A molécula PK11195 possui alta seletividade e afinidade à proteína translocadora (18 kDa) ou TSPO, uma proteína mitocondrial presente em baixos níveis no sistema nervoso central (SNC) saudável (BANATI, 2002; CASELLAS; GALIEGUE; BASILE, 2002). Embora não tenha sido possível verificar como ocorre a ligação específica do $[^{11}\text{C}]$ -(R)-PK11195, diversos estudos utilizam esse radiotraçador em diversas doenças neuroinflamatórias, pois ele se apresenta como um marcador eficiente da micróglia ativada, uma vez que alta densidade de TSPO pode ser observada quando existe ativação microglial. Além disso, em doenças específicas nas quais o $[^{11}\text{C}]$ -(R)-PK11195 foi utilizado, como em infecções por vírus herpes, se localiza no cérebro de forma consistente com a conhecida distribuição da doença (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006).

A maioria dos estudos de quantificação das imagens de PET adquiridas com $[^{11}\text{C}]$ -(R)-PK11195 utilizam o modelo simplificado de tecido de referência (LAMMERTSMA; HUME, 1996), mesmo sem existir uma região de referência que não possua ligação específica com o $[^{11}\text{C}]$ -(R)-PK11195 (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006). A cinética do $[^{11}\text{C}]$ -(R)-PK11195, estudada a partir da utilização da função de entrada arterial, mostra que o modelo de dois compartimentos reversível (com quatro constantes cinéticas) é o mais adequado

(KROPHOLLER et al., 2006), mas ele exige a extração de sangue arterial do paciente ao longo de todo exame.

Debruyne e colaboradores (2002) propuseram método de semiquantificação baseado na razão entre a concentração de atividade em um intervalo de tempo fixo após a injeção do radiotraçador e a concentração de atividade do cérebro inteiro no último quadro temporal. Já Hammoud e colaboradores (2005) propuseram um método similar, que normaliza a concentração de atividade nas regiões de interesse ou ROIs (*regions of interest*) para a média da concentração de atividade na substância branca.

Estudos vêm sendo realizados com o intuito de aprimorar os resultados quantitativos obtidos a partir das imagens de PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (ROUSSET et al., 2007), mas sua acurácia não pode ser verificada facilmente, pois os estudos PET com humanos não são validados com autorradiografia de receptor *post-mortem* (BANATI, 2002; SCHWEITZER et al., 2010), de modo que valores de potencial de captação devem ser tratados como estimativas (BANATI, 2002).

Melhorias na quantificação vêm sendo alcançadas, mas a falta de sensibilidade e especificidade do [^{11}C]-(*R*)-PK11195 tem impedido o desenvolvimento de um método padronizado de análise que seja aplicável a todos os sujeitos (CHAUVEAU et al., 2008; DEBRUYNE et al., 2002; SCHWEITZER et al., 2010). O imageamento pela PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, em especial da micróglia ativada, poderia oferecer uma modalidade não-invasiva para o diagnóstico precoce de doenças do SNC, desde que fossem realizadas melhorias na quantificação. Além disso, ela poderia ser utilizada como estratégia de verificação da progressão da doença e resposta a tratamentos (SCHWEITZER et al., 2010; VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006).

Este trabalho faz parte do estudo clínico intitulado “Avaliação da ativação microglial pelo PET/CT e associação com o aparecimento de lesões na Ressonância Magnética em pacientes com Esclerose Múltipla remitente-recorrente submetidos a tratamento com fingolimode”, realizado no Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul da PUCRS, que visa verificar a associação da ativação microglial com dados clínicos, neuropsicológicos e extraídos de imagens moleculares e funcionais (BECKER et al., 2013). Maiores detalhes sobre o estudo clínico podem ser encontrados na subseção 4.1 (p. 44).

Este trabalho de pesquisa pretende investigar métodos de análise quantitativa e semiquantitativa de imagens de PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 para o diagnóstico da EM, identificando suas limitações e potencialidades.

2 PROBLEMA E OBJETIVOS

2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

A EM é uma doença neurodegenerativa autoimune, majoritariamente inflamatória, que afeta jovens-adultos e causa importantes sequelas neurológicas. O período inicial da doença é marcado por períodos de surtos e remissão, na maioria dos casos (FINKELSZTEJN, 2009), de modo que alterações identificadas de forma precoce podem ser utilizadas para se detectar uma crise e o tratamento da mesma, antes que sequelas neurológicas ocorram. Além disso, no diagnóstico da EM, existe a necessidade de se identificar disseminação de lesões no tempo e no espaço (POLMAN et al., 2011), embora a detecção precoce de lesões na EM ainda seja um desafio.

Muitos avanços ocorreram na quantificação de imagens de PET cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 de pacientes com EM, contudo não existe método padronizado para análise dessas imagens, especialmente no tocante ao diagnóstico e prognóstico. Atualmente o diagnóstico é realizado primeiramente a partir do quadro clínico e se utiliza as imagens de ressonância magnética (ou MR, *magnetic resonance*) como auxiliares (FINKELSZTEJN, 2009).

Os critérios atuais para o diagnóstico são baseados na revisão de 2010 dos critérios de McDonald (POLMAN et al., 2011), dentre os quais está a presença de lesões visualizadas em imagens por MR ponderadas em T2, com ou sem contraste por gadolínio (POLMAN et al., 2011). Entretanto, a detecção de lesões nas imagens por MR acontece quando as lesões já apresentam dimensões para serem identificadas visualmente. Dessa forma, a utilização de imagens de PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, que apresentam informações fisiológicas, poderia oferecer diagnóstico antes da detecção de lesões nas imagens por MR, oferecendo estratégia de verificação da progressão da doença e resposta a tratamentos, bem como sua eficiência (SCHWEITZER et al., 2010; VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006).

Com melhorias na quantificação, o imageamento PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 pode oferecer uma modalidade não-invasiva para diagnóstico precoce de doenças do SNC. Além disso, estudos são necessários para esclarecer o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cérebro ao longo do desenvolvimento de doenças do SNC (POLITIS et al., 2012; VERSIJPT et al., 2005). Dessa forma, esse estudo foi realizado na tentativa de contribuir na melhoria da quantificação e semiquantificação de imagens de PET cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195.

2.2 OBJETIVOS GERAL E ESPECÍFICOS

O objetivo geral desse trabalho é investigar métodos de análise quantitativa e semiquantitativa de imagens de PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, identificando suas limitações e potencialidades.

Os objetivos específicos são:

- Determinar procedimentos de preparação, processamento e extração de dados quantitativos das imagens de PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, que permitam a diferenciação de pacientes com esclerose múltipla de um grupo controle;
- Investigar métodos de quantificação e semiquantificação de imagens de PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, que permitam a diferenciação de pacientes com esclerose múltipla de um grupo controle em um estudo transversal;
- Avaliar a aplicação dos métodos de quantificação e semiquantificação estudados nos dados de um estudo clínico longitudinal de pacientes com esclerose múltipla do tipo remitente-recorrente em tratamento com fingolimode, utilizando imagens de PET/CT cerebrais estáticas e dinâmicas adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

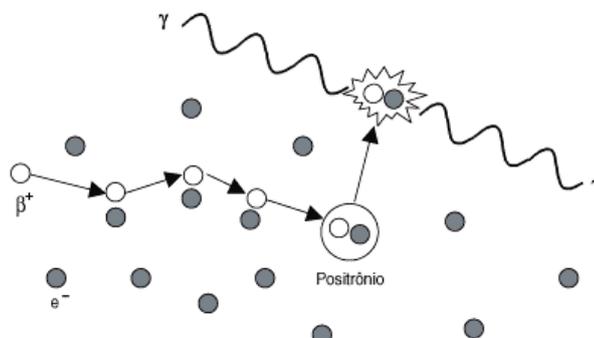
A revisão da literatura e as teorias principais para o entendimento adequado desse estudo podem ser encontradas nas seções a seguir.

3.1 TOMOGRAFIA POR EMISSÃO DE PÓSITRONS

A PET é uma técnica da medicina nuclear que utiliza radiotraçadores *in vivo* para aquisição das imagens, utilizada especialmente para diagnóstico e planejamento de tratamentos de câncer, diagnósticos cardíacos e neurológicos (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012). Quando acoplada a sistemas de tomografia computadorizada por raios X ou CT (*computed tomography*), oferece melhorias no diagnóstico por correlacionar a imagem funcional (PET) com a anatômica (CT) (BEYER et al., 2000).

Na modalidade PET, é utilizado um radionuclídeo que emite partículas positivas emitidas por núcleos radioativos, denominadas pósitrons (β^+), a antipartícula do elétron. O pósitron provém do núcleo instável a partir da transformação de um próton em um nêutron e é emitido juntamente com um neutrino e a energia excedente ($p^+ \rightarrow n + \beta^+ + \nu + \text{energia}$). O pósitron perde sua energia cinética devido a colisões nos átomos dos tecidos próximos, poucos milímetros após sua emissão, e interage com um elétron do meio formando o *positrônio*, de meia vida de aproximadamente 0,1 ps. A reação de aniquilação inicia quando o pósitron e o elétron interagem de modo que suas massas se transformam em energia na forma de dois fótons de aniquilação (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012; ROBILOTTA, 2006). A Figura 1 apresenta esquema do decaimento da partícula β^+ .

Figura 1. Esquema de decaimento do pósitron.



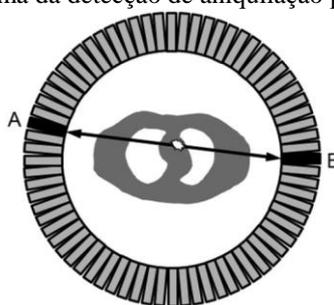
Esquema de decaimento do pósitron (β^+), que perde sua energia cinética devido a colisões nos átomos dos tecidos próximos poucos milímetros após sua emissão, interage com um elétron (e^-) do meio formando o *positrônio*, e o pósitron e o elétron interagem de modo que suas massas se transformam em energia na forma de fótons de aniquilação (γ). Fonte: Robilotta (2006).

No caso da aniquilação do par elétron-pósitron, a energia dos fótons de aniquilação é 511 keV devido à equivalência massa-energia. Ambos os fótons deixam o local da aniquilação em direções aproximadamente opostas (aprox. 180°), satisfazendo o princípio de conservação do momento das partículas estacionárias. Entretanto, ambas as partículas possuem certo movimento no instante da aniquilação e, portanto, os fótons de aniquilação apresentam direções que podem diferir do ideal perfeitamente anticolinear em alguns décimos de grau (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

A técnica de obtenção das imagens na PET é baseada na detecção dos fótons anticolineares de aniquilação por detectores posicionados circularmente ao redor do campo de visão. Dessa forma, o local da aniquilação, que está sobre a linha formada entre os detectores que detectaram os fótons de aniquilação, pode ser obtido a partir do mecanismo de detecção de aniquilação por coincidência. O sistema eletrônico do equipamento relaciona os tempos de ocorrência das interações nos detectores em regiões opostas e um evento é registrado quando se encontrar dentro de um intervalo da janela de coincidência, tipicamente de 6 a 12 ns (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

Devido à detecção da aniquilação por coincidência, o sistema da PET não necessita de colimador físico, possuindo colimação eletrônica. Consequentemente, a sensibilidade¹ desse tipo de sistema é alta quando comparada com a de outros sistemas de tomografia de emissão, como a tomografia de emissão de fóton único ou SPECT (*single photon emission computed tomography*) (BAILEY et al., 2014; CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012). A figura a seguir (Figura 2) apresenta um esquema da detecção de uma aniquilação de um par elétron-pósitron em um anel de detectores.

Figura 2. Esquema da detecção de aniquilação por coincidência.

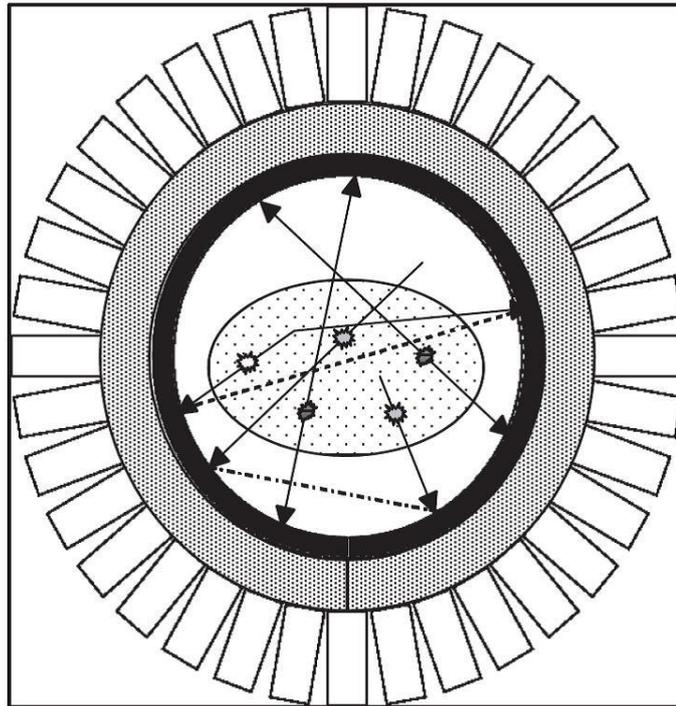


A detecção dos fótons de aniquilação, resultado da aniquilação do par elétron-pósitron, pode interagir com os detectores posicionados em um anel ao redor do paciente. Um evento é considerado válido quando detectado por dois detectores opostos (A e B) dentro de um intervalo temporal válido. A localização da aniquilação é assumida como estando em algum ponto da linha de resposta que teoricamente conecta os dois detectores. Fonte: Bailey e colaboradores (2014).

¹ Sensibilidade é definida como o número de eventos detectados por unidade de atividade (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

O sistema da PET é capaz de produzir uma saída válida sempre que dois eventos sejam detectados dentro da janela de coincidência temporal, denominadas coincidências totais. Idealmente, deveriam ser salvas as coincidências a partir da detecção de dois fótons originados da mesma aniquilação em dada linha de resposta, chamadas coincidências verdadeiras. Entretanto, existem outros eventos que são detectados pelo sistema, como coincidências aleatórias, de espalhamento e eventos únicos (ALESSIO et al., 2010; CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012), como mostra a Figura 3.

Figura 3. Esquema de eventos que podem ocorrer na detecção por coincidência.



Esquema de eventos que podem ocorrer na detecção por coincidência, onde as linhas de resposta cheias representam as coincidências verdadeiras, as tracejadas representam coincidências por espalhamento, e as linhas de resposta traço-ponto representam coincidências aleatórias. Fonte: Robilotta (2006).

Devido a diversos fatores físicos e limitações do equipamento, existe a necessidade de correções para que a informação retirada da imagem seja a mais próxima ao real possível. A subseção a seguir descreve alguns desses fatores e limitações, explicitando a necessidade de suas correções.

3.1.1 CORREÇÕES NECESSÁRIAS PARA QUANTIFICAÇÃO

Nas imagens de tomografia de emissão, é possível determinar o comportamento específico de um órgão ou sistema quando se conhece a atividade² real que se concentra em determinada parte do corpo. Este processo de obtenção do valor real da concentração do radiofármaco nos tecidos é denominado quantificação. Quantificar, na área de diagnóstico por imagens, significa traduzir em números as informações ou parâmetros físicos obtidos a partir da imagem.

Muitos fatores contribuem para degradar a imagem e afetam a quantificação de imagens da PET. Dentre eles, os processos físicos de absorção fotoelétrica e espalhamento Compton são importantes, uma vez que os radionuclídeos utilizados são de baixa energia (menor de 1,02 MeV) e os tecidos humanos são compostos, em sua maioria, por átomos de número atômico baixo ($Z < 20$). Nesses processos, ocorre a transferência parcial ou total de energia aos elétrons, causando uma mudança na história do fóton, alterando o ângulo de sua trajetória ou fazendo com que ele desapareça totalmente ao ser absorvido (KNOLL, 1989).

A atenuação é definida como o conjunto de efeitos responsáveis pela retirada de fótons de um feixe devido a diferentes processos físicos. Ela pode ser caracterizada pela probabilidade de ocorrência desses efeitos por unidade de comprimento no material absorvedor, sendo o coeficiente de atenuação linear (μ) a soma dessas probabilidades, dada pela Equação 1 (KNOLL, 1989):

$$\mu = \tau_{(\text{absorção fotoelétrica})} + \sigma_{(\text{espalhamento Compton})} + \kappa_{(\text{produção de pares})} \quad (1),$$

onde τ é a probabilidade de ocorrer absorção fotoelétrica, σ de ocorrer espalhamento Compton e κ produção de pares.

Dessa forma, o número de fótons restantes no feixe I pode ser encontrado em termos do número inicial de fótons no feixe (ou número de fótons no caso da ausência do material absorvedor) I_0 , através da Equação 2 (KNOLL, 1989).

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\mu x} \quad (2)$$

A absorção fotoelétrica é o processo no qual um fóton interage com um átomo absorvedor transferindo toda sua energia para o mesmo, resultando na ejeção de um elétron,

² Atividade de uma substância radioativa é definida como o número de decaimentos nucleares por unidade de tempo (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

chamado fotoelétron, de uma das camadas (KNOLL, 1989). Esse efeito é predominante para fótons de baixa energia e depende da energia do fóton, da espessura e da composição do meio atenuador, sendo um importante fator a ser considerado na quantificação. Esse fenômeno, nas imagens de tomografia de emissão, gera bordas aparentemente com maior atividade em uma área com captação uniforme, diminuindo a resolução espacial e aumentando o ruído da imagem (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

O espalhamento Compton resulta da interação do fóton com algum elétron livre ou fracamente ligado do meio, de modo que essa interação resulta no desvio do fóton e na transferência de parte de sua energia para o elétron de recuo. Já o espalhamento coerente (ou espalhamento Rayleigh) costuma ser ignorado, pois não ioniza nem excita elétrons, de tal forma que após a interação o fóton tem sua trajetória desviada, mas permanece com a energia original (KNOLL, 1989).

A detecção de um fóton que é espalhado, nas imagens de tomografia de emissão, ocorre em um local diferente do local de emissão do mesmo, uma vez que ele é desviado com certo ângulo de sua trajetória inicial. O espalhamento é responsável por redução no contraste e na nitidez, e acréscimo de contagens na imagem. Como os detectores não conseguem diferenciar fótons espalhados por pequenos ângulos apenas por sua energia, devido à resolução energética finita, torna-se necessária a utilização de técnicas de correção de espalhamento nas imagens tomográficas de emissão (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

Em PET, uma vez que a energia do fóton de aniquilação é de 511 keV, há a predominância do espalhamento Compton, afetando a aquisição, em especial devido à sua importante contribuição para os eventos não verdadeiros (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012). Outros fatores que afetam a quantificação também devem ser considerados, pois podem resultar em problemas em sua acurácia, como o movimento do paciente, que afeta a sequência de imagens na reconstrução e causa borramento, a eficiência de detecção do equipamento, o protocolo de aquisição e os métodos de reconstrução tomográfica utilizados. Todas as correções necessárias para quantificação costumam ser aplicadas pelos *softwares* proprietários na etapa de reconstrução, após a aquisição. Imagens de CT costumam ser usadas na correção dos efeitos da atenuação, sendo a imagem então denominada PET/CT.

Especificamente para os radionuclídeos utilizados em exames de PET, que são emissores de pósitron, o alcance efetivo do pósitron emitido no decaimento é um fator a ser considerado, por afetar a resolução espacial do sistema. A aniquilação não ocorre no mesmo

local do decaimento uma vez que o pósitron é emitido com certa energia cinética. Encontra-se na faixa de 0,5 a 5 MeV a energia cinética máxima do pósitron de radionuclídeos utilizados na PET, de modo que o alcance efetivo máximo desses pósitrons varie de 0,1 a 2 cm (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012). Dentre os radionuclídeos utilizados em PET, o flúor-18 (^{18}F) e o carbono-11 (^{11}C) apresentam ampla aplicabilidade, possuindo energia cinética máxima de 635 keV e 960 keV, respectivamente. A meia-vida física do ^{18}F é de 109,8 min, enquanto a do ^{11}C é de 20,4 min, ambos apresentando fração de emissão de pósitrons de 0,99 (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012).

A técnica PET possui cada vez maior aceitação clínica e sua utilização está em constante crescimento. Atualmente, as maiores aplicações da PET estão em doenças oncológicas, neurológicas e cardiovasculares (CHERRY; SORENSON; PHELPS, 2012). No cérebro, a PET pode ser utilizada em diversas doenças neurodegenerativas, como Alzheimer e Parkinson (BANATI et al., 2000; CHAUVEAU et al., 2008), e no diagnóstico de processos inflamatórios, como em infecções por vírus herpes (CAGNIN et al., 2001), entre outros. A subseção que segue descreve como o processo de neuroinflamação pode ser imageado utilizando dessa modalidade de imagem.

3.2 IMAGEAMENTO DA NEUROINFLAMAÇÃO

Inflamação é um processo natural responsável pela restauração da homeostase do tecido e apresenta forte interação entre o tecido inflamado e o sistema imunitário. Tal processo pode ser encontrado em situações patológicas, sendo benéfico para reparação e regeneração, ou podendo causar dano quando excessiva ou persistente (JACOBS; TAVITIAN, 2012).

O SNC possui interação direta e dinâmica com as células imunitárias inatas e adaptativas, de modo que a neuroinflamação é um processo particular devido às barreiras do SNC (crânio e barreira hematoencefálica, ou BHE), à limitada capacidade regenerativa do SNC, e às perdas definitivas que podem ser causadas por esse tipo de processo (JACOBS; TAVITIAN, 2012).

Doenças do SNC podem levar à neuroinflamação, com objetivo de limitar a doença, limpar o dano no tecido e dar suporte ao reparo e à regeneração (JACOBS; TAVITIAN, 2012). Contudo, sabe-se que a neuroinflamação no SNC pode vir a contribuir para a progressão da doença. Neurodegeneração é um processo fisiológico defensivo, no qual tanto

células residentes no SNC quanto células que infiltram do sistema imunitário periférico possuem importantes papéis (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015; JACOBS; TAVITIAN, 2012).

A técnica PET tem sido amplamente utilizada no imageamento da neuroinflamação por prover importante informação fisiológica (TURKHEIMER et al., 2015). Entretanto, a PET não é capaz de fornecer informações suficientes sobre a anatomia para identificação de estruturas específicas. Por isso, tem sido utilizada a informação anatômica das imagens de ressonância magnética ou MR (*magnetic resonance*), que possui alta resolução espacial, juntamente com as informações funcionais da imagem de PET. O imageamento por MR ou MRI (*magnetic resonance imaging*) é baseado na obtenção de informações sobre materiais biológicos a partir das propriedades magnéticas de certos núcleos, utilizando a interação entre campos magnéticos externos, momentos magnéticos dos átomos dos tecidos e radiofrequência (HENDEE; RITENOUR, 2002).

No diagnóstico de doenças neuroinflamatórias e neurodegenerativas, o MRI possui papel importante por ser não-invasivo e apresentar ampla utilização na prática clínica, além de apresentar importante informação com a qual é possível realizar a diferenciação entre as diferentes estruturas do cérebro, como substância cinzenta ou GM (*gray matter*), substância branca ou WM (*white matter*) e fluido cerebrospinal ou CSF (*cerebrospinal fluid*) (YODER, 2013).

3.2.1 PROTEÍNA TRANSLOCADORA (18 kDA) OU TSPO

A ativação da micróglia, o macrófago intrínseco do cérebro, ocorre de forma significativa após danos neuronais importantes, resultantes de processos traumáticos, inflamatórios e degenerativos, dentre outros (BANATI, 2002; HINZ; BOELLAARD, 2015). Dessa forma, a micróglia ativada serve como um indicador de eventos patológicos, que, após ativada, sofre alterações em morfologia, migra em direção ao local da lesão, prolifera, sintetiza numerosas moléculas pró-inflamatórias e pode liberar metabólitos neurotóxicos, resultando em perda neuronal por dano prolongado mediado pela micróglia (BANATI, 2002; SCHWEITZER et al., 2010). A micróglia pode ser ativada por lesões distantes caso esteja nas proximidades de axônio de neurônio lesionado, por degeneração retrógrada e anterógrada (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015; HINZ; BOELLAARD, 2015).

A proteína translocadora (18 kDa) ou TSPO, primeiramente descrita como receptor benzodiazepínico periférico (TURKHEIMER et al., 2015), é uma proteína mitocondrial codificadas em núcleo que está presente em abundância nas regiões periféricas (CASELLAS; GALIEGUE; BASILE, 2002; HINZ; BOELLAARD, 2015). Entretanto, o SNC saudável apresenta essa proteína em níveis baixos (BANATI et al., 2000; HINZ; BOELLAARD, 2015), exceto em áreas que não possuem BHE e nas células que revestem os ventrículos (ependimárias) (SCHWEITZER et al., 2010).

Diversos estudos mostram que alta densidade de ligação com TSPO pode ser observada quando há ativação da micróglia (HINZ; BOELLAARD, 2015; VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006), uma vez que a TSPO é expressa no lado externo da membrana mitocondrial da micróglia ativada (SCHWEITZER et al., 2010). Ao apresentar abundante concentração, a TSPO se torna potencial biomarcador *in vivo* em PET do acúmulo de macrófagos e um alvo interessante para a quantificação (HINZ; BOELLAARD, 2015; SCHWEITZER et al., 2010).

A molécula PK11195 possui alta seletividade e afinidade para a TSPO (HINZ; BOELLAARD, 2015; SCHWEITZER et al., 2010). Devido a essa característica, é uma escolha importante para imageamento da ativação microglial *in vivo* com PET quando marcado com ^{11}C , apresentando um indicador de doença cerebral ativa com ampla aplicabilidade (BANATI, 2002). Desde sua aplicação inicial, a molécula PK11195 marcada com ^{11}C foi aplicada em diversos estudos de neuroinflamação, como em acidente vascular encefálico, neurodegeneração, traumatismo craniano e neoplastia (JACOBS; TAVITIAN, 2012). O enantiômero (*R*)-PK11195 apresenta maior afinidade com a TSPO quando comparado com seu estereoisômero (*S*)-PK11195 em estudos de lesões corticais em ratos (BANATI et al., 2000; HINZ; BOELLAARD, 2015; SCHWEITZER et al., 2010).

Cineticamente, o PK11195 apresenta alta (>90%) e rápida extração do sangue para o cérebro e não é impedido pela BHE, de modo que a entrega do fármaco ocorre uniformemente no cérebro normal (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006), tanto em regiões com a BHE, como em outras regiões (BANATI, 2002).

Além das aplicações citadas anteriormente, outra aplicação importante do imageamento da PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 em doenças neuroinflamatórias é na EM (BANATI et al., 2000; DEBRUYNE et al., 2002, 2003; GIANNETTI et al., 2014; SCHMIDT et al., 2012; VAS et al., 2008; VERSIJPT et al., 2005), como será descrito na subseção que segue.

3.2.2 ESCLEROSE MÚLTIPLA

A EM é uma doença de importante impacto social, afetando predominantemente adultos economicamente ativos, sendo a doença neurodegenerativa que causa mais sequelas neurológicas. Também apresenta características de doença autoimune, majoritariamente inflamatória, caracterizada por três processos que ocorrem simultaneamente: inflamação, desmielinização e perda axonal (FINKELSZTEJN, 2009).

Os quadros evolutivos podem ser divididos em progressivo e recorrente-remitente (ou surto-remissão), sendo o último a forma inicial mais comum da doença (80 a 85%). Nos casos de EM recorrente-remitente, há uma estabilidade clínica entre os surtos, que pioram ao longo do tempo, podendo ou não haver a persistência da seqüela neurológica (FINKELSZTEJN, 2009). Já nos casos progressivos da EM, a doença avança progressivamente e sem surtos (FINKELSZTEJN, 2009).

Lesões inflamatórias características da EM são causadas pela infiltração de células imunitárias pela BHE. A infiltração de células imunitárias para o SNC acaba causando inflamação, desmielinização, gliose, degeneração neuroaxonal e, por fim, interrupção da comunicação entre neurônios. A gliose é ativação e proliferação das células gliais (microglia, oligodendrócitos e astrócitos) em resposta à danos no SNC e é um importante processo na EM (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015).

A EM é iniciada por linfócitos auto-reativos que respondem à antígenos do SNC, embora ainda não se saiba quais sejam. Atualmente as causas da EM são divididas por fatores genéticos e ambientais, mas ainda não se conhece exatamente o envolvimento desses fatores no desenvolvimento e progressão da doença (DENDROU; FUGGER; FRIESE, 2015).

3.2.2.1 Diagnóstico da esclerose múltipla

O diagnóstico da EM é realizado primeiramente a partir do quadro clínico, sendo as imagens por MR auxiliares no processo e, em alguns casos, existe a necessidade da extração do CSF. Quando diagnosticada, o paciente é classificado de acordo com a Escala Expandida do Estado de Incapacidade de Kurtzke ou EDSS (*Expanded Disability Status Scale*), onde uma série de pontos são computados de acordo com os escores funcionais, como função visual, motora, sensitiva e outras (FINKELSZTEJN, 2009).

Não existe um marcador biológico que possa ser utilizado no diagnóstico de EM, de modo que um conjunto de critérios diagnósticos é utilizado para determinar, através de sua combinação, os maiores valores de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico, conhecidos como critérios de McDonald (FINKELSZTEJN, 2009). Atualmente, os critérios do diagnóstico são baseados na revisão de 2010 dos critérios de McDonald (POLMAN et al., 2011), que incluem a disseminação de lesões no espaço e no tempo.

A disseminação de lesões no espaço pode ser verificada com a presença de uma ou mais lesões em duas das quatro regiões consideradas características: justacortical, periventricular, infratentorial e medula espinhal (POLMAN et al., 2011). Já a disseminação no tempo pode ser verificada com a presença de uma nova lesão em comparação com exame de MRI realizado anteriormente (POLMAN et al., 2011). Tais lesões representam a perda axonal (GIANNETTI et al., 2014) e podem ser visualizadas em imagens por MR ponderadas em T2, com ou sem contraste por gadolínio (POLMAN et al., 2011). As lesões de EM apresentam hipersinal nas imagens por MR ponderadas em T2, e costumam ser denominadas buracos negros (BNs) por apresentarem hipossinal nas imagens por MR ponderadas em T1 (GIANNETTI et al., 2014). Essas lesões, em imagens de PET adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, usualmente aparecem hipocaptantes quando não ativas e hipercaptantes caso ainda ativas (GIANNETTI et al., 2014).

3.3 AQUISIÇÃO, PROCESSAMENTO E QUANTIFICAÇÃO DE IMAGENS DE PET: REVISÃO DA LITERATURA

Esta subseção descreve a revisão da literatura sobre a aquisição, processamento e quantificação de imagens de PET, particularmente aquelas adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, radiofármaco utilizado no desenvolvimento da pesquisa descrita nesta dissertação.

3.3.1 AQUISIÇÃO DE IMAGENS DE PET

As contagens que produzem as imagens de PET podem ser adquiridos de forma contínua desde a administração do radiofármaco até sua excreção ou estabilização, gerando uma imagem dinâmica, ou a partir da acumulação das contagens em um intervalo de tempo fixo, produzindo uma imagem estática.

As subseções a seguir apresentam uma revisão da literatura sobre as formas de aquisição das imagens de PET adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 e questões abertas sobre este tema.

3.3.1.1 Imagens dinâmicas

Dados PET adquiridos dinamicamente são aqueles com os quais é possível observar o comportamento da captação do radiotraçador no tecido de interesse ao longo do tempo. Para isso, costumam ser traçadas curvas de atividade ao longo do tempo ou TACs (*time-activity curves*), apresentando a concentração de atividade no tecido ou ROI (em Bq/mL, por exemplo). Costuma-se iniciar a aquisição das imagens antes da administração do radiofármaco (ou junto com a injeção) para que todo o tempo de imageamento, desde o princípio, esteja presente na aquisição (YODER, 2013).

O modo lista ou *list mode* é uma das formas de adquirir imagens dinâmicas, onde são registrados todos os eventos de coincidência de forma contínua ao longo da aquisição (YODER, 2013). A partir do modo lista, o usuário pode especificar como os dados devem ser armazenados em cada quadro da amostragem temporal, permitindo maior flexibilidade. Esta possibilidade de aquisição em modo lista é especialmente importante quando a amostragem temporal mais adequada ainda não foi identificada, como ocorre no caso do uso de radiofármacos que ainda não estão consolidados na prática clínica (YODER, 2013).

Ainda não há consenso, na literatura, em relação à amostragem temporal das imagens de estudos dinâmicos de PET adquiridos com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, apesar de diversos estudos terem sido realizados nos estudos dinâmicos de PET adquiridos com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (ANDERSON et al., 2007; DEBRUYNE et al., 2002, 2003; GIANNETTI et al., 2014; KROPHOLLER et al., 2005; SCHUITEMAKER et al., 2007a, 2007b; SU et al., 2013; VERSIJPT et al., 2005; YAQUB et al., 2012). A Tabela 1 apresenta as amostragens temporais (número de quadros e tempo de cada quadro) utilizadas em diferentes estudos PET com esse radiofármaco.

O quadro temporal de radiação de fundo desses estudos pode ser utilizado para correção da radiação de fundo, devido aos estudos utilizando mais de um radiotraçador, como a aquisição de imagens com [^{15}O] CO_2 por inalação para medidas de fluxo sanguíneo cerebral em conjunto com o [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (DEBRUYNE et al., 2002, 2003).

Tabela 1. Amostragem temporal utilizada por diferentes estudos.

Estudo	Nº total de quadros	Amostragem temporal
Kropholler (2005), Schuitemaker (2007a, 2007b) e Yaqub (2012), e respectivos colaboradores	22	1 × 30s (radiação de fundo), 1 × 15s, 1 × 5s, 1 × 10s, 2 × 15s, 2 × 30s, 3 × 60s, 4 × 150s, 5 × 300s, e 2 × 600s
Debruyne (2002, 2003) e Versijpt (2005) e respectivos colaboradores	19	2 × 5s, 5 × 10s, 4 × 60s, 2 × 180s, 1 × 240s, 1 × 300s, e 4 × 600s
Anderson (2007), Giannetti (2014), Politis (2012) e Turkheimer (2007) e respectivos colaboradores	18	1 × 30s (radiação de fundo), 1 × 15s, 1 × 5s, 1 × 10s, 1 × 30s, 4 × 60s, 7 × 300s, e 2 × 600 s
Su e colaboradores (2013)	18	1 × 420s (radiação de fundo), 1 × 15s, 1 × 5s, 1 × 10s, 1 × 30s, 4 × 60s, 7 × 300s, e 2 × 600s

Amostragem temporal utilizada por diferentes estudos dinâmicos com [¹¹C]-(R)-PK11195. Fontes: Anderson (2007), Debruyne (2002, 2003), Giannetti (2014), Kropholler (2005), Politis (2012), Schuitemaker (2007a, 2007b), Su (2013), Turkheimer (2007), Versijpt (2005) e Yaqub (2012), e respectivos colaboradores.

Além da questão da escolha da melhor amostragem temporal de uma imagem dinâmica, as imagens de PET usualmente precisam passar por uma etapa de processamento, na qual elas são corregistradas com imagens anatômicas de outras modalidades, visando melhorar a localização de estruturas e correção de efeitos físicos característicos das imagens de PET, tais como a correção de atenuação e efeito de volume parcial ou PVE (*partial volume effect*), dentre outros. Imagens com maior resolução espacial, como as imagens de CT, costumam ser usadas na correção dos efeitos da atenuação, enquanto as imagens por MR são utilizadas na correção do PVE.

3.3.1.2 Imagens estáticas

Além das imagens dinâmicas, é possível realizar estudos PET utilizando imagens estáticas, ou seja, a imagem obtida a partir de algum intervalo de tempo da aquisição que apresenta um único quadro, com a média de concentração radioativa em um intervalo temporal da aquisição, escolhido pelo usuário.

Da mesma forma que as imagens dinâmicas, imagens estáticas devem ser extraídas da estação de trabalho de modo específico escolhido pelo usuário, para que então possam passar pelas etapas de pré-processamento.

Não existe consenso na literatura sobre o intervalo temporal que deve ser utilizado na análise de imagens de PET estáticas adquiridas com [¹¹C]-(R)-PK11195. Diversos intervalos

temporais já foram apresentados, com suas respectivas justificativas, quando presentes, tais como:

- 5 a 20 min, por ser o período que apresenta a maior atividade acumulada do radiotraçador e melhor qualidade da imagem, excluindo a fase de perfusão (KUMAR et al., 2012);
- 5 a 30 min, por ser o intervalo no qual o suposto equilíbrio é alcançado em áreas de suposta alta densidade de ativação microglial (ANDERSON et al., 2007);
- 40 a 60 min, por ser o período no qual as curvas de atividade ao longo do tempo, para pacientes e controles, apresentam declínio similar no período de estado estável (40 min após a injeção do radiotraçador) (DEBRUYNE et al., 2002; VERSIJPT et al., 2005);
- Outros estudos utilizam ainda intervalos temporais de 0 a 60 min (POLITIS et al., 2012), 10 a 60 min (HAMMOUD et al., 2005) e 30 a 60 min (SCHUITEMAKER et al., 2007a).

Assim, observa-se na literatura que não há ainda consenso em relação à melhor forma de aquisição e formatação dos intervalos temporais das imagens de PET dinâmicas ou estáticas adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, sendo uma questão aberta de pesquisa, que será objeto de investigação nesta dissertação.

3.3.2 QUANTIFICAÇÃO E SEMIQUANTIFICAÇÃO DE [^{11}C]-(*R*)-PK11195

A técnica de imageamento da PET é adequada para medidas de traçadores *in vivo* por permitir a quantificação chamada “absoluta” e utilizar de radionuclídeos que não modificam as propriedades dos traçadores a eles ligados, apresentando medidas de distribuição do radiotraçador durante a aquisição (TURKHEIMER et al., 2015). A quantificação absoluta somente pode ser obtida com a utilização de dados dinâmicos, sendo medidas quantitativas definidas por propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas do sistema (YODER, 2013).

Com a informação obtida a partir da imagem dinâmica, a função de entrada, que pode ser obtida a partir de amostras de sangue arterial ou da própria imagem, e aplicando um modelo cinético apropriado, é possível se obter parâmetros bioquímicos, como potencial de ligação entre o radiofármaco e o tecido ou BP (*binding potential*), e volume de distribuição

(V_T). Esses dois parâmetros fornecem informações fisiológicas importantes sobre a retenção do radiotraçador no tecido (YODER, 2013).

O parâmetro BP foi introduzido inicialmente para medidas *in vitro* e foi, posteriormente, incorporado nos estudos *in vivo*, representando a concentração de ligação específica em razão de outra concentração de referência no equilíbrio. Já V_T possui definição na farmacologia clínica e se refere ao volume de sangue (ou plasma) que seria necessário para contar pela quantidade de droga no corpo inteiro (INNIS et al., 2007). Em imageamento, tal V_T é dado pela razão entre concentração de radiofármaco em um tecido de interesse pela aquela no plasma. Innis e colaboradores (2007) apresentaram um artigo de revisão no qual maiores detalhes podem ser encontrados.

A modelagem cinética utiliza simplificações para descrever sistemas biológicos com certo grau de fidedignidade, amplamente utilizado em farmacologia, em particular. Utilizar modelos cinéticos para descrever a biologia de um tecido é chave para obtenção de parâmetros significativos. Entretanto, ambas as concentrações de radiofármaco no plasma e no tecido devem ser acuradamente medidas, essas podendo ser limitadas por falta de instrumentação necessária (TURKHEIMER et al., 2015).

Existem diversos desafios apresentados pela literatura relacionados à quantificação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195, como a afinidade de PK11195 com diversos sítios de ligação no sangue e sua distribuição uniforme por todo o cérebro. Usualmente, a concentração de radioatividade no plasma é corrigida pela separação das células de sangue do plasma, mas tal aproximação somente é adequada quando a fração ligada nas células do sangue é pequena, quando comparada com a fração livre no plasma, ou quando não há variação dessa entre sujeitos. Especificamente para o PK11195, a fração livre no plasma é muito pequena (usualmente menor ou igual a 5%), não permitindo medidas quantitativas acuradas, além de haver ligação de PK11195 com as proteínas no sangue (TURKHEIMER et al., 2015).

Quando a quantificação de TSPO não pode ser realizada utilizando a concentração de radiotraçador livre no plasma, a curva de concentração de atividade ao longo do tempo ou TAC (*time activity curve*) de uma região de referência do cérebro pode ser utilizada. Contudo, o que caracteriza a chamada região de referência é que ela deve ser livre de ligação específica e com perfusão similar à região alvo, o que se mostra um desafio para o caso do PK11195 (TURKHEIMER et al., 2015).

As subseções a seguir detalham alguns dos métodos de quantificação de imagens de PET adquiridas com [¹¹C]-(R)-PK11195 apresentados na literatura. Dentre os métodos apresentados estão aqueles que serão investigados nesse estudo, escolhidos por questões teóricas, práticas e por limitações da coleta de dados.

3.3.2.1 SUV e SUVR

Na análise de imagens estáticas, somente informações semiquantitativas podem ser obtidas (YODER, 2013), sendo a medida semiquantitativa mais comum o valor de captação padronizada ou SUV (*standardized uptake value*). O SUV corresponde à concentração de atividade (dada em Bq/ml, por exemplo) na ROI normalizada para a concentração de atividade injetada no sujeito por massa corporal (dada em Bq/kg, por exemplo). O uso do SUV é válido com a suposição de que o material radioativo foi distribuído igualmente por todo o corpo (YODER, 2013). A Equação 3 apresenta o cálculo do valor de SUV.

$$SUV = \frac{C_{ROI}}{A_{inj} / m_{sujeito}} \quad (3)$$

onde C_{ROI} é a concentração de atividade na região em análise e A_{inj} a atividade injetada no sujeito de massa m .

Outra forma de semiquantificação é a razão entre valores de SUV, denominado SUVR, que é a razão entre o SUV do tecido de interesse e o SUV de um tecido de referência (LOPRESTI et al., 2005). A Equação 4 mostra o cálculo de desse parâmetro.

$$SUVR^{REF} = \frac{SUV_{ROI}}{SUV_{REF}} = \frac{C_{ROI}}{A_{inj} / m_{sujeito}} \bigg/ \frac{C_{REF}}{A_{inj} / m_{sujeito}} \quad (4)$$

onde C_{REF} é a concentração de atividade na região de referência. É possível observar que o termo da concentração de atividade injetada no sujeito por massa ($A_{inj} / m_{sujeito}$) pode ser simplificado no cálculo do SUVR. Por isso, a Equação 4 pode ser simplificada para a Equação 5, como segue:

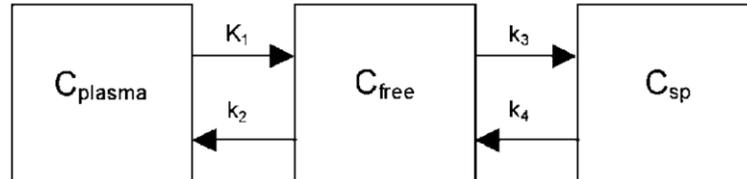
$$SUVR^{REF} = \frac{C_{ROI}}{C_{REF}} \quad (5)$$

Dessa forma, o SUVR podem ser considerado como a razão entre concentrações de atividade, ou ainda a normalização da concentração de atividade em uma ROI para a concentração de atividade na região de referência.

3.3.2.2 Modelagem cinética

A cinética do $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$ vem sendo estudada utilizando uma função de entrada obtida através de medidas de concentração de atividade em sangue arterial, sendo o modelo de dois compartimentos reversível o mais adequado, com quatro constantes cinéticas, como esquematizado na Figura 4 (KROPHOLLER et al., 2006).

Figura 4. Modelo de dois compartimentos reversível.



Modelo de dois compartimentos reversível com quatro constantes cinéticas, onde “ C_{plasma} ” representa a concentração de atividade no plasma, “ C_{free} ” a concentração de atividade livre no tecido e “ C_{sp} ” representa a concentração de atividade do compartimento de ligação específica. Fonte: Kropholler e colaboradores (2006).

As equações 6 e 7 mostram a formulação matemática do modelo de dois compartimentos e as constantes cinéticas que as compõe (KROPHOLLER et al., 2006):

$$\frac{dC_{\text{free}}(t)}{dt} = K_1 C_{\text{plasma}}(t) - (k_2 + k_3) C_{\text{free}}(t) + k_4 C_{\text{sp}}(t) \quad (6)$$

e

$$\frac{dC_{\text{sp}}(t)}{dt} = k_3 C_{\text{free}}(t) - k_4 C_{\text{sp}}(t) \quad (7),$$

onde C_{plasma} representa a concentração de atividade no plasma, C_{free} a concentração de atividade livre no tecido e C_{sp} representa a concentração de atividade do compartimento de ligação específica. A constante K_1 é a constante de taxa de transferência do plasma arterial para o tecido, k_2 a constante de taxa de transferência do tecido para o plasma, e k_3 e k_4 são constantes de associação e dissociação, respectivamente, entre os estados livre e de ligação específica.

3.3.2.3 Métodos de região de referência

Os métodos que utilizam de uma região de referência foram introduzidos no início dos anos 1990, apresentando importante vantagem de evitar amostragem de sangue arterial durante aquisição da imagem de PET (HINZ; BOELLAARD, 2015). Hinz e Boellaard (2015)

apontaam a vantagem deste método para viabilizar estudos longitudinais, além de eliminar a necessidade de métodos de identificação de frações de metabólitos no plasma.

Para que uma região seja considerada de referência para modelagem cinética ela deve ser livre de ligação específica com o radiofármaco, compartilhar somente as ligações livre e não-específica com a região de expressão do alvo de imageamento, e não ser afetada pela doença (HINZ; BOELLAARD, 2015).

Estudos anteriores (DOBLE et al., 1987; HINZ; BOELLAARD, 2015) mostram que existe uma distribuição heterogênea dos locais de ligação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cérebro, com maior ligação em estruturas como o núcleo talâmico dorsomedial, o núcleo olivar inferior da medula e no córtex com moderada densidade no giro cingulado, na ínsula e no giro orbital. Estudos *post mortem* mostram menor ligação do [^3H]-PK11195 na GM cerebelar do que na cortical ou nas estruturas diencefálicas. Porém, o cerebelo apresenta ligação específica com o [^3H]-PK11195 (DOBLE et al., 1987; HINZ; BOELLAARD, 2015).

O cerebelo é uma das escolhas frequentes de região de referência nos estudos de PET, sendo rodeado por seios venosos que possuem significativa concentração de TSPO no tecido endotelial e músculo liso (HINZ; BOELLAARD, 2015; TURKHEIMER et al., 2007; YAQUB et al., 2012). De fato, é consenso entre os pesquisadores da área que a concentração de ligação específica de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cerebelo não é desprezível, o que leva à subestimação da estimativa dos parâmetros cinéticos (HINZ; BOELLAARD, 2015). Mesmo assim, alguns autores defendem a utilização da função de entrada cerebelar, por considerações teóricas e práticas (SU et al., 2013).

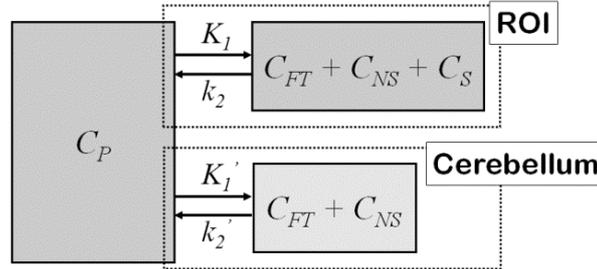
As seções a seguir descrevem alguns dos métodos que utilizam regiões de referência na quantificação de imagens de PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, encontrados na literatura.

3.3.2.3.1 *Modelo simplificado de tecido de referência*

O modelo simplificado de tecido de referência ou SRTM (*simplified reference tissue model*), usualmente empregado na estimativa dos valores de BP quando não se possui a função de entrada de plasma, apresenta valores de BP de imagens de PET de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 pequenos (TURKHEIMER et al., 2007) quando comparados com os obtidos pelos modelos que utilizam da função de entrada de plasma (KROPHOLLER et al., 2005).

O SRTM pode ser esquematizado como mostra a Figura 5, com equações 8 e 9 o descrevendo (OIKONEN, 2015).

Figura 5. Modelo de compartimentos com tecido de referência.



Modelo de compartimentos com tecido de referência, onde o compartimento na parte superior da figura representa a concentração no tecido com ligação específica (ROI), enquanto o compartimento na parte inferior da figura representa o tecido de referência (cerebelo). Fonte: adaptado de Oikonen (2015).

As equações 8 e 9 descrevem o comportamento do SRTM (OIKONEN, 2015):

$$\frac{dC_T(t)}{dt} = R_1 \frac{dC_R(t)}{dt} + k_2 C_R(t) - \frac{k_2}{1 + BP_{ND}} C_T(t) \quad (8)$$

e

$$C_T(t) = R_1 C_R(t) + R_1 (k_2' - k_{2a}) C_R(t) \otimes e^{-k_{2a} t} \quad (9),$$

onde, por definição, $R_1 = K_1/K_1'$, $k_{2a} = k_2/(1 + BP_{ND})$ e $BP_{ND} = k_3/k_4$.

Este modelo é baseado na suposição de que o V_T é o mesmo para o tecido de interesse e o tecido utilizado como referência ($K_1/k_2 = K_1'/k_2'$), e que a cinética do tecido rico em receptores é tal que não é trivial distinguir entre os compartimentos livre e não específico. Ou seja, a TAC pode ser ajustada ao modelo de compartimento de um tecido.

Críticas sobre a utilização do SRTM incluem o fato de se utilizar uma configuração de compartimentos que não foi validada previamente com a utilização de função de entrada derivada da amostragem de sangue arterial, e a suposição de que existe uma região de referência sem ligação específica de $[^{11}\text{C}]-(R)\text{-PK11195}$ (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006).

3.3.2.3.2 Modelo de Logan com tecido de referência

O modelo de Logan é um método simples que lineariza os dados para estimação de V_T para ligantes reversíveis (LOGAN et al., 1990). Contudo, tal método necessita de função

de entrada arterial. Uma alternativa é a utilização de um tecido de referência no método de Logan, proposto por Logan e colaboradores (1996).

O modelo de Logan com tecido de referência utiliza de uma equação linear (Equação 10) na qual a inclinação da curva é equivalente à razão do V_T entre tecido de interesse e de referência ou DVR (*distribution volume ratio*), onde $DVR = BP_{ND} + 1$ (LOGAN et al., 1996). A equação linear do modelo que considera o tempo inicial para o ajuste (t^*) é escolhido pelo usuário, correspondendo ao ponto no qual aumento significativo da inclinação da reta.

$$\frac{\int_0^t C_T(\tau) d\tau}{C_T(t)} = DVR \left[\frac{\int_0^t C_R(\tau) d\tau + \frac{C_R(t)}{k_2'}}{C_T(t)} \right] + b \quad (10)$$

Esse método considera os dados da região de referência e o valor médio da constante taxa de troca do tecido para o plasma (\bar{k}_2') para estimar e aproximar a informação obtida pela função de entrada arterial (LOGAN et al., 1996). Especificamente para [^{11}C]-(*R*)-PK11195, a utilização do modelo de Logan com tecido de referência resultou em estimativas de BP_{ND} acuradas quando comparadas às estimativas obtidas pelo SRTM (KROPHOLLER et al., 2007). Contudo, no mesmo estudo foi observada tendências na presença de deficiências no fluxo do radiotraçador, embora tal tendência também seja observada em outros métodos que utilizam região de referência.

3.3.2.3.3 *Análise de agrupamento*

Selecionar uma região de referência na imagem de PET cerebral com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 é uma tarefa complicada, uma vez que a micróglia está distribuída por todo o cérebro, e pode até ser encontrada em projeções de tecido aparentemente saudável (BANATI, 2002). Uma alternativa para modelos que utilizam regiões de referência está no uso da análise de agrupamento, que consideram cada volume de elemento de imagem ou *voxel* (da aglutinação de *volume picture element*) como um conjunto de classes, chamados algoritmos

de agrupamento supervisionado³ ou SVCA (*supervised cluster algorithm*) (TURKHEIMER et al., 2007).

Usualmente os *voxels* de imagens de PET são agrupados por proximidade, utilizando imagens anatômicas de alta resolução (imagens por MR), considerando que tais *voxels* se comportam cineticamente da mesma forma por estarem anatomicamente próximos. Esse método de agrupamento não considera fatores como os efeitos de volume parcial ou PVE (*partial volume effect*) e a heterogeneidade dos *voxels* (HINZ; BOELLAARD, 2015).

Turkheimer e colaboradores (2007) propuseram um algoritmo de agrupamento melhorado, capaz de extrair a região de referência para a quantificação de imagens de PET de [¹¹C]-(R)-PK11195, após normalização de cada quadro pela subtração da média e divisão pelo desvio padrão. Esse método, denominado SVCA6, assume que cada TAC é a combinação linear ponderada de seis classes cinéticas predefinidas, associadas com: (1) GM com ligação específica; (2) GM sem ligação específica; (3) WM; (4) sangue; (5) crânio; e (6) regiões de tecido mole (BOELLAARD et al., 2008; TURKHEIMER et al., 2007; YAQUB et al., 2012). Com a utilização desse algoritmo, as curvas tecido de referência extraído apresentaram conformidade com os resultados obtidos a partir de métodos que utilizam função de entrada de plasma (TURKHEIMER et al., 2007; YAQUB et al., 2012).

Em 2008, o algoritmo SVCA6 foi aperfeiçoado com a retirada das classes cinéticas do osso e do tecido mole, reduzindo o mesmo a quatro classes (SVCA4), melhorando a precisão pela redução de parâmetros e eliminação de ruído/erros provenientes das regiões externas ao cérebro (BOELLAARD et al., 2008; YAQUB et al., 2012). Entretanto, surgiu a necessidade de usar imagens anatômicas, como as imagens por MR, para eliminar as classes cinéticas do osso e do tecido mole a partir da aplicação de uma máscara para incluir apenas tecido cerebral (BOELLAARD et al., 2008; YAQUB et al., 2012).

Outros estudos utilizam região de referência derivada da análise de agrupamento (BANATI et al., 2000; BOELLAARD et al., 2008; POLITIS et al., 2012; SCHWEITZER et al., 2010; SU et al., 2013; TURKHEIMER et al., 2007; YAQUB et al., 2012) seguida da aplicação do SRTM para geração de imagem paramétrica, na qual os valores de *pixel* representam BPs (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006). A combinação do SRTM com inclusão de componente que considera a expressão de TSPO na vasculatura, utilizando a função de entrada obtida a partir do algoritmo SVCA4, apresentou melhores resultados

³ Agrupamento supervisionado é aquele no qual os centroides do agrupamento são pré-definidos (HINZ; BOELLAARD, 2015).

quando comparada com outras combinações, como SRTM e SVCA6 (HINZ; BOELLAARD, 2015; YAQUB et al., 2012).

Embora o método da análise de agrupamento seja considerado o melhor método quantitativo de análise das imagens de PET adquiridas com [¹¹C]-(R)-PK11195, e possa ser utilizada como substituta para a função de entrada arterial, ele não é válido quando todo o cérebro pode estar uniformemente envolvido no processo inflamatório, como pode ocorrer na EM (YODER, 2013).

3.3.2.3.4 Normalização para região de referência

Análises mais simplificadas de modelos de região de referência foram propostas como métodos de semiquantificação baseados na normalização da concentração de atividade em uma ROI para uma região de referência.

Dentre esses métodos, o método proposto por Debruyne e colaboradores (2002) considera como referência a média da concentração de atividade do cérebro inteiro no último quadro temporal da aquisição dinâmica (DEBRUYNE et al., 2002), conforme apresenta a Equação 11.

$$C_N = \frac{C_{ROI}}{C_{REF}} \quad (11),$$

onde C_N representa a concentração de atividade da ROI (C_{ROI}) normalizada, e C_{REF} a concentração de atividade na região de referência.

Para o método de Debruyne e colaboradores (2002), C_{REF} é a média da concentração de atividade do cérebro inteiro no último quadro temporal da aquisição dinâmica. Tal escolha resultou em medidas semiquantitativas acuradas em voluntários normais (DEBRUYNE et al., 2002, 2003).

Outro método similar, proposto por Hammoud e colaboradores (2005), considera como referência (C_R) a média da concentração de atividade na WM (HAMMOUD et al., 2005). Os autores mostraram que esta abordagem resulta em aumento de ligação específica de [¹¹C]-(R)-PK11195 em imagens de pacientes portadores do vírus HIV (HAMMOUD et al., 2005).

Conforme discutido na subseção 3.3.2.1 (p. 35), o SUVR é equivalente à normalização da concentração de atividade em uma ROI para uma região de referência. Portanto, nesse trabalho, os métodos de Debruyne e colaboradores (2002) e Hammoud e colaboradores (2005) serão referidos como $SUVR_{DEB}$ e $SUVR^{WM}$, respectivamente.

3.4 DESAFIOS

Melhorias na quantificação de imagens de PET com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 vem sendo obtidas, mas sua acurácia não pode ser verificada facilmente, pois os estudos PET com humanos não são validados com autorradiografia de receptor *post-mortem* (BANATI, 2002; SCHWEITZER et al., 2010). Assim, os valores de BP devem ser tratados como estimativas (BANATI, 2002). As interpretações dos resultados são limitadas às relações entre áreas de captação aumentada de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 com patologias conhecidas e sua distribuição (BANATI et al., 2000; CAGNIN; GERHARD; BANATI, 2002; CHAUVEAU et al., 2008).

Nas análises que utilizam da teoria de compartimentos com região de referência, como na geração de mapas paramétricos de valores de BP, os valores de BP de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 são subestimados, mas se esse erro é pequeno e consistente entre sujeitos, as diferenças entre os grupos de pacientes e controles não são afetadas (BANATI, 2002). Esse valor de BP subestimado é atribuído tanto à baixa captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cérebro, quanto à alta ligação não-específica, por sua natureza lipofílica, resultando em uma razão sinal-ruído baixa (CHAUVEAU et al., 2008; SCHWEITZER et al., 2010). Além disso, o [^{11}C]-(*R*)-PK11195 apresenta alta variação de seu comportamento cinético e deve haver significativa ativação microglial para que seu sinal possa ser detectado em PET (SCHWEITZER et al., 2010). Além disso, aparentemente existe um platô de ligação do [^{11}C]-(*R*)-PK11195 após ativação microglial, e a transformação em fagócito ameboide não é acompanhada de aumento significativo de ligação (BANATI, 2002).

Embora melhorias na quantificação já tenham sido alcançadas, a falta de sensibilidade e especificidade do [^{11}C]-(*R*)-PK11195 tem impedido o desenvolvimento de um método padronizado de análise que seja aplicável a todos os sujeitos (CHAUVEAU et al., 2008; DEBRUYNE et al., 2002; SCHWEITZER et al., 2010). Outras limitações da quantificação do [^{11}C]-(*R*)-PK11195 envolvem o grande tempo de processamento, a necessidade de alto poder computacional e a disponibilidade de programas específicos para executar todas as etapas de processamento e análise das imagens para fins diagnósticos. Além

disso, existe uma dificuldade importante enfrentada pelos métodos de quantificação, relacionada com a falta de uma região de referência no cérebro verdadeiramente livre de ligação específica do [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (CHAUVEAU et al., 2008).

O imageamento de TSPO com PET, em especial da micróglia ativada, pode oferecer uma modalidade não-invasiva para diagnóstico precoce de doenças do SNC, desde que melhorias na quantificação sejam realizadas. Além disso, as imagens poderiam ser utilizadas como estratégia de verificação da progressão da doença e resposta a tratamentos, bem como sua eficiência (SCHWEITZER et al., 2010; VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006).

Uma vez que os estudos já realizados são majoritariamente transversais, maiores investigações são necessárias para esclarecer o comportamento longitudinal da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cérebro, buscando verificar se ele pode representar uma ferramenta no auxílio de evolução patológica e progressão das doenças (POLITIS et al., 2012; VERSIJPT et al., 2005).

Esta pesquisa pretende investigar as limitações e potencialidades de diferentes métodos de quantificação absoluta e semiquantificação em estudos PET neurológicos utilizando o radiofármaco [^{11}C]-(*R*)-PK11195.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As seções a seguir apresentam o contexto no qual este estudo está inserido e os materiais e métodos utilizados nessa dissertação.

4.1 CONTEXTO DO ESTUDO CLÍNICO

A pesquisa desenvolvida e descrita nessa dissertação faz parte do estudo intitulado “Avaliação da ativação microglial pelo PET/CT e associação com o aparecimento de lesões na Ressonância Magnética em pacientes com Esclerose Múltipla remitente-recorrente submetidos a tratamento com fingolimode”, projeto com CAAE 23949813.7.0000.5336, aprovado em 06 de junho de 2015, sob parecer 1.094.228. Realizado no Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul na PUCRS, esse estudo possui por objetivo verificar a associação da ativação microglial com dados clínicos, neuropsicológicos e extraídos de imagens moleculares e funcionais (BECKER et al., 2013).

Para o desenvolvimento do estudo foram adquiridas, no mesmo dia ou em dias subsequentes, imagens de PET/CT utilizando [¹¹C]-(R)-PK11195 e por MR de indivíduos voluntários. O radiotraçador [¹¹C]-(R)-PK11195 foi produzido pelo laboratório do Centro de Produção de Radiofármacos do Instituto do Cérebro da PUCRS (BECKER et al., 2013).

As aquisições foram realizadas em modo lista em um equipamento de PET/CT da marca GE Healthcare, modelo Discovery 600, com cristais detectores tipo óxido de germânio bismuto (BGO). As imagens PET/CT foram reconstruídas com 300 mm de campo de visão, utilizando o algoritmo iterativo *VUE Point HD*, frequência de corte do filtro de suavização de 4,0 mm, 32 subconjuntos e duas iterações. A matriz da imagem possui 192x192 pixels, 16-bits por pixel (resolução de 0,640 pixels/mm), tamanho de pixel de 1,56x1,56 mm² e 47 cortes axiais de 3,27 mm de espessura cada. A atenuação é corrigida utilizando a imagem de CT adquirida imediatamente antes da aquisição da PET. Demais correções necessárias para quantificação (normalização, decaimento, espalhamento e detecções aleatórias) também foram aplicadas na imagem de PET/CT (BECKER et al., 2013).

As imagens por MR foram adquiridas em um equipamento GE Healthcare Signa HDxt de 3,0 T. Foram adquiridas imagens de MR: (1) de sequência FLAIR (recuperação de inversão de atenuação de fluido, do inglês, *fluid attenuation inversion recovery*) isotrópico 3D, com tempo de repetição de 6000 ms; tempo de eco de 125 ms; campo de visão de

220 mm; com *voxels* isotrópicos de 1 mm (HAJNAL et al., 1992); e (2) estruturais de alta resolução ponderadas em T1 utilizando sequência BRAVO™ (volume do cérebro, do inglês, *brain volume*), da GE Healthcare, com tempo de repetição de 2400 ms; tempo de eco de 16 ms; campo de visão de 220 mm; com *voxels* isotrópicos de 1 mm. As imagens ponderadas em T1 apresentam matriz de 512x512x196 *pixels* (240,03x240,03x196,00 mm³), 16-bits por *pixel*, resolução de 2,133 *pixels*/mm, tamanho de *voxel* de 0,47x0,47x1,00 mm³, e intervalo de quadros de 6,12 ms (BECKER et al., 2013). A Figura 6 apresenta os equipamentos nos quais as imagens de PET/CT e por MR foram adquiridas (GE HEALTHCARE, 2014, 2016).

Figura 6. Equipamentos GE Healthcare nos quais as aquisições ocorrerão.



Equipamentos GE Healthcare utilizados nas aquisições. ESQUERDA: Discovery 600. DIREITA: Signa HDxt de 3,0 T. Fontes: GE Healthcare (2014, 2016).

Os voluntários foram divididos em pacientes que possuem diagnóstico de EM de início remitente-recorrente, confirmado por neurologista, e voluntários saudáveis (grupo controle, nessa dissertação referido como grupo C). O grupo de pacientes com EM remitente-recorrente foi dividido em dois subgrupos (BECKER et al., 2013), conforme segue:

1. Subgrupo cuja numeração inicia com 0 (zero), aqui referido como grupo P0: pacientes em uso de tratamento por droga imunomoduladora (interferon beta ou glatirâmer) por, pelo menos, seis meses antes da inclusão no estudo; e
2. Subgrupo cuja numeração inicia com 1 (um), aqui referido como grupo P1: virgens de tratamento.

Além das divisões descritas anteriormente, os critérios de inclusão incluem idade entre 18 e 60 anos, escore entre 0 e 5,5 na escala EDSS, e com último surto da EM há mais de três meses.

Todos os voluntários tiveram imagens adquiridas no início do estudo e repetirão todos os exames e avaliações em seis, doze e vinte e quatro meses após a visita inicial. As visitas foram enumeradas de um a quatro: (V1) visita inicial; (V2) visita seis meses após V1; (V3) visita 12 meses após V1; e (V4) visita 24 meses após V1 (BECKER et al., 2013).

A Tabela 2 contém um resumo das informações básicas dos três grupos do estudo até a data de finalização dessa dissertação.

Tabela 2. Informações básicas dos voluntários.

	Grupo P0	Grupo P1	Grupo C
Numeração	001 a 012	101 a 112	501 a 509
Amostra	12	12	5
Sexo (Feminino/Masculino)	06/06	08/04	03/06

Dados básicos resumidos dos voluntários incluídos no estudo de Becker e colaboradores (2013). Dados obtidos até a data de finalização dessa dissertação. Fonte: banco de dados do projeto (BECKER et al., 2013).

A subseção a seguir apresenta detalhes das amostras utilizadas nas análises realizadas ao longo do estudo.

4.1.1 AMOSTRAS E COLETA DE DADOS

A Tabela 3 reúne informações coletadas na visita inicial sobre os participantes. No momento da finalização dessa dissertação, o estudo estava na etapa da V3. As amostras utilizadas nas análises descritas nessa dissertação contam com participantes das visitas 1 a 3.

Tabela 3. Informações dos participantes coletadas na visita inicial.

Participante	Idade (anos)	Medicação prévia	EDSS	Tempo de Doença (anos)	Número de Surto	
Grupo P0	001	18,8	Avonex	2,0	3,4	4
	002	24,1	Rebif	1,5	9,4	11
	003	26,8	Rebif	1,5	7,2	3
	004	20,7	Rebif	1,0	0,8	1
	005	26,0	Interferon	4,5	0,4	2
	006	28,9	Avonex	1,0	1,0	2
	007	30,8	Rebif	4,0	6,9	4
	008	29,5	Interferon	1,0	5,8	4
	009	33,2	Interferon	2,5	-	-
	010	46,1	Rebif	4,0	1,7	2
	011	36,0	Copaxone	3,0	11,2	5
	012	18,9	Betaferon	0,0	-	-
Grupo P1	101	30,5	-	0,0	0,5	1
	102	32,6	-	2,0	2,3	2
	103	33,3	-	5,0	11,7	3
	104	22,6	-	2,0	0,2	1
	105	35,9	-	1,0	0,4	2
	106	35,8	-	5,0	0,9	2
	107	44,9	-	2,0	5,7	2
	108	40,5	-	5,0	0,6	2
	109	20,1	-	1,5	0,2	1
	110	22,2	-	-	-	-
	111	26,8	-	4,5	1,2	2
	112	20,4	-	3,0	2,3	2
Grupo C	501	21,5	-	-	-	-
	502	20,6	-	-	-	-
	505	27,6	-	-	-	-
	506	28,1	-	-	-	-
	507	24,9	-	-	-	-
	509	35,7	-	-	-	-

Informações dos participantes do estudo coletadas na visita inicial. Fonte: banco de dados do projeto (BECKER et al., 2013).

A Tabela 4 apresenta detalhes dos dados da amostra, incluindo a atividade do radiofármaco [^{11}C]-(*R*)-PK11195 administrada, em megabecquerel (MBq), a cada indivíduo.

Tabela 4. Informações das amostras das três visitas dos participantes.

Participante	Visita 1		Visita 2		Visita 3		
	Data Exame	Atividade (MBq)	Data Exame	Atividade (MBq)	Data Exame	Atividade (MBq)	
Grupo P0	001	25/03/2015	392,2	18/09/2015	437,7	18/03/2016	404,3
	002	27/03/2015	510,6	05/10/2015	415,1	06/04/2016	392,2
	003	01/04/2015	457,3	30/09/2015	651,6	13/04/2016	367,0
	004	27/03/2015	476,6	28/09/2015	365,2	04/04/2016	261,0
	005	01/04/2015	695,6	-	-	-	-
	006	18/05/2015	726,3	16/11/2015	565,0	06/05/2016	347,6
	007	25/05/2015	561,7	23/11/2015	469,1	01/06/2016	341,1
	008	01/06/2015	547,2	-	-	-	-
	010	03/07/2015	503,9	-	-	-	-
	012	14/09/2015	600,1	04/03/2016	464,7	-	-
Grupo P1	101	06/04/2015	703,7	16/10/2015	561,3	13/04/2016	411,4
	103	25/03/2015	435,9	21/09/2015	644,2	-	-
	104	30/03/2015	490,6	02/10/2015	528,0	-	-
	105	15/05/2015	568,7	-	-	-	-
	106	22/05/2015	566,1	20/11/2015	640,1	10/06/2016	400,3
	107	29/05/2015	623,5	27/11/2015	560,5	13/05/2016	358,5
	108	12/06/2015	650,5	14/12/2015	549,5	10/06/2016	350,8
	109	06/07/2015	517,3	20/01/2016	423,6	-	-
	110	31/08/2015	644,2	15/02/2016	566,1	-	-
	112	23/09/2015	511,7	09/03/2016	417,7	-	-
Grupo C	501	13/07/2015	736,3	29/01/2016	354,6	-	-
	502	01/07/2015	595,0	01/06/2016	422,5	-	-
	505	21/10/2015	566,1	09/05/2016	365,2	-	-
	506	28/10/2015	698,6	-	-	-	-
	507	04/11/2015	527,6	-	-	-	-
509	11/05/2016	370,0	-	-	-	-	

Informações das amostras das três visitas dos participantes: data e atividade de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 administrada aos participantes para aquisição da imagem de PET/CT. Alguns participantes foram excluídos das amostras ou ainda não realizaram V2 e/ou V3. Destacados em cor cinza estão os participantes que serão utilizados nas análises longitudinais por possuírem, no momento da escrita dessa dissertação, imagens de três visitas. Fonte: banco de dados do projeto (BECKER et al., 2013).

4.2 PREPARAÇÃO, PROCESSAMENTO E EXTRAÇÃO DOS DADOS

As subseções que seguem apresentam os métodos utilizados para extração das imagens da estação de trabalho, preparação e processamento para extração dos dados e posterior quantificação.

Devido ao fato das imagens de PET/CT adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 estarem em modo lista, é necessário que o usuário selecione a forma como a imagem final será extraída da estação de trabalho, podendo ser tanto uma imagem dinâmica, quanto estática. Dessa forma, uma escolha importante na reformatação das imagens para extração da estação

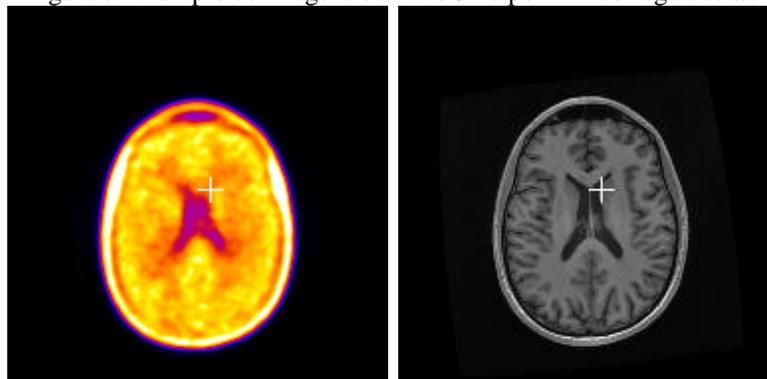
de trabalho é a amostragem temporal das imagens dinâmicas e o intervalo temporal que será utilizado para construir a imagem estática.

Após a extração das imagens da estação de trabalho, na etapa de processamento, é necessário que ambas as imagens, PET/CT e MR, sejam coregistradas. As imagens de PET/CT adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 foram coregistradas com sua respectiva imagem por MR com informação anatômica (ponderada em T1) utilizando o programa SPM8 (*The Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, Institute of Neurology, University College London*), que utiliza o método proposto por Collignon e colaboradores (1995), com alteração na função de custo, para torná-la mais suave (ASHBURNER et al., 2012). O coregistro corresponde ao alinhamento espacial por transformação de corpo rígido (translação e rotação em todos os eixos) entre as imagens de PET/CT e por MR (COLLIGNON et al., 1995), sendo a imagem de PET/CT considerada a referência, de modo a não afetar a quantificação.

Para o coregistro das imagens de PET/CT dinâmicas é necessário utilizar um intervalo temporal específico para geração de imagem estática, que é utilizada no coregistro. Embora não exista consenso na literatura sobre qual intervalo temporal da imagem de PET/CT dinâmica deva ser utilizado no caso do [^{11}C]-(*R*)-PK11195, nesse estudo será utilizado o intervalo temporal de 40 s a 7 min e 30 s, por ter apresentado melhor contraste entre GM e WM (média da razão GM/WM $1,68 \pm 0,83$) e entre GM e CSF (média da razão GM/CSF $2,29 \pm 1,10$). Além disso, o intervalo temporal escolhido apresenta bordas do cérebro e entre estruturas visualmente mais definidas, parâmetro importante no coregistro (KIEBEL et al., 1997).

A Figura 7 apresenta uma imagem de PET/CT e sua respectiva imagem por MR após coregistro, nas quais a cruz representa a mesma região em ambas as imagens.

Figura 7. Exemplo de imagens de PET/CT e por MR coregistradas.



Exemplo de imagens PET/CT e por MR coregistradas, nas quais a cruz representa a mesma região do cérebro.
Fonte: o autor (2016).

Além do corregristo, também utiliza-se o SPM8 para a segmentação das imagens de MR em GM, WM e CSF e reformatação no seu número de cortes para que apresentem o mesmo número de cortes que a imagem de PET/CT correspondente.

Para a extração dos dados, aplicou-se um atlas na imagem de MR a fim de se obter os volumes de interesse ou VOIs (*volumes of interest*), posteriormente aplicadas na imagem de PET/CT (SVARER et al., 2005). O atlas utilizado, desenvolvido por Svarer e colaboradores (2005), utiliza de um mapa de probabilidades elaborado a partir de imagens por MR de diversos sujeitos. Tal mapa de probabilidade na delineação automática das VOIs é uma forma rápida e reprodutível de se obter informações quantitativas de diferentes regiões do cérebro, apresentando bons resultados até mesmo em sujeitos idosos com considerável atrofia cerebral (SVARER et al., 2005).

O diagrama de blocos apresentado na Figura 8 mostra as etapas de aquisição e pré-processamento das imagens em um esquema generalizado.

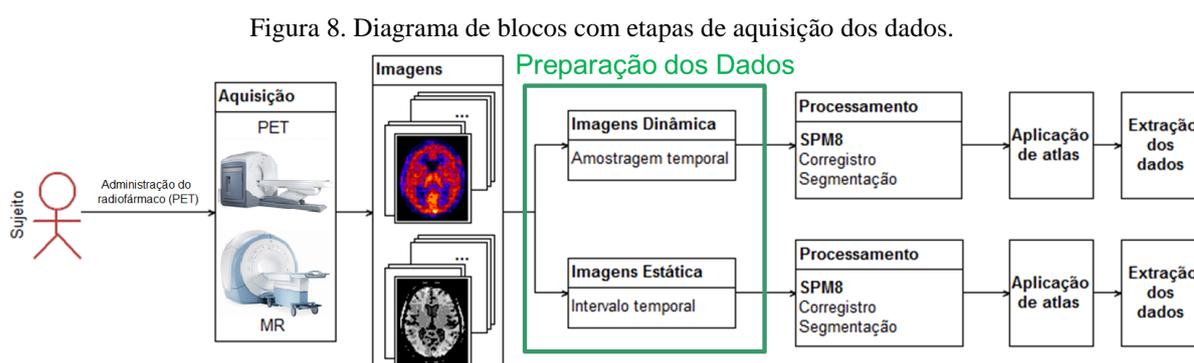
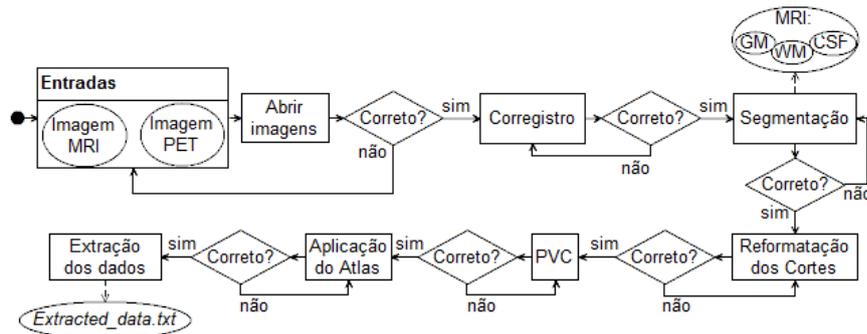


Diagrama de blocos apresentando as etapas gerais de aquisição das imagens, processamento e extração dos dados. Em destaque está a etapa de preparação das imagens para que possam ser processadas, aplicação do atlas e extração dos dados. Fonte: o autor (2016).

Embora o corregristo e a segmentação sejam feitas pelo SPM8, utilizou-se a interface do programa PVELab para o processamento, aplicação de atlas e extração de dados (QUARANTELLI et al., 2004; RASK et al., 2004). PVELab é uma ferramenta implementada em MATLAB® (*The MathWorks, Inc.*) desenvolvida com propósito de corrigir os PVE em imagens cerebrais de baixa resolução espacial, o que inclui as etapas descritas anteriormente. Ainda que seu propósito seja a correção do PVE, essa etapa não é obrigatória para extração dos dados.

PVELab possui como entrada uma imagem de PET/CT e sua respectiva imagem de MR. No caso de algum erro durante o processamento das imagens, o PVELab informa o erro e o processo para até que o problema seja resolvido. O fluxograma da Figura 9 apresenta as etapas realizadas pela ferramenta PVELab.

Figura 9. Fluxograma das etapas de processamento das imagens de PET/CT e MR cerebrais para extração dos dados.



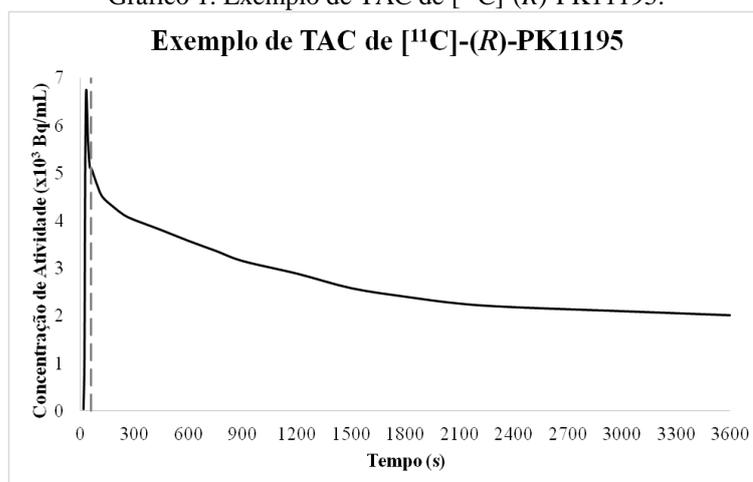
Fluxograma das etapas de pré-processamento e processamento das imagens de PET/CT e MR cerebrais para extração dos dados. As etapas descritas podem ser realizadas utilizando diferentes métodos e parâmetros, dependendo da escolha do usuário. Fonte: o autor (2016).

Todas as imagens por MR foram corrigidas para não homogeneidade do campo magnético do equipamento (JUNTU et al., 2005) utilizando FSL (JENKINSON et al., 2012). Neste trabalho não foi realizada correção de movimento nas imagens, uma vez que a correção é necessária quando a magnitude do movimento é significativa em comparação com a resolução espacial da imagem (JIN et al., 2013). Para o equipamento PET do estudo, cuja resolução espacial é de 4,9 mm (DE PONTI; MORZENTI; GUERRA, 2011), as imagens não apresentaram movimento significativo para que a correção fosse necessária.

4.2.1 PREPARAÇÃO DAS IMAGENS DINÂMICAS

Conforme descrito no projeto de Becker e colaboradores (2013), as aquisições das imagens de PET/CT de $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$ foram iniciadas cerca de 30 segundos antes da injeção do radiotraçador. Contudo, esse intervalo de tempo não foi incluído na reformatação das imagens dinâmicas. Considerou-se o início da aquisição quando a taxa de contagens no equipamento atinge 10 kCts/s, de modo a garantir que os 60 minutos da imagem contenham a aquisição completa. Decidiu-se que esse valor seria utilizado como início da aquisição para evitar que quadros temporais iniciais apresentassem valor de concentração de atividade nula, o que acontece quando o início da imagem não condiz com o início da aquisição.

Observou-se, nas TACs analisadas nessa dissertação, que o pico da TAC acontece no primeiro minuto da aquisição no caso de imagens de PET/CT adquiridas com $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$, ou seja, onde a maior variação acontece, sendo que os demais pontos da curva correspondem majoritariamente ao processo de eliminação do radiotraçador do cérebro. O Gráfico 1 apresenta um exemplo de TAC na qual a localização temporal do primeiro minuto pode ser observado.

Gráfico 1. Exemplo de TAC de $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$.

Exemplo de TAC extraída de imagem de PET/CT adquirida com $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$. A linha cinza tracejada representa o final do primeiro minuto. Fonte: o autor (2016).

As amostragens temporais encontradas na literatura podem gerar TACs inadequadas por não apresentarem pontos suficientes no primeiro minuto de aquisição. Das amostragens temporais utilizadas nas imagens dinâmicas de PET/CT adquiridas com $[^{11}\text{C}]\text{-(R)-PK11195}$ apresentadas na literatura, a que melhor discretiza o primeiro minuto de aquisição, correspondente ao momento de captação inicial do radiofármaco no cérebro, é a que possui 22 quadros temporais (KROPHOLLER et al., 2005; SCHUITEMAKER et al., 2007a, 2007b; YAQUB et al., 2012), ver subseção 3.3.1.1 (p. 31) para maiores detalhes.

Foi proposto, neste trabalho, um estudo sobre a amostragem temporal das imagens de PET/CT, buscando gerar curvas de atividade ao longo do tempo de forma acurada, mantendo seu formato próximo ao real. Para isso, o primeiro minuto de aquisição foi amostrado em 12 quadros temporais de 5 segundos e as curvas geradas analisadas. Para esta avaliação, uma amostra menor do estudo foi utilizada, contendo seis imagens de PET/CT e suas respectivas imagens por MR.

A Tabela 5 apresenta a comparação entre a amostragem temporal proposta nesse estudo e a amostragem utilizada por Kropholler (2005), Schuitemaker (2007a, 2007b) e Yaqub (2012), e seus respectivos colaboradores.

Foram analisadas as médias dos primeiros pontos adquiridos a partir dos 12 quadros temporais de 5 segundos. Razões entre as médias também foram avaliadas, visando identificar como e quais dos 12 quadros temporais podem ser unidos de modo a preservar TACs o mais próximo do real possível.

Tabela 5. Amostragens temporais consideradas.

Amostragem temporal apresentada na literatura escolhida		Modificação da amostragem temporal escolhida	
Número de quadros temporais	Intervalo de tempo de cada quadro temporal (s)	Número de quadros temporais	Intervalo de tempo de cada quadro temporal (s)
1	30	-	-
1	15	12	5
1	5		
1	10		
2	15		
2	30	2	30
3	60	3	60
4	150	4	150
5	300	5	300
2	600	2	600
22	3630	28	3600

Amostragens temporais consideradas no estudo da modificação de uma amostragem temporal apresentada na literatura para verificação das TACs no primeiro minuto de aquisição. Em destaque em cor cinza, está o intervalo de tempo proposto neste trabalho para o primeiro minuto. Fontes: Kropholler (2005), Schuitemaker (2007a, 2007b) e Yaqub (2012), e seus respectivos colaboradores, e o autor (2016).

4.2.2 PREPARAÇÃO DAS IMAGENS ESTÁTICAS

Métodos semiquantitativos de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 são aplicados em imagens de PET/CT reformatadas a partir de um intervalo temporal da aquisição. Entretanto, não existe consenso na literatura sobre qual intervalo temporal a ser utilizado na aplicação desses métodos (ANDERSON et al., 2007; DEBRUYNE et al., 2002; HAMMOUD et al., 2005; KUMAR et al., 2012; POLITIS et al., 2012; SCHUITEMAKER et al., 2007a; VERSIJPT et al., 2005).

Para investigar o intervalo temporal que resulta em informações semiquantitativas que melhor diferenciam estatisticamente os pacientes com EM dos indivíduos saudáveis, foi investigado o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 nas regiões justacortical e periventricular (JP), nas lesões e nas bordas das lesões, em imagens de PET/CT reformatadas em diferentes intervalos temporais.

Foram aplicados três métodos semiquantitativos nas imagens de PET/CT, buscando o método e intervalo temporal capazes de diferenciar estatisticamente os pacientes com EM dos indivíduos saudáveis.

As imagens de PET/CT foram reformatadas a partir da média de alguns dos intervalos temporais descritos na literatura, conforme apresentado anteriormente:

(A) 0 a 60 min (POLITIS et al., 2012) (toda aquisição);

(B) 5 a 20 min (KUMAR et al., 2012) (15 min, após perfusão);

(C) 5 a 30 min (ANDERSON et al., 2007) (25 min, após perfusão);

(D) 10 a 60 min (HAMMOUD et al., 2005) (últimos 50 min);

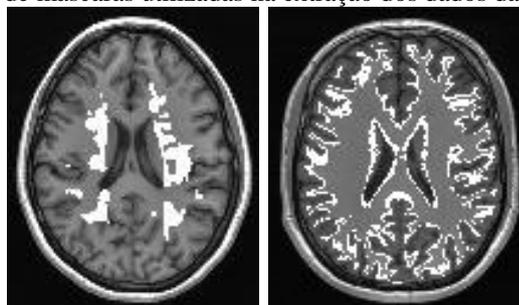
(E) 30 a 60 min (SCHUITEMAKER et al., 2007a) (últimos 30 min); e

(F) 40 a 60 min (DEBRUYNE et al., 2002; VERSIJPT et al., 2005) (últimos 20 min).

4.2.3 REGIÕES DE INTERESSE PARA EXTRAÇÃO DOS DADOS

A extração dos dados das regiões JP foi realizada utilizando máscaras das regiões de GM e WM, previamente segmentadas a partir da imagem de MR original, aplicando a operação morfológica de erosão e considerando a região comum às duas máscaras. As lesões foram segmentadas a partir das imagens por MR ponderadas em sequência FLAIR isotrópico utilizando a ferramenta LST (<http://www.applied-statistics.de/lst.html>) do SPM8, sendo a segmentação feita pelo algoritmo de crescimento de lesão (SCHMIDT et al., 2012). Para incluir a vizinhança das lesões, foi realizada uma operação de abertura morfológica (GONZALEZ; WOODS, 2007). As máscaras das lesões foram colocadas no mesmo espaço das imagens por MR ponderadas em T1, previamente corregistradas com as imagens de PET/CT. A figura a seguir (Figura 10) apresenta exemplo de máscara utilizada na extração dos dados.

Figura 10. Exemplos de máscaras utilizadas na extração dos dados das imagens de PET/CT.



Exemplo de máscara utilizada na extração de dados das imagens de PET/CT. ESQUERDA: máscara de lesões sobreposta à imagem por MR ponderada em T1, onde a região em branco representa os BNs. DIREITA: máscara obtida a partir da interface entre a GM e a WM, onde as regiões JP (em branco) são as de interesse. Fonte: o autor (2016).

Também foram extraídos dados das regiões do cerebelo e tálamo. O cerebelo foi utilizado como referência para cálculo dos parâmetros cinéticos (como BP_{ND} e R_1) utilizando SRTM (LAMMERTSMA; HUME, 1996) e Logan *Plot* com tecido de referência (LOGAN et al., 1996). O tálamo foi escolhido por ser uma escolha frequente de ROI nos estudos sobre neuroimagens na literatura (KROPHOLLER et al., 2005; SCHUITEMAKER et al., 2007b; YAQUB et al., 2012) por apresentar significativa ligação específica de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (KUMAR et al., 2012).

4.3 MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO

Os métodos de quantificação das imagens de PET/CT adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 utilizados nesse estudo foram o SRTM e o método de Logan com tecido de referência, para as imagens dinâmicas, de modo que as saídas foram valores de BP_{ND} e R_1 (mais detalhes podem ser encontrados na subseção 3.3.2.3, p. 36). No caso das imagens estáticas, foram utilizados distintos métodos de semiquantificação, entre os quais os métodos de SUV, $SUVR_{DEB}$, $SUVR^{WM}$ e $SUVR^{CB}$ (para maiores detalhes, ver subseções 3.3.2.1, p. 35, e 3.3.2.3.4, p. 41. O $SUVR^{CB}$ considera o cerebelo como região de referência).

A extração dos dados foi realizada utilizando os programas PVELab e ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>). Diferenças entre os grupos (pacientes com MS e controles) e visitas (comparação do mesmo grupo nas V1, V2 e V3) foram avaliadas com a aplicação de teste *t Student* nas análises de definição do intervalo temporal e nas análises transversal e longitudinal. A normalidade dos dados foi testada com o teste Shapiro-Wilk utilizando o programa SPSS versão 17.0.0 (SPSS, Heverlee, Bélgica). O coeficiente de correlação de postos de Spearman foi utilizado na verificação de correlação de EDSS, tempo de doença, número de surtos e idade com os valores resultantes da aplicação dos métodos semiquantitativos nas análises de definição do intervalo temporal.

4.4 ANÁLISES TRANSVERSAL E LONGITUDINAL

Após definidas as etapas de pré-processamento, foram realizadas análises transversal e longitudinal de uma amostra de pacientes de EM e grupo controle do estudo clínico descrito anteriormente (subseção 4.1, p. 44). A análise transversal foi realizada utilizando as imagens adquiridas dos participantes durante a visita inicial, onde foram verificadas diferenças estatísticas entre os três grupos (P0, P1 e C). Já a análise longitudinal foi realizada de um

grupo de participantes que realizaram todas as três visitas V1, V2 e V3. Desse modo, foi realizada análise estatística entre visita inicial e V2, e entre visita inicial, V2 e V3, buscando verificar o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 das imagens de PET/CT, de acordo com as hipóteses descritas a seguir:

1. **Grupo C:** não deve haver diferença estatística entre V1 e V2, pois tratam-se de indivíduos do grupo controle;
2. **Grupo P0:** não deve haver diferença estatística entre V1, V2 e V3 OU a captação deve ser menor em V2 e V3 em relação à V1, pois os pacientes encontravam-se em tratamento prévio e mudam a medicação para fingolimode após V2 (hipótese baseada resposta positiva ao medicamento); e
3. **Grupo P1:** a captação deve ser menor em V2 e V3 em relação à V1, pois os pacientes não realizavam tratamento prévio e passam a ser medicados com fingolimode após V1 (hipótese baseada resposta positiva ao medicamento).

O coeficiente de correlação linear foi utilizado na verificação de correlação entre a diferença de tempo entre visitas e os resultados obtidos a partir dos métodos analisados.

Tais análises foram realizadas visando encontrar o método e ROI capazes de diferenciar grupos e/ou capazes de oferecer indicativos para diagnóstico precoce, estratégia de verificação da progressão da doença e/ou resposta a tratamentos, bem como sua eficiência, além de verificar se potencialmente poderiam auxiliar na evolução patológica e progressão da EM.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Esta seção apresenta os resultados e as discussões das análises descritas nessa dissertação.

5.1 PREPARAÇÃO E PROCESSAMENTO DAS IMAGENS

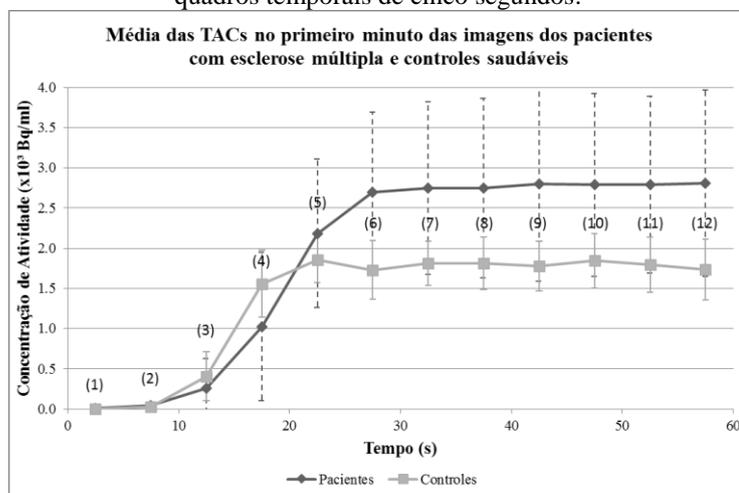
5.1.1 PREPARAÇÃO DAS IMAGENS DINÂMICAS

Com o objetivo de estudar a amostragem temporal das imagens de PET/CT, de modo que as TACs pudessem ser geradas de forma acurada, mantendo seu formato próximo ao real, foram reformatadas imagens de 6 (seis) participantes do estudo (quatro pacientes com EM e dois sujeitos do grupo controles), com o primeiro minuto de aquisição apresentando 12 quadros temporais de cinco segundos.

A amostra contou com dois representantes de cada grupo (P0, P1 e C) da visita inicial, com idade (25 ± 7) anos, mínimo de 20 anos e máximo de 40 anos, e massa de (68 ± 13) kg, mínimo de 47 kg e máximo de 89 kg. A atividade administrada de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 para aquisição das imagens de PET/CT foi de (577 ± 94) MBq [$(15,6 \pm 2,5)$ mCi], com atividade mínima de 477 MBq e máxima de 736 MBq.

As TACs foram geradas e calculou-se a média de cada região do atlas de Svarer e colaboradores (2005). O Gráfico 2 apresenta as curvas obtidas a partir da média das ROIs dos pacientes com EM do tipo remitente-recorrente e controles.

Gráfico 2. TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles utilizando 12 quadros temporais de cinco segundos.



TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles ($n = 6$) escolhidos na análise da amostragem temporal, utilizando 12 quadros temporais de cinco segundos. Fonte: o autor (2016).

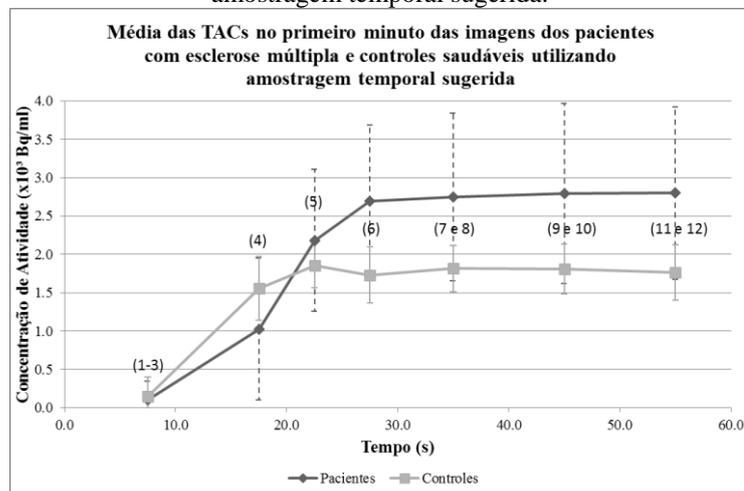
Pode ser observado que os dois primeiros pontos da curva média (pontos (1) e (2)) apresentam valores muito próximo ao zero, o que indica que podem ser adquiridos a partir de um único quadro temporal, representando o intervalo de tempo no qual o radiotraçador ainda não chegou de forma significativa ao cérebro. Adicionalmente, o ponto (3) da curva média também pode ser incluído em um único quadro temporal com os dois anteriores, uma vez que a razão entre a média dos três primeiros pontos e a média dos demais pontos da curva média resulta em 0,05. Assim, os três primeiros pontos da curva média (pontos (1), (2) e (3)), mesmo incluídos em um único quadro temporal, contribuem com valor muito pequeno, quando comparado com os demais, de modo que um único quadro temporal inicial de 15 segundos é suficiente para geração das TACs. Tal resultado vem ao encontro da amostragem temporal utilizada como referência, que apresenta um quadro de 15 segundos no início da aquisição (KROPHOLLER et al., 2005; SCHUITEMAKER et al., 2007a, 2007b; YAQUB et al., 2012).

Os três pontos seguintes da curva média, provenientes dos quadros temporais (4) a (6), visualmente, apresentam diferenças entre si, formando o momento de maior variação dos valores na subida da TAC, de modo que não devem ser unidos em um único quadro temporal para não comprometerem o formato original da curva. Esse resultado vem ao encontro com estudos como os de Anderson (2007), Giannetti (2014), Kropholler (2005), Politis (2012), Schuitemaker (2007a, 2007b), Su (2013), Turkheimer (2007) e Yaqub (2012), e seus respectivos colaboradores, que separam os quadros temporais (4) a (6) em um quadro de 5 segundos e um de 10 segundos. Também Mourik e colaboradores (2009) concluíram que, idealmente, o quadro de 10 segundos devesse ser separado em dois quadros de 5 segundos (MOURIK et al., 2009).

Por fim, os quadros (7) a (12) não apresentam variação significativa entre ROIs e participantes, tanto visualmente, quanto quantitativamente (variação, calculada como razão entre o desvio padrão e a média, foi de 0,15 para todo o cérebro). Dessa forma, decidiu-se que os quadros (7) a (12) seriam unidos em três quadros de 10 segundos cada. A utilização de três quadros temporais de 10 segundos cada não difere significativamente da utilização de dois quadros temporais de 15 segundos cada da amostragem temporal utilizada como referência. Além disso, outros estudos utilizam de quadros de 10 segundos na segunda metade do primeiro minuto (DEBRUYNE et al., 2002, 2003; VERSIJPT et al., 2005). O Gráfico 3 apresenta o primeiro minuto das TACs dos pacientes utilizados na análise da amostragem temporal utilizando a amostragem temporal sugerida. A tabela a seguir (Tabela 6) mostra a

amostragem temporal modificada sugerida e utilizada nesse trabalho para análise de todos os dados subsequentes.

Gráfico 3. TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles utilizando amostragem temporal sugerida.



TACs do primeiro minuto obtidas a partir da média das regiões dos pacientes e controles ($n = 6$) utilizando amostragem temporal sugerida. Fonte: o autor (2016).

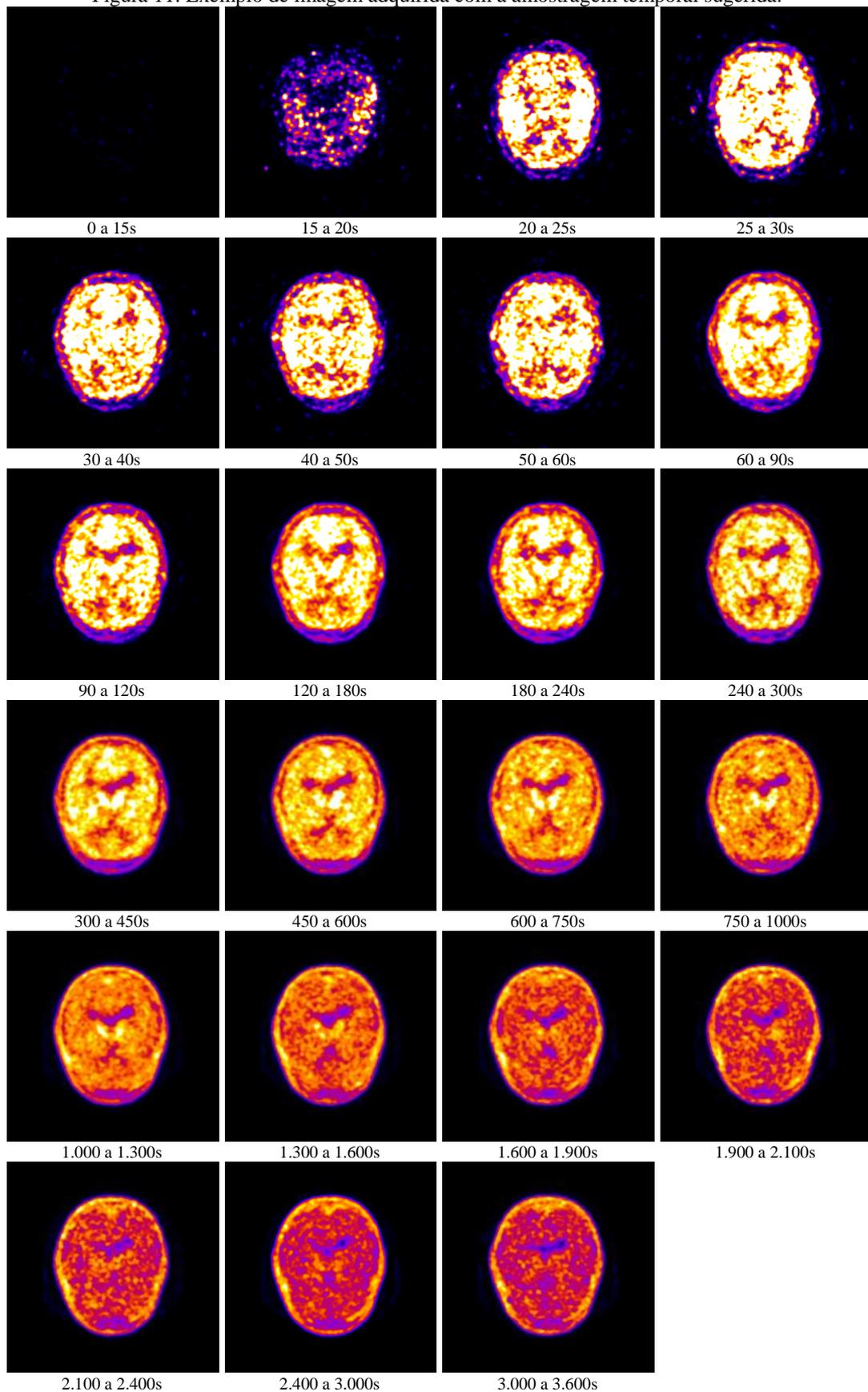
Tabela 6. Amostragem temporal modificada sugerida.

Número de quadros temporais	Intervalo de tempo de cada quadro temporal
1	15
3	5
3	10
2	30
3	60
4	150
5	300
2	600
23	3600

Amostragem temporal sugerida, sendo esta uma modificação de uma amostragem temporal encontrada na literatura (KROPHOLLER et al., 2005; SCHUITEMAKER et al., 2007a, 2007b; YAQUB et al., 2012). Tal amostragem temporal sugerida será utilizada nesse estudo como padrão para reformatação das imagens. Fonte: o autor (2016).

A Figura 11 apresenta um exemplo de imagem adquirida com a amostragem temporal sugerida com 23 quadros temporais, apresentado na tabela anterior, sendo correspondentes a um dos 47 cortes tomográficos.

Figura 11. Exemplo de imagem adquirida com a amostragem temporal sugerida.



Exemplo de imagem adquirida com a amostragem temporal sugerida com 23 quadros temporais. Os números abaixo de cada quadro temporal representam seu intervalo temporal de aquisição. Todas as imagens são referentes ao mesmo corte tomográfico axial. Fonte: o autor (2016).

5.1.2 PREPARAÇÃO DAS IMAGENS ESTÁTICAS

Com o objetivo de investigar o intervalo temporal que resulta em informações semiquantitativas que melhor diferenciam estatisticamente os pacientes com EM dos indivíduos saudáveis, foi investigado o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 nas lesões (BN) e suas bordas, e nas regiões JP, em imagens de PET/CT estáticas reformatadas em diferentes intervalos temporais.

A amostra que utilizada contou com cinco representantes de cada grupo (P0, P1 e C) da visita inicial:

- **C:** os cinco participantes do grupo controle possuem idade (24 ± 2) anos, mínimo de 20 anos e máximo de 28 anos, e massa de (74 ± 10) kg, mínimo de 65 kg e máximo de 89 kg. A atividade administrada de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 para aquisição das imagens de PET/CT foi de (625 ± 89) MBq [$(16,9 \pm 2,4)$ mCi], com atividade mínima de 527 MBq e máxima de 736 MBq; e
- **P0 e P1:** os cinco participantes de cada grupo com EM do tipo remitente-recorrente possuem idade (28 ± 3) anos, mínimo de 18 anos e máximo de 40 anos, e massa de (67 ± 15) kg, mínimo de 47 kg e máximo de 98 kg. A atividade administrada de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 para aquisição das imagens de PET/CT foi de (523 ± 97) MBq [$(14,1 \pm 2,6)$ mCi], com atividade mínima de 392 MBq e máxima de 704 MBq.

5.1.2.1 Buracos negros e suas bordas

Os métodos semiquantitativos de SUV e o SUVR^{WM} foram aplicados nas lesões e suas bordas, denominados BNs, nas imagens PET/CT estáticas adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195. Foi utilizada apenas a média do intervalo temporal de 40 a 60 minutos, para as imagens dos pacientes com EM e grupo controle.

Os valores de SUV nos BNs dos pacientes com EM, possuem média ($0,43 \pm 0,06$) g/mL, diferem de forma estatisticamente significativa ($p < 0,01$) dos valores de SUV na WM saudável dos indivíduos saudáveis, que apresenta média ($0,25 \pm 0,02$) g/mL. Os resultados desse estudo estão de acordo com estudo anterior de Gianetti e colaboradores (2014), no qual presença de atividade inflamatória foi encontrada em mais de 75% dos BNs (GIANNETTI et al., 2014).

O método de $SUVR^{WM}$ resulta em diferença estatisticamente significativa quando comparado à concentração de atividade normalizada nos BNs, apresentando média ($0,83 \pm 0,08$), e suas bordas, com média ($0,88 \pm 0,08$), dos pacientes com EM com a concentração de atividade normalizada na WM do grupo controle ($p < 0,01$). Como este método normaliza a captação para a concentração de atividade na WM aparentemente saudável do próprio indivíduo, os valores obtidos indicam que a captação nos BNs é menor que a captação na WM aparentemente saudável ($p < 0,01$).

Uma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre a escala de incapacidade EDSS (presentes na Tabela 3, p. 23) e os valores de $SUVR^{WM}$ das imagens dos grupos de pacientes P0 e P1 obtidas pela média do intervalo temporal de 40 a 60 minutos ($p < 0,01$). Não foi encontrada nenhuma outra correlação estatisticamente significativa. A correlação entre EDSS e os valores de $SUVR^{WM}$ indica que pode existir um limiar deste valor que indique evolução inflamatória da doença. Maiores detalhes podem ser encontrados no trabalho original (SCHUCK et al., 2016).

5.1.2.2 Regiões justacortical e periventricular

As tabelas a seguir apresentam os valores obtidos de SUV (Tabela 7), $SUVR_{DEB}$ (Tabela 8) e $SUVR^{WM}$ (Tabela 9).

Nos resultados a seguir estão discriminados os diversos intervalos temporais investigados: (A) 0-60 min; (B) 5-20 min; (C) 5-30 min; (D) 10-60min; (E) 30-60 min; (F) 40-60min.

Tabela 7. Valores SUV médios e desvio padrão para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.

Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	$0,62 \pm 0,19$	$0,63 \pm 0,18$	$0,59 \pm 0,17$	$0,48 \pm 0,14$	$0,39 \pm 0,12$	$0,37 \pm 0,11$
Média C	$0,49 \pm 0,14$	$0,49 \pm 0,17$	$0,45 \pm 0,15$	$0,37 \pm 0,11$	$0,30 \pm 0,08$	$0,29 \pm 0,07$
Razão P/C	$1,29 \pm 0,54$	$1,30 \pm 0,59$	$1,30 \pm 0,58$	$1,31 \pm 0,55$	$1,30 \pm 0,51$	$1,30 \pm 0,49$
Valor t	1,584	1,490	1,542	1,689	1,799	1,848
Valor p	0,15	0,18	0,16	0,13	0,10	0,09

Valores SUV médios e desvio padrão para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise ($n = 15$). As últimas linhas da tabela apresentam os valores t e p dos testes estatísticos.

Fonte: o autor (2016).

Tabela 8. Valores de SUV_{DEB} para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.

Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	1,72 ± 0,21	1,74 ± 0,10	1,61 ± 0,08	1,31 ± 0,04	1,08 ± 0,02	1,02 ± 0,02
Média C	1,68 ± 0,19	1,67 ± 0,29	1,55 ± 0,24	1,26 ± 0,14	1,05 ± 0,06	1,00 ± 0,03
Razão P/C	1,02 ± 0,17	1,04 ± 0,19	1,04 ± 0,17	1,04 ± 0,12	1,03 ± 0,06	1,02 ± 0,04
Valor t	0,368	0,521	0,582	0,814	1,127	1,344
Valor p	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20

Valores de SUV_{DEB} , para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise ($n = 15$). As últimas linhas da tabela apresentam os valores t e p dos testes estatísticos. Fonte: o autor (2016).

Tabela 9. Valores de SUV_{WM} , para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise.

Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	1,11 ± 0,03	1,09 ± 0,04	1,07 ± 0,03	1,03 ± 0,02	0,99 ± 0,02	0,98 ± 0,02
Média C	1,15 ± 0,02	1,13 ± 0,02	1,12 ± 0,02	1,07 ± 0,02	1,03 ± 0,02	1,02 ± 0,03
Razão P/C	0,97 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03
Valor t	-2,757	-3,114	-3,421	-3,807	-3,351	-3,005
Valor p	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	0,03

Valores de SUV_{WM} , para os pacientes com EM (P0 e P1) e grupo controle (C) da amostra utilizada nessa análise ($n = 15$). As últimas linhas da tabela apresentam os valores t e p dos testes estatísticos. Fonte: o autor (2016).

Os valores de SUV nas regiões JP indicam que o intervalo temporal que melhor diferencia pacientes com EM do grupo controle é o (F), intervalo dos últimos 20 minutos da aquisição ($p = 0,09$). A média do SUV nesse caso foi de $(0,37 \pm 0,11)$ g/mL para o grupo de pacientes com EM e de $(0,29 \pm 0,07)$ g/mL para o grupo controle (aproximadamente 30% menor). Após a avaliação inicial com todos os resultados, retirou-se valores atípicos (*outliers*). A tabela a seguir (Tabela 10) apresenta os valores alterados com a retirada dos valores atípicos.

Tabela 10. Valores do teste t e valores p após a retirada dos valores atípicos.

Intervalo Temporal	Valor t	Valor p
SUV (g/mL)		
(D) 10 a 60 min	3,014	0,01
(E) 30 a 60 min	3,032	0,01
(F) 40 a 60 min	2,975	0,01
SUV_{WM}		
(B) 5 a 20 min	-2,800	0,02
(C) 5 a 30 min	-3,096	0,01
(D) 10 a 60 min	-3,608	< 0,01

Valores do teste t e valores p , resultados das análises dos valores de SUV e de SUV_{WM} , com a retirada dos valores atípicos aplicação de diagrama de blocos ($n = 14$). Fonte: o autor (2016).

Os resultados das análises dos valores de SUV indicam que as imagens mais próximas ao período de estado estável (após 40 min da injeção do radiotraçador) apresentam maior diferenciação ($p = 0,09$), embora o nível de significância desejado ($p = 0,05$) não tenha sido alcançado nessa etapa do estudo. Observa-se semelhança dos valores de SUV obtidos com valores obtidos no estudo de Kumar e colaboradores (2012). Com a retirada dos valores atípicos, os resultados de SUV nas regiões JP das imagens de PET/CT passam a indicar diferença estatisticamente significativa ($p = 0,01$). A média para pacientes com EM passa a ser de $(0,37 \pm 0,11)$ e $(0,26 \pm 0,03)$ para o grupo controle, valores para o intervalo temporal (F) (últimos 20 minutos da aquisição).

Os valores de $SUVR_{DEB}$ nas regiões JP não resultaram em diferenciação estatisticamente significativa entre pacientes e controles, em nenhum dos intervalos temporais ($p > 0,20$), mesmo quando os valores atípicos foram retirados. Assim, esse parâmetro de quantificação não foi utilizado nas análises subsequentes.

Os valores de $SUVR^{WM}$ nas regiões JP resultaram em diferença estatisticamente significativa entre pacientes com EM e o grupo controle para todos os intervalos temporais. Dos intervalos temporais analisados, os intervalos de (B) a (D) foram os que resultaram em maior significância estatística ($p < 0,01$). O intervalo (D), os últimos 50 minutos da aquisição, foi o que obteve diferenciação mais significativa ($t = -3,807$; $p < 0,01$).

As médias de $SUVR^{WM}$ nas regiões JP da imagem de PET/CT (D) foram de $(1,03 \pm 0,02)$ para o grupo de pacientes com EM e $(1,07 \pm 0,02)$ para o grupo controle (aproximadamente 4% maior). Não houve diferença importante nos resultados de $SUVR^{WM}$ após retirada dos valores atípicos.

Uma correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre idade e os valores de $SUVR^{WM}$ para a imagem de PET/CT (A) ($p = 0,05$). Não foi encontrada nenhuma outra correlação estatisticamente significativa. Correlação entre idade e valores de SUV já havia sido identificada previamente por outros autores (KUMAR et al., 2012).

Os resultados de $SUVR^{WM}$ indicam que existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as regiões JP das imagens de PET/CT de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195 para todos os intervalos temporais analisados. Dentre esses, os resultados extraídos da imagem obtida pela média entre 10 e 60 min da aquisição foram os que apresentaram maior diferenciação entre os grupos ($t = -3,807$; $p < 0,01$). Isso indica que o $SUVR^{WM}$ apresenta melhores resultados quando a imagem contém tanto contagens do início, quanto do

final da aquisição. Tal intervalo temporal também apresentou resultados estatisticamente significativos para valores de SUV. Maiores detalhes podem ser encontrados no artigo publicado pelo autor desta dissertação (NARCISO et al., 2016), em apêndice (Apêndice A).

5.2 ANÁLISES TRANSVERSAL E LONGITUDINAL

A análise transversal realizada neste trabalho consistiu em verificar diferença estatisticamente significativa dos parâmetros quantitativos entre grupos (EM e controle) na visita V1. A análise longitudinal foi realizada para avaliar o comportamento dos mesmos parâmetros ao longo do tempo, para todos os grupos, em todas as visitas. Mais detalhes sobre as hipóteses sobre os resultados esperados para a análise longitudinal podem ser encontrados na subseção 4.4, p. 54.

As amostras utilizadas nas análises transversal e longitudinal podem ser encontradas na Tabela 4, p. 47. A Tabela 11 apresenta resumo das informações dessas amostras, separadas por grupo e visita.

Tabela 11. Resumo das amostras utilizadas nas análises transversal e longitudinal.

Grupo	<i>n</i>	Atividade de [¹¹ C]-(R)-PK11195		Massa (kg)	Idade (anos)	
		(MBq)	(mCi)			
V1	P0	10	547 ± 104	14,8 ± 2,8	69 ± 17	27 ± 8
	P1	10	571 ± 84	15,4 ± 2,3	65 ± 16	31 ± 9
	C	06	582 ± 131	15,7 ± 3,5	72 ± 10	26 ± 6
V2	P0	09	504 ± 99	13,6 ± 2,7	73 ± 17	27 ± 6
	P1	09	543 ± 80	14,7 ± 2,2	63 ± 13	31 ± 9
	C	03	381 ± 37	10,3 ± 1,0	80 ± 4	24 ± 4
V3	P0	08	352 ± 43	9,5 ± 1,2	72 ± 18	27 ± 5
	P1	06	388 ± 27	10,5 ± 0,7	80 ± 28	38 ± 5
	C	-	-	-	-	-

Resumo das amostras utilizadas nas análises transversal e longitudinal, onde a atividade administrada de [¹¹C]-(R)-PK11195 para aquisição das imagens de PET/CT está em unidades de [MBq] e [mCi], e os dados estão apresentados no formato média ± desvio padrão. Fonte: banco de dados do projeto (BECKER et al., 2013).

Para valores de $SUVR^{WM}$ das imagens de PET/CT cerebrais adquiridas com [¹¹C]-(R)-PK11195, o intervalo temporal que melhor diferencia os grupos é obtido a partir da média dos últimos 50 minutos (mais detalhes na subseção 5.1.2, p. 60). Esse intervalo também resultou em diferenciação dos valores de SUV. Dessa forma, dados das imagens de PET/CT dinâmicas adquiridas dos participantes das três visitas foram extraídos para se obter valores de parâmetros cinéticos, tais como BP_{ND} e $R1$ (descritos na subseção 3.3.2.2, p. 36).

Para as imagens PET/CT estáticas de [¹¹C]-(R)-PK11195, os dados foram extraídos para que fossem obtidos valores de SUV, $SUVR^{WM}$ e $SUVR^{CB}$.

Por serem consideradas regiões características da EM, e por apresentarem resultados significativos nas análises realizadas na subseção 5.1.2.2 (p. 61), as regiões JP, cerebelo e tálamo foram utilizadas nas análises transversal e longitudinal.

As subseções a seguir apresentam os resultados obtidos a partir da aplicação dos métodos quantitativos e semiquantitativos descritos anteriormente, na análise das imagens de PET/CT adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195.

5.2.1 ANÁLISE TRANSVERSAL

5.2.1.1 Potencial de ligação

5.2.1.1.1 Modelo simplificado de tecido de referência

O método SRTM foi aplicado nas TACs da visita V1 obtidas a partir das regiões do tálamo e JP a fim de se obter valores de BP_{ND} e R_1 ($R_1 = K_1/K_1'$ e $BP_{ND} = k_3/k_4$, mais detalhes na subseção 3.3.2.3.1, p. 37). Foi considerado o cerebelo como tecido de referência.

Em geral, os valores de BP_{ND} não foram coerentes para o tálamo, sendo que para as TACs de três imagens não foi possível calcular tal parâmetro. Os demais 23 valores de BP_{ND} apresentam média de $0,14 \pm 0,06$ (variação de 48%), entretanto o erro para tais parâmetros foi de $(1,7 \pm 5,3) \times 10^2\%$. Apenas 9 valores de BP_{ND} apresentaram erro padrão menor que 25%, valor considerado como limite aceitável na prática.

Também para as regiões JP os valores de BP_{ND} não foram coerentes. Para essas regiões, não foi possível realizar o cálculo de 14 valores de BP_{ND} . Dos 12 valores de BP_{ND} restantes, 6 são negativos, com média de $-0,05 \pm 0,04$ [variação de 73% e erro padrão de $(2,6 \pm 2,5) \times 10^2\%$], e 6 positivos, com média $0,16 \pm 0,12$ [variação de 75% e erro padrão de $(6,7 \pm 5,9) \times 10^2\%$]. Nenhum erro padrão menor que 25% foi observado.

Dessa forma, não foi realizada comparação entre grupos para os valores de BP_{ND} obtidos com o SRTM para as regiões do tálamo e JP.

Por outro lado, os valores de R_1 obtidos pelo SRTM, que representa a razão entre as taxas de troca da ROI (K_1) com a região de referência (K_1'), apresentam coerência (Tabela 12). Para o tálamo, tais valores resultaram em média $0,99 \pm 0,05$ (variação de apenas 5%), com erro padrão médio de $(1,8 \pm 0,5)\%$. Já para as regiões JP, a média foi de $0,82 \pm 0,03$ (variação de 3%), com erro padrão médio de $(1,0 \pm 0,4)\%$. Contudo, embora os valores de R_1

sejam coerentes e pareçam promissores, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos para nenhuma das regiões ($p > 0,14$).

Tabela 12. Valores de R_1 obtidos a partir do SRTM para as regiões do tálamo e JP.

R_1					
Região do tálamo			Regiões JP		
	n	Média \pm DP	Erro padrão (média \pm DP)	Média \pm DP	Erro padrão (média \pm DP)
Grupo P0	10	0,99 \pm 0,06	1,97 \pm 0,50	0,81 \pm 0,03	1,37 \pm 0,52
Grupo P1	10	1,00 \pm 0,04	1,74 \pm 0,57	0,83 \pm 0,03	0,90 \pm 0,25
Grupo C	6	0,96 \pm 0,03	1,80 \pm 0,53	0,81 \pm 0,01	0,72 \pm 0,18

Valores de R_1 obtidos a partir do SRTM para as regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média \pm um desvio padrão. Fonte: o autor (2016).

5.2.1.1.2 Modelo Logan com tecido de referência

O modelo de Logan com tecido de referência (cerebelo) também foi aplicado nas TACs da visita V1 obtidas a partir das regiões do tálamo e JP a fim de se obter valores de BP_{ND} (mais detalhes podem ser encontrados na subseção 3.3.2.3.2, p. 38).

Ao contrário das estimativas obtidas com SRTM, os valores de BP_{ND} estimados com o modelo de Logan com tecido de referência apresentaram coerência (Tabela 13). Entretanto, as estimativas de BP_{ND} não resultaram em diferenciação estatística significativa entre grupos para o tálamo ($p = 0,16$ para a comparação entre os grupos P0 e P1, $p > 0,20$ para a comparação entre os grupos P0 e C, e $p = 0,10$ para P0 e P1).

Tabela 13. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes à V1.

BP_{ND}					
Região do tálamo			Regiões JP		
	n	Média \pm DP	Erro padrão (média \pm DP)	Média \pm DP	Erro padrão (média \pm DP)
Grupo P0	10	0,09 \pm 0,07	5,9 \pm 5,8	-0,10 \pm 0,04	6,9 \pm 5,8
Grupo P1	10	0,13 \pm 0,05	3,4 \pm 2,0	-0,08 \pm 0,05	7,4 \pm 3,7
Grupo C	6	0,09 \pm 0,03	4,8 \pm 1,5	-0,09 \pm 0,02	5,7 \pm 0,5

Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média \pm um desvio padrão.

Fonte: o autor (2016).

5.2.1.2 Valores de SUV

Os valores de SUV separados por grupos e obtidos a partir da extração de dados das regiões do tálamo e JP podem ser encontrados na Tabela 14 e no Gráfico 4. A Tabela 15 apresenta os resultados da aplicação do teste *t Student*.

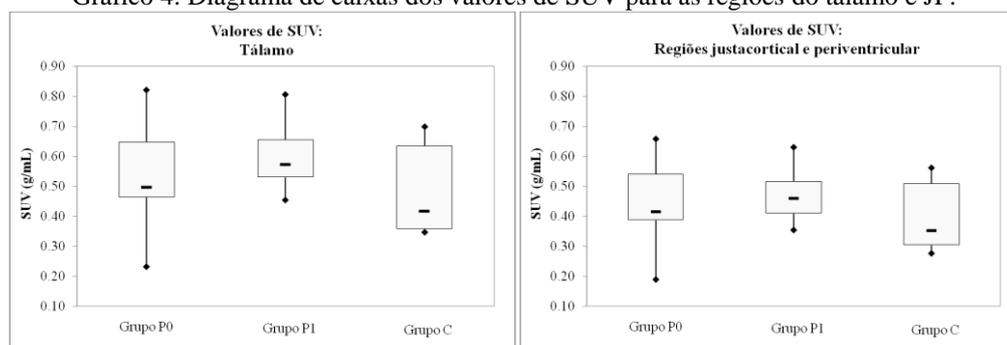
Tabela 14. Valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.

Valores de SUV (g/mL)					
	Região do tálamo			Regiões JP	
	<i>n</i>	Média ± DP	Variação	Média ± DP	Variação
Grupo P0	10	0,54 ± 0,17	32,0%	0,44 ± 0,13	30,0%
Grupo P1	10	0,60 ± 0,10	17,1%	0,47 ± 0,09	18,1%
Grupo C	6	0,49 ± 0,17	34,1%	0,40 ± 0,13	31,9%

Valores de SUV das regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média.

Fonte: o autor (2016).

Gráfico 4. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.



Valores de SUV das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita), separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e os grupos P0 e P1 possuem $n=10$ cada, enquanto o grupo C possui $n=6$. Fonte: o autor (2016).

Tabela 15. Resultados do teste estatístico *t Student* para os valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.

Comparação	Região do tálamo			Regiões JP		
	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
P0 vs P1	14,6	-0,95	> 0,20	15,3	-0,58	> 0,20
P0 vs C	11,0	0,58	> 0,20	11,1	0,69	> 0,20
P1 vs C	7,3	1,48	0,18	7,8	1,28	> 0,20

Resultados do teste estatístico *t Student* separados por comparação: (P0 vs P1) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo virgem de tratamento; (P0 vs C) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo controle; e (P0 vs P1) grupo de pacientes virgem de tratamento em comparação com o grupo controle. Fonte: o autor (2016).

É possível verificar significativa variação dos resultados de valores de SUV para ambas as regiões (Tabela 14). Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos de pacientes P0 e P1 para nenhuma das regiões analisadas ($p > 0,20$), nem entre os grupos P0 e C, ou P1 e C, para nenhuma das regiões analisadas.

5.2.1.3 Valores de SUVR

As análises de $SUVR^{WM}$ (WM como referência, subseção 4.3, p. 54) e $SUVR^{CB}$ (cerebelo como referência, subseção 4.3, p. 54) podem ser encontradas nas subseções que seguem.

5.2.1.3.1 $SUVR^{WM}$

Os resultados $SUVR^{WM}$, separados por grupos e obtidos a partir da extração de dados das regiões do tálamo e JP, podem ser encontrados na Tabela 16 e no Gráfico 5.

Tabela 16. Valores de $SUVR^{WM}$ para as regiões do tálamo e JP.

$SUVR^{WM}$					
	Região do tálamo			Regiões JP	
	<i>n</i>	Média ± DP	Variação	Média ± DP	Variação
Grupo P0	10	1,24 ± 0,08	6,4%	1,02 ± 0,04	4,1%
Grupo P1	10	1,32 ± 0,04	3,2%	1,04 ± 0,02	1,8%
Grupo C	6	1,30 ± 0,04	2,7%	1,07 ± 0,02	1,5%

Valores de $SUVR^{WM}$ das regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 5. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{WM}$ para as regiões do tálamo e JP.

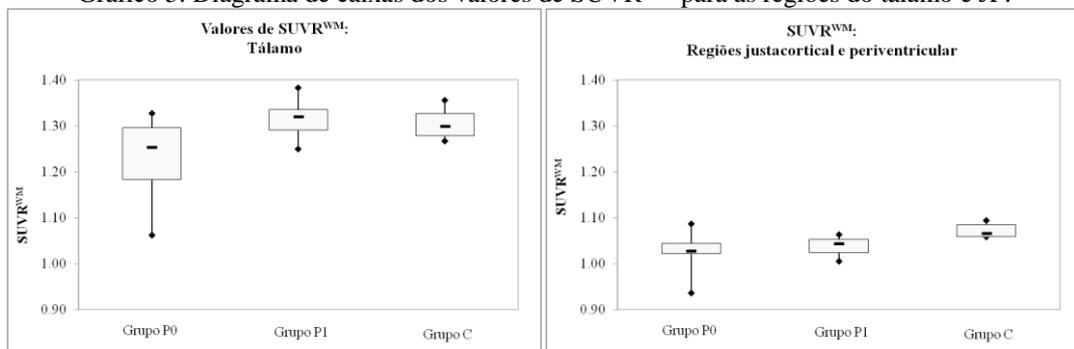


Diagrama de blocos dos valores de $SUVR^{WM}$ das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita), separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e os grupos P0 e P1 possuem $n=10$ cada, enquanto o grupo C possui $n=6$. Fonte: o autor (2016).

Pequena variação nos valores de $SUVR^{WM}$ foi observada, indicando precisão dos resultados obtidos com esse método. A Tabela 17 contém os resultados da aplicação do teste estatístico *t Student* nos dados, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre os grupos.

Tabela 17. Resultados do teste estatístico *t Student* para os valores de $SUVR^{WM}$ para as regiões do tálamo e JP.

Comparação	Região do tálamo			Regiões JP		
	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
P0 vs P1	13,2	-2,68	0,02	12,6	-1,00	> 0,20
P0 vs C	13,0	-2,27	0,04	12,6	-3,21	< 0,01
P1 vs C	12,3	0,57	> 0,20	12,1	-3,68	< 0,01

Resultados do teste estatístico *t Student* separados por comparação: (P0 vs P1) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo virgem de tratamento; (P0 vs C) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo controle; e (P0 vs P1) grupo de pacientes virgem de tratamento em comparação com o grupo controle. Fonte: o autor (2016).

A partir do teste *t Student*, é possível verificar que não existe diferença estatística significativa entre os grupos P0 e P1 ($p > 0,20$), ambos constituídos de pacientes com EM do tipo remitente-recorrente, para as regiões JP. O oposto é verdadeiro para o tálamo ($p = 0,02$). Com relação à diferenciação entre pacientes e controles, foi observada diferença estatisticamente significativa entre pacientes P0 e controles para as regiões do tálamo ($p = 0,04$) e JP ($p < 0,01$), mas diferença estatisticamente significativa entre P1 e controles foi observada somente para as regiões JP ($p < 0,01$).

A aplicação de $SUVR^{WM}$ resulta em diferenciação estatisticamente significativa entre grupos (pacientes e controles) apenas quando a ROI escolhida é a JP, o que representa um resultado inovador em relação a outros estudos na área. A escolha da ROI como sendo o tálamo não resulta em diferenciação entre os grupos P1 e C.

5.2.1.3.2 $SUVR^{CB}$

Os valores de $SUVR^{CB}$, separados por grupos e obtidos a partir da extração de dados das regiões do tálamo e JP, estão presentes na Tabela 18 e no Gráfico 6. A Tabela 19 contém os resultados da aplicação do teste estatístico *t Student* nos dados de $SUVR^{CB}$, visando verificar existência de diferença estatística entre os grupos.

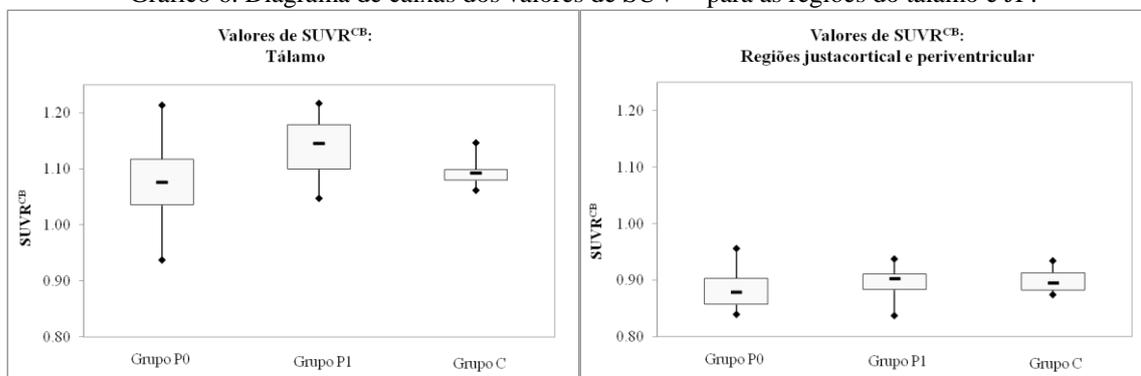
Tabela 18. Valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP.

	Valores de $SUVR^{CB}$				
	Região do tálamo			Regiões JP	
	<i>n</i>	Média ± DP	Variação	Média ± DP	Variação
Grupo P0	10	1,07 ± 0,08	7,6%	0,89 ± 0,04	4,6%
Grupo P1	10	1,14 ± 0,05	4,8%	0,90 ± 0,03	3,2%
Grupo C	6	1,09 ± 0,03	2,6%	0,90 ± 0,02	2,6%

Valores de $SUVR^{CB}$ das regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

A variação observada nos valores de $SUVR^{CB}$ foi pequena, o que indica maior precisão do método.

Gráfico 6. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP.



Valores de SUV das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita), separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e os grupos P0 e P1 possuem $n=10$ cada, enquanto o grupo C possui $n=6$. Fonte: o autor (2016).

Tabela 19. Resultados do teste estatístico *t Student* para os valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP.

Comparação	Região do tálamo			Regiões JP		
	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
P0 vs P1	15,7	-2,11	0,05	16,2	-0,61	> 0,20
P0 vs C	12,2	-0,85	> 0,20	14,0	-0,76	> 0,20
P1 vs C	13,9	1,98	0,06	12,6	-0,20	> 0,20

Resultados do teste estatístico *t Student* separados por comparação: (P0 vs P1) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo virgem de tratamento; (P0 vs C) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo em comparação com o grupo controle; e (P0 vs P1) grupo de pacientes virgem de tratamento em comparação com o grupo controle. Fonte: o autor (2016).

Em relação a essa análise transversal, a utilização de valores de $SUVR^{CB}$ não se mostrou escolha adequada, pois não foi observada diferenciação entre os grupos para as regiões JP ($p > 0,20$), nem diferença entre os grupos P0 e C para o tálamo ($p > 0,20$). Por outro lado, foi observada diferença estatisticamente significativa para o tálamo entre os grupos P0 e P1 ($p = 0,05$) e entre P1 e C ($p = 0,06$).

5.2.1.4 Discussão sobre a análise transversal

Os valores de BP_{ND} obtidos pela aplicação do SRTM não foram coerentes para nenhuma das regiões analisadas. Deve-se recordar que os valores de BP_{ND} não podem ser usados para estimar algumas das TACs, pois apresentam erro padrão muito alto. Assim, não foi realizada análise de diferenciação estatística entre grupos em tais dados.

Os valores de BP_{ND} estimados pelo modelo de Logan com tecido de referência apresentaram coerência e o erro padrão da estimativa foi pequeno ou razoável, para todos os valores de BP_{ND} estimados. Uma vez que os valores de BP_{ND} estimados são negativos para as

regiões JP, existe mais ligação específica de [¹¹C]-(R)-PK11195 no cerebelo do que na região analisada, sendo esse resultado esperado, pois o cerebelo apresenta ligação específica de [¹¹C]-(R)-PK11195 (VENNETI; LOPRESTI; WILEY, 2006). Contudo, os valores de BP_{ND} não apresentaram diferenciação estatisticamente significativa entre grupos para nenhuma das regiões ($p \geq 0,10$).

A utilização de valores de SUV não se mostrou escolha adequada, pois não foi observada diferenciação entre os grupos para nenhuma das regiões escolhidas ($p \geq 0,18$).

O SUVR^{WM} resulta em diferenciação significativa entre os grupos de pacientes com EM e controles somente para as regiões JP ($p < 0,01$). Para o tálamo não há diferenciação entre o grupo de pacientes P0 e o grupo de controles ($p > 0,20$). Por serem regiões específicas da EM, as regiões JP apresentam importante vantagem sobre as outras regiões, sendo que os resultados são satisfatórios para valores de SUVR^{WM}.

Não foi observada diferenciação entre os grupos para as regiões JP ($p > 0,20$) para os valores de SUVR^{CB}, não sendo escolha adequada de método de quantificação para tal região. Para o tálamo, os valores de SUVR^{CB} apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos P0 e P1 ($p = 0,05$) e entre P1 e C ($p = 0,06$). Tal resultado pode estar relacionado com a diferença de idade entre os grupos, uma vez que a captação de [¹¹C]-(R)-PK11195 está correlaciona com a idade (KUMAR et al., 2012), sendo o grupo P1 aquele que possui maior média de idade (31 ± 9 anos, ver Tabela 11, p. 64).

Portanto, para estudos transversais, dentre os métodos investigados, o uso do SUVR^{WM} na região JP apresenta os melhores resultados para diferenciação entre grupos de pacientes com EM e o grupo controle, conforme resultados da amostra estudada.

5.2.2 ANÁLISE LONGITUDINAL

Na análise longitudinal, apenas os participantes que fizeram V1, V2 e V3, ou V1 e V2 foram considerados. Os resultados estão separados em análise dos dados obtidos a partir das três visitas, e em análise considerando apenas as duas primeiras visitas, pois não existem dados do grupo controle referentes à visita V3.

5.2.2.1 Potencial de ligação

5.2.2.1.1 Modelo simplificado de tecido de referência

O método SRTM, explicado na subseção 3.3.2.3.1 (p. 37), foi aplicado nas TACs das três visitas obtidas a partir das regiões do tálamo e JP a fim de se obter valores de BP_{ND} e R_1 (para a visita V1, ver 5.2.1.1.1, p. 65). Foi considerado o cerebelo como tecido de referência.

Com relação à V2 e região do tálamo, não foi possível estimar o BP_{ND} de dois dos pacientes. Os outros valores de BP_{ND} apresentam média de $0,15 \pm 0,14$ (variação de 93%), com erro padrão de $(1,2 \pm 2,2) \times 10^2\%$. Cinco valores de BP_{ND} apresentaram erro padrão menor que 25%, considerado limite aceitável na prática. Já para a V3, mesma região, a média de BP_{ND} foi de $0,12 \pm 0,05$ para os 8 valores estimados corretamente, apresentando variação de 42% e erro padrão de $(56 \pm 40)\%$ (apenas um valor de BP_{ND} foi estimado com erro padrão inferior a 25%). Devido aos altos erros envolvidos, não foi realizada comparação entre grupos para os valores de BP_{ND} obtidos com o SRTM para as regiões do tálamo.

Para a V2 e as regiões JP, os valores de BP_{ND} não foram estimados adequadamente em 7 estimativas, apresentando média de $-0,02 \pm 0,01$ [variação de 67% e erro padrão de $(1,3 \pm 1,9) \times 10^3\%$] para os 5 valores de BP_{ND} negativos, e média $0,08 \pm 0,06$ [variação de 69% e erro padrão de $(6,9 \pm 6,9) \times 10^2\%$]. A média de valores de BP_{ND} da V3 (todos negativos) foi de $-0,05 \pm 0,04$ [variação de 84% e erro padrão de $(3,1 \pm 4,8) \times 10^2\%$]. Nenhum erro padrão menor que 25% foi observado para a V2 e apenas um na V3. Dessa forma, também não foi realizada comparação entre grupos para os valores de BP_{ND} obtidos com o SRTM para as regiões JP.

Uma vez que os valores de R_1 obtidos pelo SRTM não apresentaram diferença significativa entre os grupos para nenhuma das regiões na análise transversal, não foi realizada análise longitudinal visando avaliar existência de diferença estatística entre visitas em tais valores.

5.2.2.1.2 Modelo Logan com tecido de referência

O modelo de Logan com tecido de referência, explicado na subseção 3.3.2.3.2 (p. 38), também foi aplicado nas TACs das três visitas, a partir das regiões do tálamo e JP, a fim de se obter valores de BP_{ND} , considerando o cerebelo como tecido de referência. A seguir

estão análises considerando as três visitas e considerando apenas as V1 e V2, pois o grupo controle não apresenta V3.

Considerando as três visitas, os valores de BP_{ND} estimados com o modelo de Logan com tecido de referência podem ser encontrados na Tabela 20. As estimativas de BP_{ND} não resultaram em diferenciação estatística significativa entre visitas para nenhuma das regiões analisadas ($p > 0,20$).

Tabela 20. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.

BP_{ND}					
Região do tálamo				Regiões JP	
Visita 1	<i>n</i>	Média ± DP	Erro padrão (média ± DP)	Média ± DP	Erro padrão (média ± DP)
Grupo P0	6	0,11 ± 0,06	6,5 ± 7,2	-0,09 ± 0,03	7,3 ± 5,8
Grupo P1	4	0,11 ± 0,05	4,2 ± 2,4	-0,07 ± 0,07	5,7 ± 1,1
Visita 2					
Grupo P0	6	0,11 ± 0,03	3,2 ± 1,0	-0,09 ± 0,02	6,8 ± 3,3
Grupo P1	4	0,10 ± 0,05	4,8 ± 3,2	-0,18 ± 0,14	4,9 ± 2,0
Visita 3					
Grupo P0	6	0,10 ± 0,05	7,2 ± 7,0	-0,10 ± 0,02	5,3 ± 1,4
Grupo P1	4	0,14 ± 0,04	3,5 ± 1,5	-0,10 ± 0,02	5,8 ± 1,4

Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas e separados por grupo. Os dados estão na forma de média ± um desvio padrão. Fonte: o autor (2016).

Considerando as duas primeiras visitas (V1 e V2), os valores de BP_{ND} estimados com o modelo de Logan com tecido de referência podem ser encontrados na Tabela 21. As estimativas de BP_{ND} não resultaram em diferenciação estatística significativa entre visitas para nenhuma das regiões e grupos analisados ($p > 0,20$).

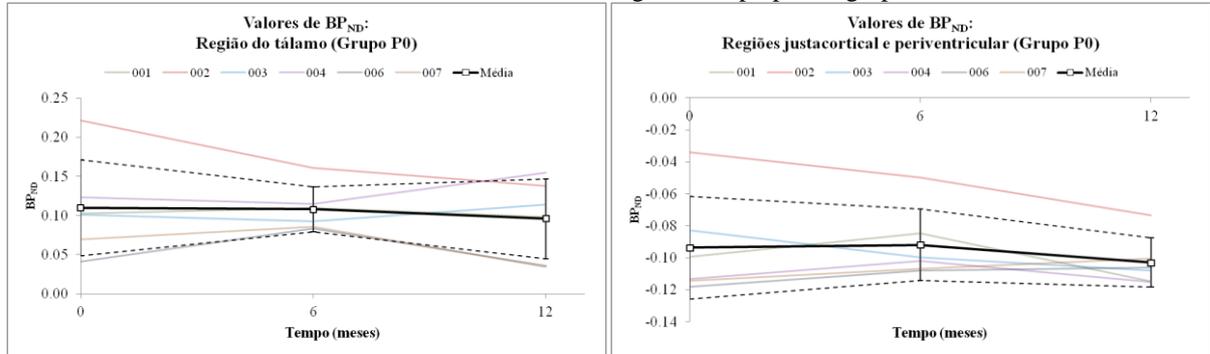
Tabela 21. Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às V1 e V2.

BP_{ND}					
Região do tálamo				Regiões JP	
Visita 1	<i>n</i>	Média ± DP	Erro padrão (média ± DP)	Média ± DP	Erro padrão (média ± DP)
Grupo P0	7	0,09 ± 0,08	6,7 ± 6,6	-0,10 ± 0,04	6,9 ± 5,5
Grupo P1	9	0,13 ± 0,06	3,3 ± 2,1	-0,08 ± 0,05	7,6 ± 3,8
Grupo C	3	0,08 ± 0,01	4,3 ± 0,6	-0,08 ± 0,03	6,6 ± 0,9
Visita 2					
Grupo P0	7	0,10 ± 0,04	3,8 ± 1,9	-0,10 ± 0,03	6,4 ± 3,2
Grupo P1	9	0,12 ± 0,04	4,2 ± 2,5	-0,13 ± 0,10	6,5 ± 2,6
Grupo C	3	0,08 ± 0,02	4,4 ± 1,8	-0,09 ± 0,01	5,6 ± 1,0

Valores de BP_{ND} obtidos a partir do modelo de Logan com tecido de referência para as regiões do tálamo e JP, referentes às V1 e V2, separados por grupo. Os dados estão na forma de média ± um desvio padrão. Fonte: o autor (2016).

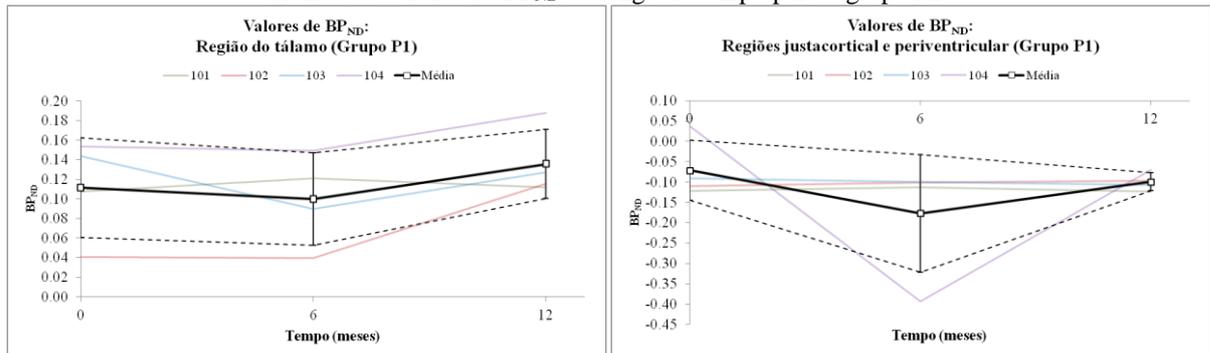
Os valores de BP_{ND} estão apresentados ao longo do tempo nos Gráfico 7 (grupo P0) e Gráfico 8 (grupo P1), de modo que pode ser visualizado o comportamento ao longo do tempo do parâmetro.

Gráfico 7. Valores de BP_{ND} ao longo do tempo para o grupo P0.



Valores de BP_{ND} ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 18$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 8. Valores de BP_{ND} ao longo do tempo para o grupo P1.



Valores de BP_{ND} ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 12$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

5.2.2.2 Valores de SUV

5.2.2.2.1 Visitas V1, V2 e V3

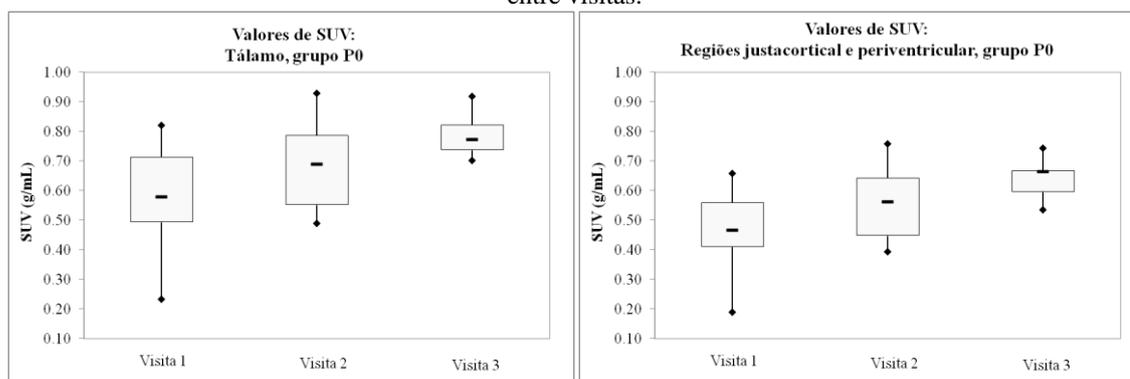
Os valores de SUV das três visitas também foram analisados para as regiões do tálamo e JP e podem ser encontrados na Tabela 22 e nos gráficos a seguir (Gráfico 9 e Gráfico 10).

Tabela 22. Valores de SUV para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.

Valores de SUV (g/mL)					
Região do tálamo				Regiões JP	
Visita 1	<i>n</i>	Média ± DP	Variação	Média ± DP	Variação
Grupo P0	6	0,57 ± 0,21	36,8%	0,46 ± 0,16	35,4%
Grupo P1	4	0,56 ± 0,08	14,4%	0,44 ± 0,06	14,5%
Visita 2					
Grupo P0	6	0,69 ± 0,17	24,8%	0,56 ± 0,14	25,3%
Grupo P1	4	0,53 ± 0,11	20,0%	0,43 ± 0,10	24,1%
Visita 3					
Grupo P0	6	0,79 ± 0,08	9,9%	0,64 ± 0,07	11,6%
Grupo P1	4	0,74 ± 0,20	26,3%	0,58 ± 0,16	26,9%

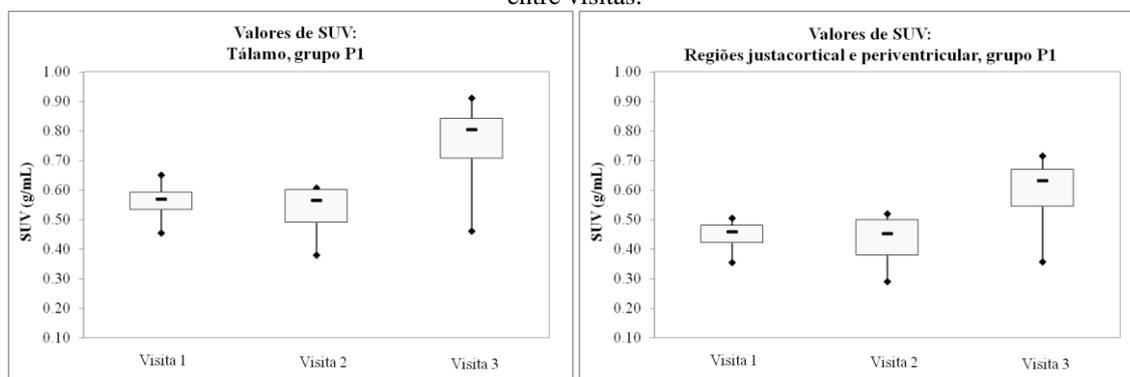
Valores de SUV das regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas e separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 9. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP para o grupo P0, comparação entre visitas.



Valores de SUV das regiões do tálamo e JP para o grupo P0, separados por visita. Os dados estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 10. Diagrama de caixas dos valores de SUV para as regiões do tálamo e JP para o grupo P1, comparação entre visitas.



Valores de SUV das regiões do tálamo e JP para o grupo P1, separados por visita. Os dados estão na forma de média ± um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

De modo similar às análises transversais, pode ser observada significativa variação dos resultados de valores de SUV. A tabela a seguir (Tabela 23) apresenta os resultados da

aplicação do teste estatístico *t Student* nos dados de valores de SUV das três visitas, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre as visitas.

Tabela 23. Resultados do teste estatístico *t Student* para os valores de SUV para as regiões do tálamo e JP.

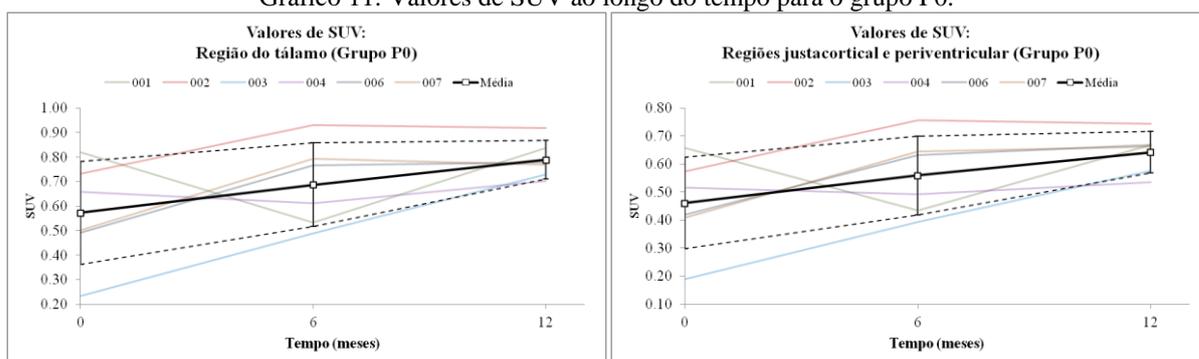
Comparação	Região do tálamo			Regiões JP		
	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
P0-V1 vs P0-V2	9,6	-1,04	> 0,20	9,7	-1,12	> 0,20
P0-V1 vs P0-V3	6,4	-2,36	0,06	7,0	-2,48	0,04
P1-V1 vs P1-V2	5,6	0,48	> 0,20	5,0	0,27	> 0,20
P1-V1 vs P1-V3	4,0	-1,75	0,18	4,0	-1,64	> 0,20

Resultados do teste estatístico *t Student* separados por comparação: (P0-V1 vs P0-V2) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo, comparação entre visitas V1 e V2; (P0-V1 vs P0-V3) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo, comparação entre visitas V1 e V3; (P1-V1 vs P1-V2) grupo de pacientes virgem de tratamento, comparação entre visitas V1 e V2; e (P1-V1 vs P1-V3) grupo de pacientes virgem de tratamento, comparação entre visitas V1 e V3. Fonte: o autor (2016).

Não foi verificada diferença significativa entre visitas, exceto para o grupo P0 entre as visitas V1 e V3 em ambas as regiões do tálamo ($p = 0,06$) e JP ($p = 0,04$). Deve-se recordar que o grupo P0 é constituído por pacientes com EM que estavam em tratamento prévio e alteraram a medicação para fingolimode a partir da visita V2. Maiores estudos são necessários para esclarecer esse comportamento.

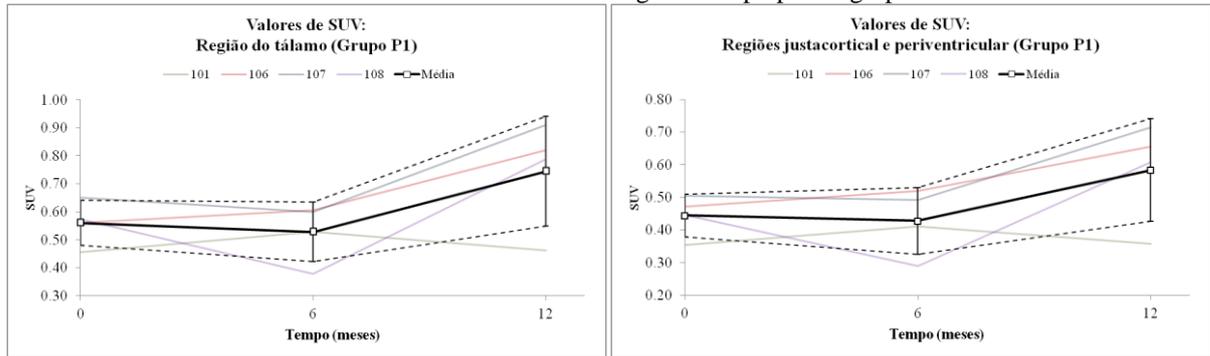
Os valores de SUV podem ser encontrados nos gráficos a seguir para visualização do comportamento do parâmetro ao longo do tempo (Gráfico 11 para o grupo P0 e Gráfico 12 para o grupo P1).

Gráfico 11. Valores de SUV ao longo do tempo para o grupo P0.



Valores de SUV ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 18$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 12. Valores de SUV ao longo do tempo para o grupo P1.



Valores de SUV ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 12$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

5.2.2.2.2 Visitas V1 e V2

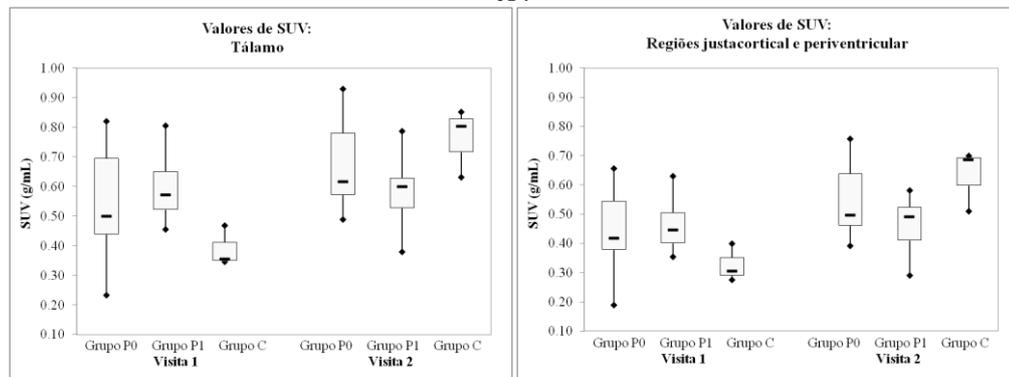
Os valores de SUV das visitas V1 e V2 também foram analisados para as regiões do tálamo e JP e podem ser encontrados na Tabela 24 e no Gráfico 13.

Tabela 24. Valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.

Valores de SUV (g/mL)					
Região do tálamo				Regiões JP	
Visita 1	n	Média \pm DP	Variação	Média \pm DP	Variação
Grupo P0	7	0,55 \pm 0,20	37,4%	0,44 \pm 0,15	34,8%
Grupo P1	9	0,59 \pm 0,10	17,6%	0,46 \pm 0,08	17,9%
Grupo C	3	0,39 \pm 0,07	17,3%	0,33 \pm 0,06	19,6%
Visita 2					
Grupo P0	7	0,68 \pm 0,16	23,3%	0,55 \pm 0,13	23,9%
Grupo P1	9	0,59 \pm 0,12	20,2%	0,47 \pm 0,09	19,4%
Grupo C	3	0,76 \pm 0,12	15,2%	0,63 \pm 0,11	16,8%

Valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, das regiões JP, separados por grupo. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 13. Diagrama de caixas dos valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.



Valores de SUV das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão, com $n = 6$. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Os resultados apresentam significativa variação (>15%). A Tabela 25 a seguir contém os resultados da aplicação do teste estatístico *t Student* nos valores de SUV das visitas V1 e V2, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre as visitas.

Tabela 25. Resultados do teste estatístico *t Student* para os valores de SUV referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.

Comparação	Região do tálamo			Regiões JP		
	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>	Graus de Liberdade	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
P0-V1 vs P0-V2	11,3	-1,34	> 0,20	11,7	-1,38	> 0,20
P1-V1 vs P1-V2	15,7	-0,08	> 0,20	15,8	-0,26	> 0,20
C-V1 vs C-V2	3,3	-4,82	0,01	3,3	-4,26	0,02

Resultados do teste estatístico *t Student* separados por comparação: (P0-V1 vs P0-V2) grupo de pacientes que utilizavam de medicação prévia ao estudo, comparação entre visitas V1 e V2; (P1-V1 vs P1-V2) grupo de pacientes que virgem de tratamento, comparação entre visitas V1 e V2; e (C-V1 vs C-V2) grupo controle, comparação entre visitas V1 e V2. Fonte: o autor (2016).

Não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre visitas para os grupos de pacientes ($p > 0,20$). Contudo, observa-se diferença dos valores de SUV entre as visitas V1 e V2 para o grupo controle em ambas as regiões do tálamo ($p = 0,01$) e JP ($p = 0,02$), sendo este resultado inesperado considerando as hipóteses levantadas na subseção 4.4 (p. 54). Maiores estudos são necessários para esclarecer esse comportamento, pois esse resultado pode estar ligado à alta variação dos valores de SUV, conforme mostra a Tabela 24.

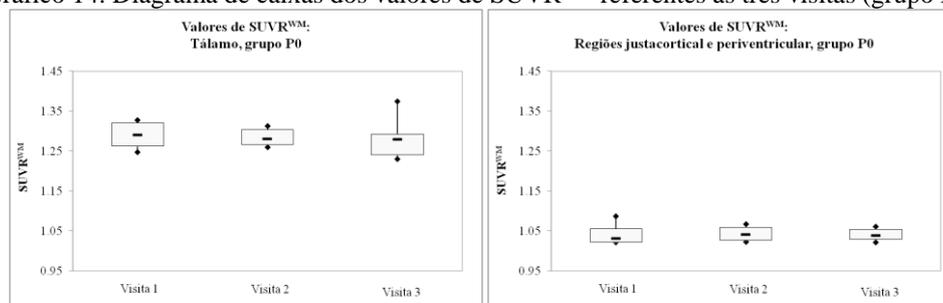
5.2.2.3 Valores de SUVR

5.2.2.3.1 $SUVR^{WM}$

5.2.2.3.1.1 Visitas V1, V2 e V3

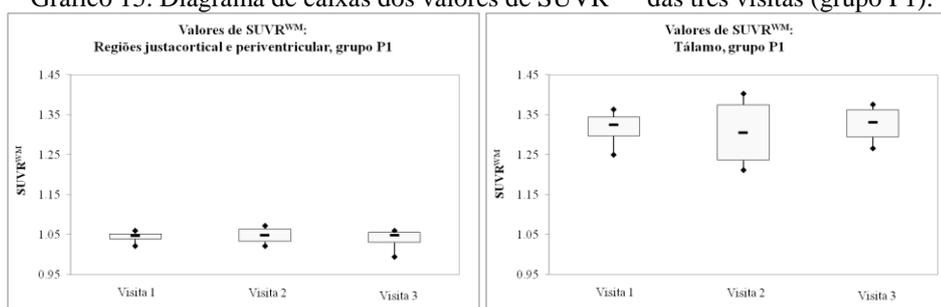
Os gráficos a seguir (Gráfico 14 e Gráfico 15) e a Tabela 26 e apresentam os $SUVR^{WM}$ das regiões do tálamo e JP.

Gráfico 14. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{WM}$ referentes às três visitas (grupo P0).



Valores de $SUVR^{WM}$ das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita), grupo P0. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão, com $n = 6$. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média.

Fonte: o autor (2016).

Gráfico 15. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{WM}$ das três visitas (grupo P1).

Valores de $SUVR^{WM}$ e de captação normalizada pelo método semiquantitativo proposto por Hammoud e colaboradores (2005) das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita), grupo P1. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão, com $n = 4$. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

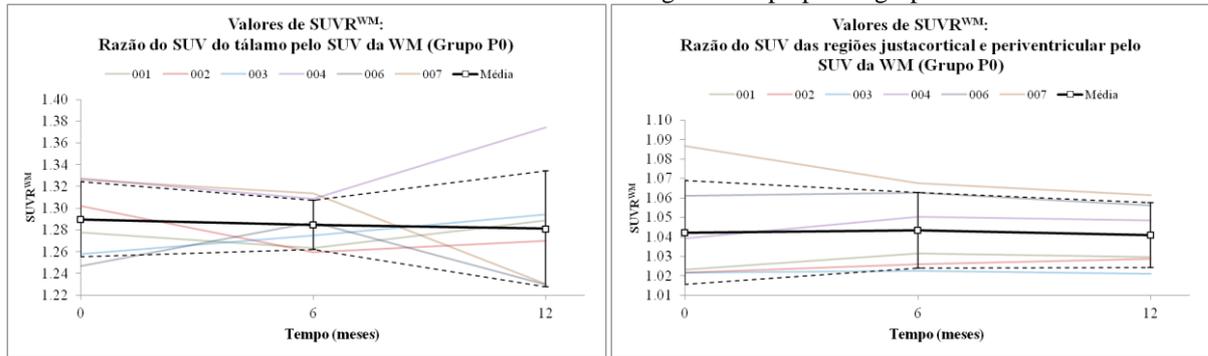
Tabela 26. Valores de $SUVR^{WM}$ das três visitas, para as regiões do tálamo e JP.

$SUVR^{WM}$					
Região do tálamo			Regiões JP		
Visita 1	n	Média \pm DP	Variação	Média \pm DP	Variação
Grupo P0	6	1,29 \pm 0,03	2,7%	1,04 \pm 0,03	2,6%
Grupo P1	4	1,32 \pm 0,05	3,7%	1,04 \pm 0,02	1,6%
Visita 2					
Grupo P0	6	1,28 \pm 0,02	1,8%	1,04 \pm 0,02	1,9%
Grupo P1	4	1,31 \pm 0,09	7,1%	1,05 \pm 0,02	2,2%
Visita 3					
Grupo P0	6	1,28 \pm 0,05	4,2%	1,04 \pm 0,02	1,6%
Grupo P1	4	1,33 \pm 0,05	3,8%	1,04 \pm 0,03	2,9%

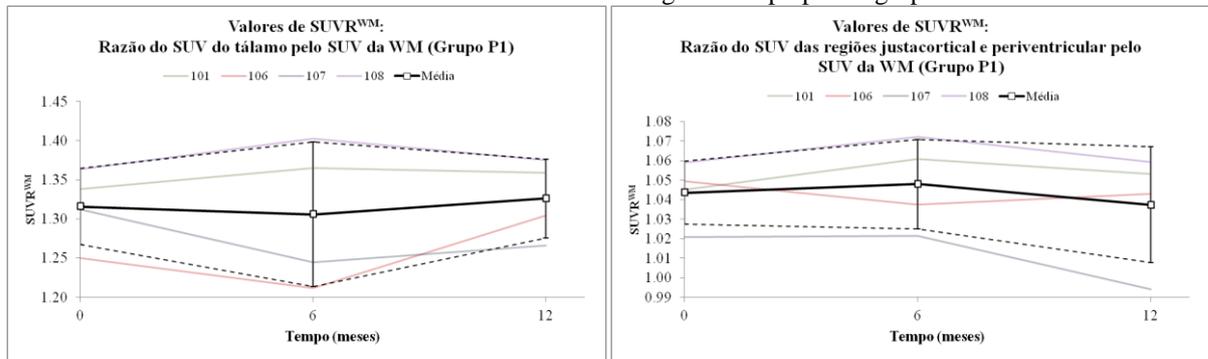
Valores de $SUVR^{WM}$ referentes às três visitas, das regiões do tálamo e JP, separados por grupo. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Os resultados apresentam pequena variação, indicando precisão na utilização do método. Após a aplicação do teste estatístico *t Student* nos dados de $SUVR^{WM}$ das três visitas, não foi verificada diferença estatisticamente significativa em nenhuma das comparações ($p > 0,20$). Tal resultado vem ao encontro das hipóteses levantadas na subseção 4.4 (p. 54).

Os valores de $SUVR^{WM}$ podem ser encontrados nos Gráfico 16 (grupo P0) e Gráfico 17 (grupo P1), nos quais o comportamento longitudinal dos valores de $SUVR^{WM}$ pode ser visualizado.

Gráfico 16. Valores de $SUVR^{WM}$ ao longo do tempo para o grupo P0.

Valores de $SUVR^{WM}$ ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 18$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 17. Valores de $SUVR^{WM}$ ao longo do tempo para o grupo P1.

Valores de $SUVR^{WM}$ ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 12$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. Fonte: o autor (2016).

5.2.2.3.1.2 Visitas V1 e V2

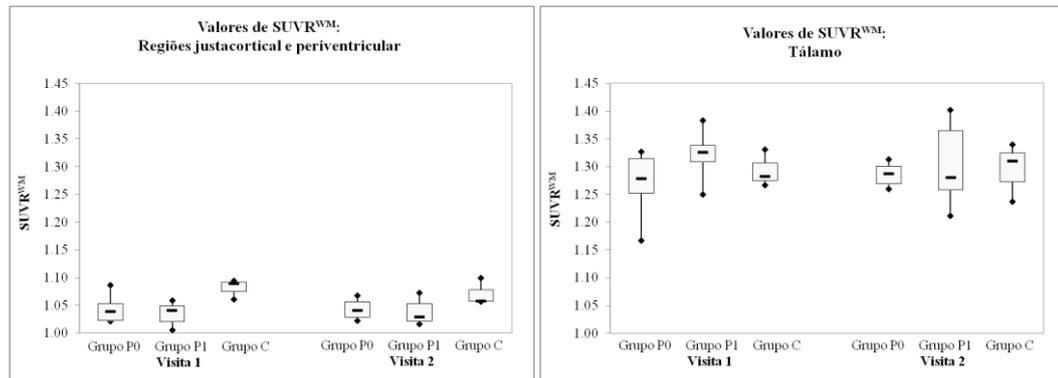
A Tabela 27 apresenta os resultados das regiões do tálamo e JP de $SUVR^{WM}$ para as visitas V1 e V2. Tais resultados estão na forma de diagrama de caixas no Gráfico 18.

Tabela 27. Valores de $SUVR^{WM}$ das V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.

$SUVR^{WM}$					
Região do tálamo			Regiões JP		
Visita 1	n	Média \pm DP	Varição	Média \pm DP	Varição
Grupo P0	6	1,27 \pm 0,06	4,4%	1,04 \pm 0,02	2,3%
Grupo P1	4	1,32 \pm 0,04	3,0%	1,04 \pm 0,02	1,7%
Grupo C		1,29 \pm 0,03	2,6%	1,08 \pm 0,02	1,7%
Visita 2					
Grupo P0	6	1,29 \pm 0,02	1,6%	1,04 \pm 0,02	1,7%
Grupo P1	4	1,30 \pm 0,07	5,1%	1,04 \pm 0,02	2,0%
Grupo C		1,30 \pm 0,05	4,1%	1,07 \pm 0,02	2,3%

Valores de $SUVR^{WM}$ das visitas V1 e V2, das regiões JP, separados por grupo. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Varição foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 18. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{WM}$ referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.



Valores de $SUVR^{WM}$ das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão, com $n = 6$. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Os resultados apresentam pequena variação (aprox. $<5\%$), indicando que a aplicação do método resulta em dados com baixa variabilidade. Teste estatístico *t Student* foi aplicado nos dados de $SUVR^{WM}$ das visitas V1 e V2, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre as visitas. Não foi verificada diferença estatisticamente significativa em nenhuma das comparações ($p > 0,20$). Tal resultado vem ao encontro das hipóteses levantadas na subseção 4.4 (p. 54).

5.2.2.3.2 $SUVR^{CB}$

5.2.2.3.2.1 Visitas V1, V2 e V3

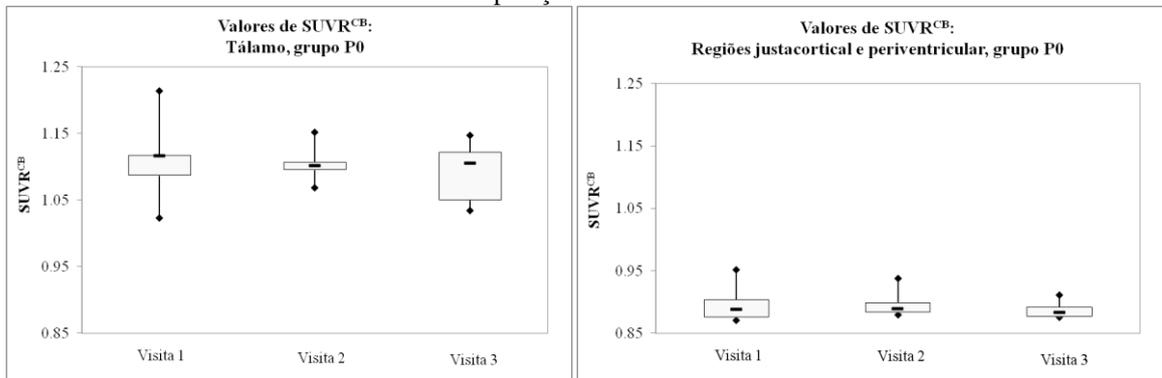
Os valores de $SUVR^{CB}$ das três visitas para as regiões do tálamo e JP e podem ser encontrados na Tabela 28, no Gráfico 19, para o grupo P0, e no Gráfico 20, para o grupo P1.

Tabela 28. Valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas.

Valores de $SUVR^{CB}$					
Visita	n	Região do tálamo		Regiões JP	
		Média \pm DP	Variação	Média \pm DP	Variação
Visita 1					
Grupo P0	6	1,11 \pm 0,06	5,6%	0,90 \pm 0,03	3,4%
Grupo P1	4	1,12 \pm 0,05	4,6%	0,89 \pm 0,02	1,7%
Visita 2					
Grupo P0	6	1,10 \pm 0,03	2,5%	0,90 \pm 0,02	2,4%
Grupo P1	4	1,10 \pm 0,05	4,4%	0,88 \pm 0,01	0,9%
Visita 3					
Grupo P0	6	1,09 \pm 0,05	4,3%	0,89 \pm 0,01	1,5%
Grupo P1	4	1,14 \pm 0,03	3,1%	0,89 \pm 0,02	2,3%

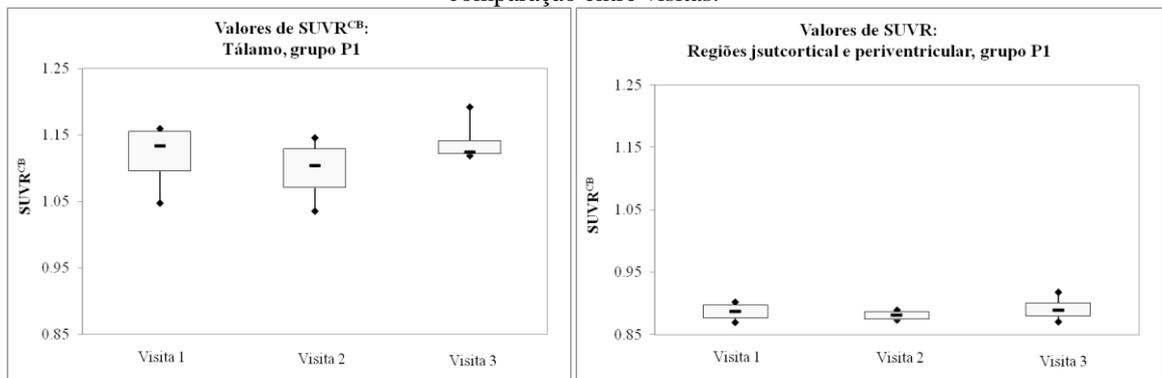
Valores de $SUVR^{CB}$ das regiões do tálamo e JP, referentes às três visitas e separados por grupo. Os dados são referentes à visita inicial e estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 19. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP para o grupo P0, comparação entre visitas.



Valores de $SUVR^{CB}$ das regiões do tálamo e JP para o grupo P0, separados por visita. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

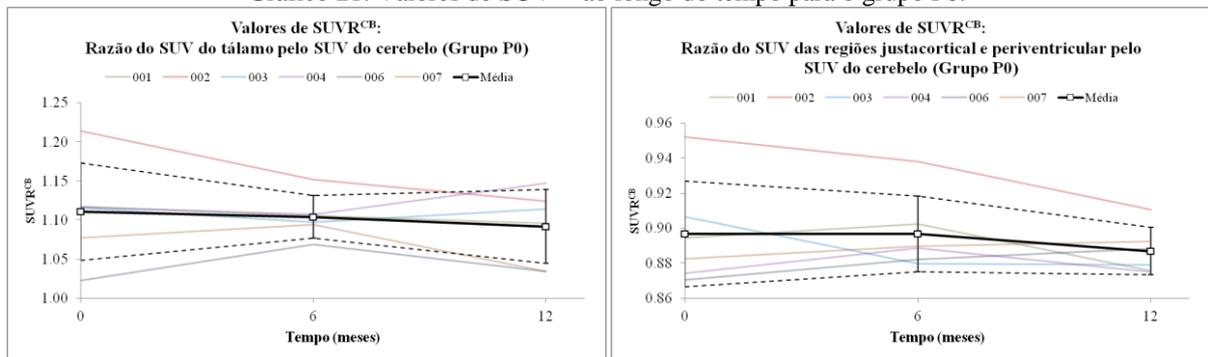
Gráfico 20. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ para as regiões do tálamo e JP para o grupo P1, comparação entre visitas.



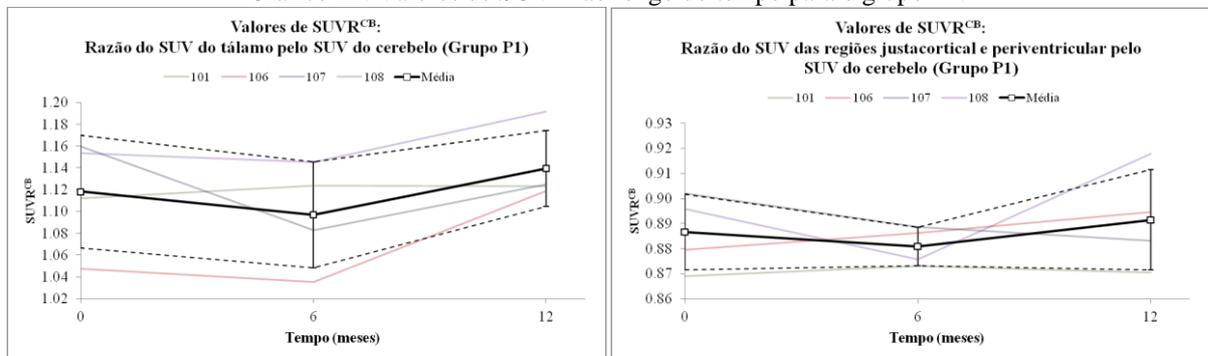
Valores de $SUVR^{CB}$ das regiões do tálamo e JP para o grupo P1, separados por visita. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Os valores de $SUVR^{CB}$ também apresentaram pequena variação, similarmente ao observado nas análises transversais. Não foi verificada diferença significativa entre visitas para nenhum dos grupos e nenhuma das regiões da análise ($p > 0,20$), resultado da aplicação do teste estatístico *t Student* nos dados de valores de $SUVR^{CB}$ das três visitas, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre as visitas.

O comportamento ao longo do tempo do parâmetro $SUVR^{CB}$ pode ser visualizado nos gráficos que seguem (Gráfico 21 para o grupo P0 e Gráfico 22 para o grupo P1).

Gráfico 21. Valores de $SUVR^{CB}$ ao longo do tempo para o grupo P0.

Valores de $SUVR^{CB}$ ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 18$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. O coeficiente de correlação $r = -0,28$ ($p > 0,20$) para o tálamo e $r = -0,23$ ($p > 0,20$) para as regiões JP. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 22. Valores de $SUVR^{CB}$ ao longo do tempo para o grupo P1.

Valores de $SUVR^{CB}$ ao longo do tempo para as regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados são correspondentes aos participantes que realizaram as três visitas, $n = 12$. A linha em preto representa a média dos dados, com desvio padrão representado pela linha preta tracejada. O coeficiente de correlação $r = 0,23$ ($p > 0,20$) para o tálamo e $r = 0,25$ ($p > 0,20$) para as regiões JP. Fonte: o autor (2016).

5.2.2.3.2.2 Visitas V1 e V2

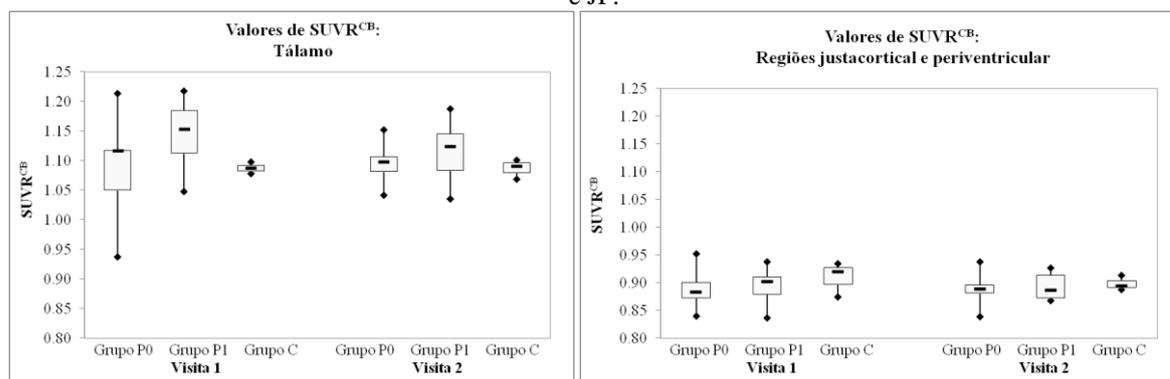
Os valores de $SUVR^{CB}$ das visitas V1 e V2 estão na Tabela 29 e no Gráfico 23.

Tabela 29. Valores de $SUVR^{CB}$ referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.

Valores de $SUVR^{CB}$					
Região do tálamo				Regiões JP	
Visita 1	n	Média \pm DP	Variação	Média \pm DP	Variação
Grupo P0	7	1,09 \pm 0,09	8,0%	0,89 \pm 0,03	3,9%
Grupo P1	9	1,14 \pm 0,06	4,9%	0,89 \pm 0,03	3,2%
Grupo C	3	1,09 \pm 0,01	0,9%	0,91 \pm 0,03	3,4%
Visita 2					
Grupo P0	7	1,10 \pm 0,03	3,1%	0,89 \pm 0,03	3,3%
Grupo P1	9	1,12 \pm 0,05	4,4%	0,89 \pm 0,03	2,5%
Grupo C	3	1,09 \pm 0,02	1,5%	0,91 \pm 0,01	1,5%

Valores de $SUVR^{CB}$ referentes às visitas V1 e V2, das regiões JP, separados por grupo. Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Gráfico 23. Diagrama de caixas dos valores de $SUVR^{CB}$ referentes às visitas V1 e V2, para as regiões do tálamo e JP.



Valores de $SUVR^{CB}$ das regiões do tálamo (esquerda) e JP (direita). Os dados estão na forma de média \pm um desvio padrão, com $n = 6$. Variação foi calculada como a razão entre o desvio padrão e a média. Fonte: o autor (2016).

Os resultados apresentam pequena variação ($\leq 8\%$). Após aplicação do teste estatístico *t Student* nos valores de $SUVR^{CB}$ das visitas V1 e V2, com o objetivo de verificar existência de diferença estatística entre as visitas, não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre visitas para nenhum dos grupos de pacientes e nenhuma das regiões ($p > 0,20$). O resultado obtido é coerente com as hipóteses levantadas na subseção 4.4 (p. 54).

5.2.2.4 Discussão da análise longitudinal

Os valores de BP_{ND} determinado pelo SRTM não apresentaram resultados satisfatórios para nenhuma das regiões analisadas. Deve-se recordar que os valores de BP_{ND} não podem ser usados para estimar algumas das TACs, pois apresentam erro padrão muito alto. Assim, não foi realizada análise de diferenciação estatística entre visitas.

Os valores de BP_{ND} estimados pelo modelo de Logan com tecido de referência apresentaram erro padrão da estimativa pequeno para todos os valores de BP_{ND} estimados. As estimativas de BP_{ND} não resultaram em diferenciação estatística significativa entre visitas para nenhuma das regiões e grupos analisados ($p > 0,20$), tanto nas análises entre as três vistas, quanto nas análises considerando as duas primeiras visitas.

A presença de considerável variação dos resultados de SUV indica pouca confiabilidade no uso desse parâmetro em avaliações do comportamento da captação de $[^{11}C]$ -(R)-PK11195 ao longo da evolução da EM e mesmo do grupo controle. Diferença significativa entre visitas foi observada para o grupo P0 entre as visitas V1 e V3, tanto na região do tálamo ($p = 0,06$), como nas regiões JP ($p = 0,04$). Tal resultado não era esperado, considerando as hipóteses levantadas na subseção 4.4 (p. 54), que consideram resposta

positiva ao medicamento. Por outro lado, pode ser um indicativo de progressão da doença para o grupo P0 e mais estudos são necessários para investigar se tal resultado é consequência da variabilidade dos valores de SUV ou se existe, de fato, progressão da doença e resposta negativa ao medicamento. Outro indicativo que o SUV não é parâmetro adequado para verificação da evolução da doença está no fato de terem sido observadas diferenças dos valores de SUV entre as visitas V1 e V2 para o grupo controle em ambas as regiões do tálamo ($p = 0,01$) e JP ($p = 0,02$). Esse resultado é inesperado e precisa ser melhor investigado, pois não deveria haver mudança de captação no grupo controle ao longo do tempo.

O $SUVR^{WM}$ resultou em valores com baixa variação (Tabela 26), indicando estabilidade do método ao longo do tempo. Além disso, não foi observada diferença significativa entre visitas para nenhum dos grupos e regiões da análise ($p > 0,20$), apesar da pequena variação dos resultados.

De forma similar, o $SUVR^{CB}$ apresentou pequena variação em seus resultados. Não foi verificada diferença significativa entre visitas para nenhum dos grupos e nenhuma das regiões da análise ($p > 0,20$). Tal resultado pode indicar estabilidade na captação de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195 ao longo do tempo. Como o $SUVR^{WM}$, o parâmetro $SUVR^{CB}$ pode ser um potencial indicador de evolução patológica da EM.

Buscando verificar qual(is) do(s) parâmetro(s) apresenta(m) indicativo de aumento ou diminuição da captação de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195 nas regiões analisadas, a última análise realizada longitudinalmente foi a de correlação com o tempo. Foi observada correlação positiva significativa entre valores de SUV e tempo, para ambos os grupos e regiões analisadas (tálamo, com $r = 0,50$, $p = 0,04$, para o grupo P0 e $r = 0,54$, $p = 0,07$, para o grupo P1; e JP, com $r = 0,53$, $p = 0,03$, para o grupo P0 e $r = 0,51$, $p = 0,09$, para o grupo P1). Esse resultado pode ser consequência da variabilidade dos valores de SUV nas regiões analisadas, de modo que mais estudos são necessários para investigar a confiabilidade do SUV em avaliações longitudinais da captação de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195. Além disso, é necessária uma análise longitudinal dos parâmetros quantitativos para cada paciente individualmente e sua correlação com a evolução da doença para se verificar o comportamento da captação de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195 na EM.

Portanto, para estudos longitudinais, dentre os métodos investigados, o uso do $SUVR^{WM}$ e do $SUVR^{CB}$ podem indicar o comportamento da captação de $[^{11}C]-(R)$ -PK11195 ao longo do tempo, sendo tais medidas potenciais indicadores de evolução da EM quando aplicados nas regiões JP. Para os outros métodos analisados, os valores de BP_{ND} estimados

pelo método de Logan com tecido de referência se apresentaram incoerentes devido ao uso do cerebelo como região de referência, resultando em valores negativos de BP_{ND} , e o SUV apresentou significativa variação.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo principal desse trabalho foi investigar métodos de análise quantitativa e semiquantitativa de imagens PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, identificando suas limitações e potencialidades.

Para preparação e processamento das imagens para extração dos dados para as imagens PET/CT cerebrais adquiridas com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, a amostragem temporal adequada para a reformatação da imagem dinâmica de PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 (1x15s, 3x5s, 3x10s, 2x30s, 3x60s, 4x150s, 5x300s e 2x600s, totalizando 23 quadros temporais em um período de 1h). A amostragem temporal proposta permitiu a obtenção das TACs de forma adequada para a quantificação do comportamento cinético do radiofármaco nas ROIs.

O intervalo temporal adequado para a reformatação da imagem estática de PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 é dependente do método de semiquantificação aplicado. Para a análise das ROIs nos pacientes com EM, a imagem estática de PET/CT obtida a partir da média entre 10 e 60 min da aquisição resulta em diferença estatisticamente significativa dos valores de SUV e SUVR^{WM} entre os pacientes com EM e o grupo controle. A diferença mais significativa entre os grupos ocorre com a aplicação do SUVR^{WM} , nas regiões JP.

Não foram realizadas as análises transversal e longitudinal com os valores de BP_{ND} obtidos com a aplicação do SRTM para as imagens dinâmicas de PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195, uma vez que o modelo não foi capaz de gerar resultados satisfatórios para todas as imagens, além de apresentar erro muito alto para tal estimativa. Os valores de BP_{ND} estimados pelo modelo de Logan com tecido de referência apresentaram erro padrão da estimativa pequeno. A obtenção de valores de BP_{ND} negativos para as regiões JP permite concluir que existe mais ligação específica de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no cerebelo do que nessas regiões. No entanto, não há diferenciação estatisticamente significativa dos valores de BP_{ND} entre grupos e entre visitas para nenhuma das regiões (tálamo e JP). Conclui-se que a utilização de BP_{ND} pelo modelo de Logan com tecido de referência em imagens dinâmicas de PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 não fornece indicativo adequado de evolução da EM.

A utilização do SUV nas imagens estáticas não se mostrou escolha adequada, pois não foi observada diferenciação entre os grupos para nenhuma das regiões escolhidas. Além disso, foi observada presença de considerável variação dos valores de SUV, indicando pouca

confiabilidade nesses valores em avaliações do comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 ao longo do tempo.

Os valores de SUVR^{WM} apresentam diferenciação significativa entre os grupos de pacientes com EM e controles somente para as regiões JP. Não foi observada diferença significativa entre visitas para nenhum dos grupos e regiões da análise. Conclui-se que o SUVR^{WM} poderia ser um indicador do comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 ao longo do tempo, e, portanto, da evolução da EM.

A utilização de SUVR^{CB} não apresenta diferenciação entre os grupos de pacientes com EM e controles para as regiões JP. Enquanto para o tálamo, os valores de SUVR^{CB} apresentam diferença significativa entre os grupos P0 e P1 e entre P1 e C, que pode estar relacionado com a diferença de idade entre os grupos. No estudo longitudinal, o SUVR^{CB} não apresenta diferença significativa entre visitas para nenhum dos grupos e nenhuma das regiões da análise. Conclui-se que assim como o SUVR^{WM} , o parâmetro SUVR^{CB} poderia ser um potencial indicador de evolução da EM.

Com relação às ROIs escolhidas nas análises, as regiões JP, específicas para a EM, por serem regiões onde novas lesões surgem, representam uma escolha interessante para análise de imagens PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195. De fato, os resultados obtidos nesse trabalho indicam que a utilização dessas regiões para obtenção de parâmetros quantitativos pode oferecer indicativos para diagnóstico precoce, estratégia de verificação da progressão da EM e/ou resposta a tratamentos, entre outros.

Conclui-se que, dentre os métodos analisados, o método SUVR^{WM} apresenta resultados promissores e satisfatórios, em especial quando aplicado às regiões JP. Para confirmar a confiabilidade e robustez da combinação do método utilizado e ROI nas imagens de PET/CT com [^{11}C]-(*R*)-PK11195 no estudo da EM, é necessária a ampliação do número de sujeitos, tanto para a investigação de evolução da EM, como para estudos dos efeitos de medicamentos em seu tratamento. A ampliação no número de sujeitos é necessária visto que essa dissertação contou com um número restrito de sujeitos, por ter sido finalizada antes da penúltima visita (V3) de todos os participantes. A análise longitudinal individual dos pacientes com EM e sua associação com a evolução da doença ao longo do tempo podem trazer maior compreensão sobre o comportamento da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 nos processos neuroinflamatórios dessa doença.

Esta dissertação também abre diversas portas para novas investigações e estudos clínicos, como a análise a investigação da confiabilidade dos parâmetros quantitativos em estudos longitudinais da captação de [^{11}C]-(*R*)-PK11195 em doenças neuroinflamatórias.

7 REFERÊNCIAS

- ALESSIO, A. M. et al. Quantitative imaging of coronary blood flow. **Nano Reviews**, v. 1, p. 1–13, 2010.
- ANDERSON, A. N. et al. A systematic comparison of kinetic modelling methods generating parametric maps for [(11)C]-(R)-PK11195. **NeuroImage**, v. 36, n. 1, p. 28–37, 15 maio 2007.
- ASHBURNER, J. et al. **SPM8 Manual**. London, UKUCL, 2012.
- BAILEY, D. L. et al. Nuclear Medicine Physics. A Handbook for Teachers and Students. **Medical Physics**, v. 38, n. 8, p. 766, 2014.
- BANATI, R. B. et al. The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity. **Brain: a journal of neurology**, v. 123, p. 2321–37, nov. 2000.
- BANATI, R. B. Visualising microglial activation in vivo. **Glia**, v. 40, n. 2, p. 206–17, nov. 2002.
- BARTELS, A. L. et al. [11C]-PK11195 PET: Quantification of neuroinflammation and a monitor of anti-inflammatory treatment in Parkinson's disease? **Parkinsonism and Related Disorders**, v. 16, p. 57–59, 2010.
- BECKER, J. et al. **Avaliação da ativação microglial pelo PET/CT e associação com o aparecimento de lesões na Ressonância Magnética em pacientes com Esclerose Múltipla remitente-recorrente submetidos a tratamento com fingolimode**. Porto Alegre, PUCRS, 2013.
- BOELLAARD, R. et al. Performance of a modified supervised cluster algorithm for extracting reference region input functions from (R)-[11C]PK11195 brain PET studies. **IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record**, p. 5400–5402, out. 2008.
- BUSHBERG, J. T. et al. **The essential physics of medical imaging**. Second ed. Philadelphia, PA: [s.n.].
- CAGNIN, A. et al. In vivo visualization of activated glia by [11C] (R)-PK11195-PET following herpes encephalitis reveals projected neuronal damage beyond the primary focal lesion. **Brain**, v. 124, n. Pt 10, p. 2014–2027, 2001.
- CAGNIN, A.; GERHARD, A.; BANATI, R. B. In vivo imaging of neuroinflammation. **European Neuropsychopharmacology**, v. 12, p. 581–586, 2002.
- CASELLAS, P.; GALIEGUE, S.; BASILE, A. S. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function. **Neurochemistry international**, v. 40, p. 475–86, 2002.
- CHAUVEAU, F. et al. Nuclear imaging of neuroinflammation: a comprehensive review of [11C]PK11195 challengers. **Eur J Nucl Med Mol Imaging**, v. 35, n. 12, p. 2304–2319, 2008.
- CHERRY, S. R.; SORENSON, J. A.; PHELPS, M. E. **Physics in Nuclear Medicine**. 4th. ed.

Philadelphia, PA: Elsevier Science & Technology Books, 2012.

COLLIGNON, A. et al. Automated multi-modality image registration based on information theory. **Information processing in medical imaging**, v. 3, n. 6, p. 263–274, 1995.

DE PONTI, E.; MORZENTI, S.; GUERRA, L. Performance measurements for the PET/CT Discovery-600 using NEMA NU 2-2007 standards. **Medical Physics**, v. 38, n. 2011, p. 968–74, 2011.

DEBRUYNE, J. C. et al. Semiquantification of the peripheral-type benzodiazepine ligand [11C]PK11195 in normal human brain and application in multiple sclerosis patients. **Acta neurologica Belgica**, v. 102, n. 3, p. 127–35, 2002.

DEBRUYNE, J. C. et al. Pet visualization of microglia in multiple sclerosis patients using [11C]PK11195. **European Journal of Neurology**, v. 10, n. 3, p. 257–264, 2003.

DENDROU, C. A.; FUGGER, L.; FRIESE, M. A. Immunopathology of multiple sclerosis. **Nature reviews. Immunology**, v. 15, n. 9, p. 545–58, ago. 2015.

DOBLE, A. et al. Labelling of peripheral-type benzodiazepine binding sites in human brain with [3H]PK 11195: Anatomical and subcellular distribution. **Brain Research Bulletin**, v. 18, n. 1, p. 49–61, 1987.

FINKELSZTEJN, A. Esclerose Múltipla. In: CHAVES, M. L. F.; FINKELSZTEJN, A.; STEFANI, M. A. (Eds.). . **Rotinas em Neurologia e Neurocirurgia**. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 861.

GE HEALTHCARE. **Signa HDxt 3.0T**. Disponível em: <http://www3.gehealthcare.com.br/pt-br/products/categories/ressonancia_magnetica/signa_hdxt_3-0t>. Acesso em: 29 jul. 2016.

GE HEALTHCARE. **Discovery 600 Series PET/CT Clinical Imaging**. Disponível em: <http://www3.gehealthcare.com/en/education/product_education_clinical/tip_applications/pet_hq_class/discovery_pet-ct_600_series_clinical_imaging>. Acesso em: 29 jul. 2016.

GERHARD, A. et al. In vivo imaging of microglial activation with [11C](R)-PK11195 PET in idiopathic Parkinson's disease. **Neurobiology of disease**, v. 21, p. 404–12, 2006.

GIANNETTI, P. et al. Microglia activation in multiple sclerosis black holes predicts outcome in progressive patients: An in vivo [(11)C](R)-PK11195-PET pilot study. **Neurobiology of Disease**, v. 65, p. 203–210, 2014.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. **Digital Image Processing**. 3rd. ed. Upper Saddle River, New Jersey: Pearson Education, Inc., 2007.

GROOM, G. N. et al. PET of peripheral benzodiazepine binding sites in the microgliosis of Alzheimer's disease. **J Nucl Med**, v. 36, p. 2207–2210, 1995.

HAJNAL, J. V et al. High signal regions in normal white matter shown by heavily T2-weighted CSF nulled IR sequences. **Journal of computer assisted tomography**, v. 16, p. 506–513, 1992.

HAMMOUD, D. A et al. Imaging glial cell activation with [11C]-R-PK11195 in patients with

AIDS. **Journal of neurovirology**, v. 11, p. 346–355, 2005.

HENDEE, W. R.; RITENOUR, E. R. **Medical imaging physics**. Fourth ed. New York: Wiley-Liss, Inc., 2002.

HINZ, R.; BOELLAARD, R. Challenges of quantification of TSPO in the human brain. **Clinical and Translational Imaging**, v. 3, n. 6, p. 403–416, 2015.

INNIS, R. B. et al. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 27, p. 1533–1539, 2007.

JACOBS, A. H.; TAVITIAN, B. Noninvasive molecular imaging of neuroinflammation. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 32, n. 7, p. 1393–415, 2012.

JENKINSON, M. et al. FSL. **NeuroImage**, v. 62, p. 782–790, 2012.

JIN, X. et al. Evaluation of motion correction methods in human brain PET imaging--a simulation study based on human motion data. **Med Phys**, v. 40, n. 10, p. 102503, 2013.

JUNTU, J. et al. Bias field correction for mri images. **Computer Recognition Systems**, v. 30, p. 543–551, 2005.

KIEBEL, S. J. et al. MRI and PET coregistration--a cross validation of statistical parametric mapping and automated image registration. **NeuroImage**, v. 5, p. 271–279, 1997.

KNOLL, G. F. **Radiation Detection and Measurement**. 4th. ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2010.

KROPHOLLER, M. A. et al. Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[11C]PK11195 brain studies. **Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 25, n. 7, p. 842–51, jul. 2005.

KROPHOLLER, M. A. et al. Evaluation of reference tissue models for the analysis of [11C](R)-PK11195 studies. **Journal of cerebral blood flow and metabolism: official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 26, p. 1431–1441, 2006.

KROPHOLLER, M. A. et al. Evaluation of reference regions for (R)-[(11)C]PK11195 studies in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. **J Cereb Blood Flow Metab**, v. 27, p. 1965–1974, 2007.

KUMAR, A. et al. Evaluation of age-related changes in translocator protein (TSPO) in human brain using (11)C-[R]-PK11195 PET. **J Neuroinflammation**, v. 9, p. 232, 2012.

LAMMERTSMA, A. A.; HUME, S. P. Simplified reference tissue model for PET receptor studies. **NeuroImage**, v. 4, n. 3 Pt 1, p. 153–8, dez. 1996.

LOGAN, J. et al. Graphical analysis of reversible radioligand binding from time-activity measurements applied to [N-11C-methyl]-(-)-cocaine PET studies in human subjects. **Journal**

of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism, v. 10, n. 5, p. 740–7, 1990.

LOGAN, J. et al. Distribution volume ratios without blood sampling from graphical analysis of PET data. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 16, p. 834–840, 1996.

LOPRESTI, B. J. et al. Simplified quantification of Pittsburgh Compound B amyloid imaging PET studies: a comparative analysis. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 46, p. 1959–1972, 2005.

MOURIK, J. E. M. et al. Image-derived input functions for PET brain studies. **European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging**, v. 36, n. 3, p. 463–471, 2009.

NARCISO, L. D. L. et al. **Estudo da Semiquantificação de Imagens PET Cerebrais de [11C]-(R)-PK11195 na Esclerose Múltipla**. XXI Congresso Brasileiro de Física Médica. **Anais**. Florianópolis: 2016.

OIKONEN, V. **Reference region input compartmental models**. Disponível em: <http://www.turkupetcentre.net/petanalysis/model_compartmental_ref.html>. Acesso em: 1 jan. 2016.

POLITIS, M. et al. Increased PK11195 PET binding in the cortex of patients with MS correlates with disability. **Neurology**, v. 79, n. 6, p. 523–30, 7 ago. 2012.

POLMAN, C. H. et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. **Annals of neurology**, v. 69, n. 2, p. 292–302, fev. 2011.

QUARANTELLI, M. et al. Integrated software for the analysis of brain PET/SPECT studies with partial-volume-effect correction. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 45, p. 192–201, 2004.

RASK, T. et al. PVElab: Software for correction of functional images for partial volume errors. **NeuroImage**, v. 22, n. Suppl 1, 2004.

ROBILOTTA, C. C. A tomografia por emissão de pósitrons: uma nova modalidade na medicina nuclear brasileira. **Pan AM J Public Health**, v. 20, n. 2–3, p. 134–142, 2006.

ROUSSET, O. et al. **Partial Volume Correction Strategies in PETPET Clinics**, 2007.

SCHMIDT, P. et al. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis. **NeuroImage**, v. 59, n. 4, p. 3774–83, fev. 2012.

SCHUCK, P. N. et al. **Quantificação da Atividade Inflamatória em Lesões na Esclerose Múltipla usando Imagens PET Cerebrais com [11C]-(R)-PK11195** XXI Congresso Brasileiro de Física Médica. **Anais...** Florianópolis: 2016

SCHUITEMAKER, A. et al. SPM analysis of parametric (R)-[11C]PK11195 binding images: Plasma input versus reference tissue parametric methods. **NeuroImage**, v. 35, p. 1473–1479, 2007a.

SCHUITEMAKER, A. et al. Evaluation of methods for generating parametric (R)-

[11C]PK11195 binding images. **Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, v. 27, n. 9, p. 1603–1615, 2007b.

SCHWEITZER, P. J. et al. PET tracers for the peripheral benzodiazepine receptor and uses thereof. **Drug discovery today**, v. 15, n. 21–22, p. 933–42, nov. 2010.

SU, Z. et al. [11C]-(R)PK11195 tracer kinetics in the brain of glioma patients and a comparison of two referencing approaches. **Eur J Nucl Med Mol Imaging**, v. 40, p. 1406–1419, 2013.

SVARER, C. et al. MR-based automatic delineation of volumes of interest in human brain PET images using probability maps. **NeuroImage**, v. 24, p. 969–979, 2005.

TOMASI, G. et al. Novel reference region model reveals increased microglial and reduced vascular binding of 11C-(R)-PK11195 in patients with Alzheimer's disease. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 49, n. 8, p. 1249–1256, 2008.

TURKHEIMER, F. E. et al. Reference and target region modeling of [11C]-(R)-PK11195 brain studies. **Journal of nuclear medicine**, v. 48, n. 1, p. 158–167, 2007.

TURKHEIMER, F. E. et al. The methodology of TSPO imaging with positron emission tomography. **Biochemical Society Transactions**, v. 43, n. 4, p. 586–592, 2015.

VAS, Á. et al. Functional neuroimaging in multiple sclerosis with radiolabelled glia markers: Preliminary comparative PET studies with [11C]vinpocetine and [11C]PK11195 in patients. **Journal of the Neurological Sciences**, v. 264, p. 9–17, 2008.

VENNETI, S.; LOPRESTI, B. J.; WILEY, C. A. The peripheral benzodiazepine receptor (Translocator protein 18 kDa) in microglia: From pathology to imaging. **Progress in Neurobiology**, v. 80, p. 308–322, 2006.

VERSIJPT, J. et al. Microglial imaging with positron emission tomography and atrophy measurements with magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: a correlative study. **Multiple Sclerosis**, v. 11, n. 2, p. 127–134, 2005.

VOWINCKEL, E. et al. PK11195 binding to the peripheral benzodiazepine receptor as a marker of microglia activation in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. **Journal of neuroscience research**, v. 50, n. 2, p. 345–53, 15 out. 1997.

YAQUB, M. et al. Optimization of supervised cluster analysis for extracting reference tissue input curves in (R)-[(11)C]PK11195 brain PET studies. **Journal of cerebral blood flow and metabolism**, v. 32, n. 8, p. 1600–8, ago. 2012.

YODER, K. K. Basic PET Data Analysis Techniques. In: MISCIAGNA, S. (Ed.). . **Positron Emission Tomography - Recent Developments in Instrumentation, Research and Clinical Oncological Practice**. InTech, 2013. p. 63–80.

APÊNDICE A – Artigo intitulado “estudo da semiquantificação de imagens PET cerebrais de [¹¹C]-(R)-PK11195 na esclerose múltipla” submetido ao XXI Congresso Brasileiro de Física Médica, Florianópolis, 2016

Estudo da Semiquantificação de Imagens PET Cerebrais de [¹¹C]-(R)-PK11195 na Esclerose Múltipla
Semiquantification Study of [¹¹C]-(R)-PK11195 PET Brain Images in Multiple Sclerosis

Lucas D. L. Narciso¹, Phelipi N. Schuck¹, Caroline M. Dartora¹, Cristina S. Matushita², Jefferson Becker², Ana M. Marques da Silva¹

¹Núcleo de Pesquisa em Imagens Médicas/Faculdade de Física/PUCRS, Porto Alegre, Brasil

²Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul (InsCer)/PUCRS, Porto Alegre, Brasil

Resumo

Imagens PET cerebral adquiridas com [¹¹C]-(R)-PK11195 são utilizadas em estudos da ativação microglial, como na esclerose múltipla (EM). O objetivo deste estudo é investigar o comportamento da captação nas regiões justacortical e periventricular de [¹¹C]-(R)-PK11195 em imagens PET reformatadas em diferentes intervalos temporais, através da aplicação de três métodos, buscando o método e intervalo temporal que melhor diferenciam pacientes com EM dos indivíduos saudáveis. Métodos semiquantitativos de SUV (*Standard Uptake Value*) e de normalização da captação para região de referência foram aplicados a imagens PET, de diferentes intervalos temporais, adquiridas de 10 pacientes com EM e 5 indivíduos saudáveis. Identificou-se diferença estatisticamente significativa entre grupos nas regiões justacortical e periventricular dos valores de SUV ($p = 0,01$, 40 a 60 min) e com aplicação de método de normalização para concentração de atividade média na substância branca ($p < 0,01$, 10 a 60 min).

Palavras-chave: [¹¹C]-(R)-PK11195; PET; esclerose múltipla; semiquantificação; SUV.

Abstract

PET brain images with [¹¹C]-(R)-PK11195 are being widely used to visualize microglial activation in vivo in neurodegenerative diseases, such as multiple sclerosis (MS). The aim of this study is to investigate the uptake behavior in justacortical and periventricular regions of [¹¹C]-(R)-PK11195 PET brain images reformatted in different time intervals by applying three methods, seeking method and time interval that significantly differentiate MS patients from healthy controls. Semi-quantitative SUV and uptake relative to a reference region methods were applied to PET images from different time intervals acquired from 10 patients with MS and 5 healthy controls. The results show significant SUV values difference ($p = 0.01$, 40 to 60 min) in justacortical and periventricular regions between groups and using the normalization method in which the uptake is relative to the mean concentration activity in the white matter ($p < 0.01$, 10 to 60 min).

Keywords: [¹¹C]-(R)-PK11195; PET; multiple sclerosis; semi-quantification; SUV.

1. Introdução

Imagens de tomografia por emissão de pósitrons ou PET (do inglês, *Positron Emission Tomography*) e as imagens por ressonância magnética ou MRI (do inglês, *Magnetic Resonance Imaging*) têm sido amplamente utilizadas no imageamento cerebral de doenças neurodegenerativas^{1,2}.

A esclerose múltipla ou MS (do inglês, *Multiple Sclerosis*) é uma doença neurodegenerativa de importante impacto social por afetar adultos jovens, embora seja de baixa prevalência. Atualmente, os critérios do diagnóstico dessa

doença são baseados na revisão de 2010 dos critérios de McDonald³, dentre os quais está a presença de uma ou mais lesões em duas das quatro regiões consideradas características: justacortical, periventricular, infratentorial e medula espinhal.

Ativação microglial ocorre de forma significativa após danos neuronais importantes, como os resultados de processos degenerativos⁴. Quando marcado com ¹¹C o componente PK11195 (1-(2-clorofenil)-N-metil-N-(1-metilpropil)-3-isoquinolina carboxamida) é escolha importante para o imageamento da

ativação microglial *in vivo* com PET, apresentando um indicador de doença inflamatória cerebral ativa com ampla aplicabilidade⁴.

Estudos de quantificação das imagens PET adquiridas com [¹¹C]-(*R*)-PK11195 utilizaram, em sua maioria, a normalização da captação a uma região de referência (como o cerebelo) ou aplicando o modelo simplificado de tecido de referência⁵, obtendo valores de potencial de ligação razoavelmente acurados, mesmo sem ter amostragem de sangue arterial⁶⁻⁹.

Análises mais simples foram propostas com métodos de semiquantificação baseados na normalização da concentração de atividade em uma região de interesse ou ROI (do inglês, *region of interest*) para uma região de referência. Dentre esses métodos, o proposto por Debruyne e colaboradores (2002) considera como referência a média da concentração de atividade do cérebro inteiro no último quadro temporal da aquisição dinâmica¹⁰. Tal escolha resultou em dados acurados em voluntários normais^{10,11}. Outro método similar, proposto por Hammoud e colaboradores (2005), considera como referência a média da concentração de atividade na matéria branca¹², resultando em aumento de ligação específica de [¹¹C]-(*R*)-PK11195 em imagens de pacientes portadores do vírus HIV¹².

Os métodos semiquantitativos de [¹¹C]-(*R*)-PK11195 são aplicados em imagens PET reformatadas a partir de um intervalo temporal da aquisição, usualmente feita em modo lista. Entretanto, não existe consenso na literatura sobre qual intervalo temporal deve ser utilizado na aplicação desses métodos. Diversos intervalos temporais já foram apresentados, tais como:

- 5 a 20 min, por ser o período que apresenta a maior atividade acumulada do radiotraçador e melhor qualidade da imagem, excluindo a fase de perfusão¹³;
- 5 a 30 min, por ser o intervalo no qual o pseudo-equilíbrio é alcançado em áreas de suposta alta densidade de ativação microglial¹⁴;
- 40 a 60 min, por ser o período no qual as curvas de atividade ao longo do tempo, para pacientes e controles, apresentam declínio similar no período de estado estável (40 min após a injeção do radiotraçador)^{10,15};
- Outros estudos utilizam ainda intervalos temporais de 0 a 60 min¹⁶, 10 a 60 min¹² e 30 a 60 min⁹.

As interpretações dos resultados dos métodos semiquantitativos têm sido limitadas à relação entre áreas de captação aumentada

de [¹¹C]-(*R*)-PK11195 com patologias conhecidas e sua distribuição¹⁷.

O objetivo deste estudo é investigar o comportamento da captação nas regiões justacortical e periventricular de [¹¹C]-(*R*)-PK11195 em imagens PET reformatadas em diferentes intervalos temporais, através da aplicação de três métodos, buscando o método e intervalo temporal que melhor diferenciam estatisticamente os pacientes com MS dos indivíduos saudáveis.

2. Materiais e Métodos

Foram adquiridas imagens de PET utilizando [¹¹C]-(*R*)-PK11195 e MR de indivíduos voluntários do projeto "Avaliação da ativação microglial pelo PET/CT e associação com o aparecimento de lesões na Ressonância Magnética em pacientes com Esclerose Múltipla remitente-recorrente submetidos a tratamento com fingolimode", CAAE 23949813.7.0000.5336, aprovado em 06 de junho de 2015 sob parecer 1.094.228.

Para esse estudo piloto, os voluntários foram divididos em dois grupos: cinco do grupo controle [(24 ± 2) anos, mínimo de 20 anos e máximo de 28 anos, e (74 ± 10) kg] e dez diagnosticados com MS do tipo remitente-recorrente [(28 ± 3) anos, mínimo de 18 anos e máximo de 35 anos, e (67 ± 15) kg].

Ambas as aquisições (PET e MRI) aconteceram no mesmo dia. A atividade de [¹¹C]-(*R*)-PK11195 administrada aos voluntários para aquisição das imagens PET foi de (560 ± 100) MBq [(15 ± 3) mCi, mínimo de 390 MBq e máximo de 740 MBq]. O radiotraçador foi produzido pelo laboratório do Centro de Produção de Radiofármacos do Instituto do Cérebro do Rio Grande do Sul da PUCRS.

As aquisições foram realizadas em modo lista em um equipamento de PET/CT da marca *GE Healthcare*, modelo *Discovery 600*, com cristais detectores tipo óxido de germânio bismuto (BGO). As imagens PET foram reconstruídas com 300 mm de campo de visão, utilizando o algoritmo iterativo *VUE Point HD*, frequência de corte do filtro de suavização de 4,0 mm, 32 subconjuntos e duas iterações. A matriz da imagem possui 192x192 pixels, 16-bits por pixel (resolução de 0,640 pixels/mm), tamanho de pixel de 1,56x1,56 mm e 47 cortes axiais de 3,27 mm de espessura cada. A atenuação foi corrigida utilizando a imagem de tomografia computadorizada adquirida anteriormente ao início da aquisição da imagem PET. Demais correções necessárias para quantificação (normalização, decaimento, espalhamento e

detecções aleatórias) também foram aplicadas.

As imagens por MR foram adquiridas em um equipamento de ressonância magnética *GE Healthcare Signa HDxt* de 3,0 T. Foram adquiridas imagens por MR estruturais de alta resolução ponderadas em T1 utilizando sequência BRAVO™ (volume do cérebro, do inglês, *brain volume*), da *GE Healthcare*, com tempo de repetição de 2400 ms; tempo de eco de 16 ms; campo de visão de 220 mm; com voxels isotrópicos de 1 mm. As imagens ponderadas em T1 apresentam matriz de 512x512x196 pixels (240,03x240,03x196,00 mm), 16-bits por pixel, resolução de 2,133 pixels/mm, tamanho de voxel de 0,47x0,47x1,00 mm, e intervalo de quadros de 6,12 ms.

2.1. Reformatação das Imagens PET

Imagens PET foram adquiridas em modo lista e reformatadas a partir da média de alguns dos intervalos temporais descritos na literatura, conforme apresentado anteriormente:

- (A) 0 a 60 min¹⁶ (toda aquisição);
- (B) 5 a 20 min¹³ (15 min, após perfusão);
- (C) 5 a 30 min¹⁴ (25 min, após perfusão);
- (D) 10 a 60 min¹² (últimos 50 min);
- (E) 30 a 60 min⁹ (últimos 30 min); e
- (F) 40 a 60 min^{10,15} (últimos 20 minutos).

Para extração dos dados das regiões justacortical e periventricular foram utilizadas as máscaras das regiões de substância cinzenta ou GM (do inglês, *gray matter*) e substância branca ou WM (do inglês, *white matter*) previamente segmentadas a partir da imagem de MR original. A figura a seguir mostra um exemplo de máscara utilizada na extração dos dados.



Figura 1. Exemplo de máscara utilizada na extração de dados das imagens de PET, onde as regiões justacortical e periventricular (em branco) são as de interesse.

2.2. Pré-processamento

As imagens de PET e por MR foram corrigidas utilizando o programa SPM8 (<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>). As imagens por MR foram segmentadas em GM, WM e fluido cerebrospinal com o SPM8. Todas as imagens por MR foram corrigidas para não

homogeneidade do campo magnético do equipamento¹⁸ com FSL¹⁹.

2.3. Análises Semiquantitativas

Os métodos de normalização para concentração de atividade da ROI (regiões justacortical e periventricular) foram aplicados e seus resultados comparados, sendo eles:

- Debruyne *et al.* (2002): normalização para concentração de atividade no cérebro todo no último quadro temporal da imagem dinâmica¹⁰.
- Hammoud *et al.* (2005): normalização para concentração de atividade na WM¹²

Valores de captação padronizada ou SUV (do inglês, *Standardized Uptake Value*) foram obtidos para todas as imagens PET e os resultados comparados.

A extração dos dados foi realizada utilizando o programa ImageJ (<http://imagej.nih.gov/ij/>).

2.4. Análises Estatísticas

Diferenças entre os grupos (pacientes com MS e controles) foram avaliadas com a aplicação de teste *t* de Student. A normalidade dos dados foi testada com o teste Shapiro-Wilk utilizando o programa SPSS versão 17.0.0 (SPSS, Heverlee, Bélgica). Valores estão expressos em termos de média ± um desvio padrão.

O coeficiente de correlação de postos de Spearman foi utilizado na verificação de correlação de EDSS (Escala Expandida do Estado de Incapacidade de Kurtzke), tempo de doença, número de surtos e idade com os valores resultantes da aplicação dos métodos descritos nesse estudo.

Após análises estatísticas, verificou-se a possível existência de valores atípicos utilizando diagramas de blocos.

3. Resultados

As tabelas a seguir apresentam os valores obtidos de SUV (Tabela 1) e de concentração de atividade normalizada obtidos a partir da aplicação dos métodos de normalização Debruyne *et al.* (2002) (Tabela 2) e Hammoud *et al.* (2005) (Tabela 3).

Os valores de SUV nas regiões justacortical e periventricular (Tabela 1) indicam que o intervalo temporal que melhor diferencia pacientes com MS do grupo controle é o (F), intervalo dos últimos 20 minutos da aquisição ($p = 0,09$). A média do SUV nesse caso foi de $(0,37 \pm 0,11)$ g/mL para o grupo de pacientes com MS e de $(0,29 \pm 0,07)$ g/mL para o grupo controle (aproximadamente 30% menor).

Tabela 1. Valores SUV médios e desvio padrão para os pacientes com MS (P) e grupo controle (C). As últimas linhas da tabela apresentam os valores *t* e *p* dos testes estatísticos.

SUV (g/mL)						
Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
Sujeito	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	0,62 ± 0,19	0,63 ± 0,18	0,59 ± 0,17	0,48 ± 0,14	0,39 ± 0,12	0,37 ± 0,11
Média C	0,49 ± 0,14	0,49 ± 0,17	0,45 ± 0,15	0,37 ± 0,11	0,30 ± 0,08	0,29 ± 0,07
Razão P/C	1,29 ± 0,54	1,30 ± 0,59	1,30 ± 0,58	1,31 ± 0,55	1,30 ± 0,51	1,30 ± 0,49
Valor <i>t</i>	1,584	1,490	1,542	1,689	1,799	1,848
Valor <i>p</i>	0,15	0,18	0,16	0,13	0,10	0,09

Tabela 2. Valores de concentração de atividade normalizada pelo método Debruyne *et al.* (2002), para os pacientes com MS (P) e grupo controle (C). As últimas linhas da tabela apresentam os valores *t* e *p* dos testes estatísticos.

Debruyne <i>et al.</i> (2002) (sem unidade)						
Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
Sujeito	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	1,72 ± 0,21	1,74 ± 0,10	1,61 ± 0,08	1,31 ± 0,04	1,08 ± 0,02	1,02 ± 0,02
Média C	1,68 ± 0,19	1,67 ± 0,29	1,55 ± 0,24	1,26 ± 0,14	1,05 ± 0,06	1,00 ± 0,03
Razão P/C	1,02 ± 0,17	1,04 ± 0,19	1,04 ± 0,17	1,04 ± 0,12	1,03 ± 0,06	1,02 ± 0,04
Valor <i>t</i>	0,368	0,521	0,582	0,814	1,127	1,344
Valor <i>p</i>	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20	> 0,20

Tabela 3. Valores de concentração de atividade normalizada pelo método Hammoud *et al.* (2005), para os pacientes com MS (P) e grupo controle (C). As últimas linhas da tabela apresentam os valores *t* e *p* dos testes estatísticos.

Hammoud <i>et al.</i> (2005) (sem unidade)						
Intervalo Temporal	(A) 0 a 60 min	(B) 5 a 20 min	(C) 5 a 30 min	(D) 10 a 60 min	(E) 30 a 60 min	(F) 40 a 60 min
Sujeito	Toda aquisição	15 min, após perfusão	25 min, após perfusão	Últimos 50 min	Últimos 30 min	Últimos 20 min
Média P	1,11 ± 0,03	1,09 ± 0,04	1,07 ± 0,03	1,03 ± 0,02	0,99 ± 0,02	0,98 ± 0,02
Média C	1,15 ± 0,02	1,13 ± 0,02	1,12 ± 0,02	1,07 ± 0,02	1,03 ± 0,02	1,02 ± 0,03
Razão P/C	0,97 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03	0,96 ± 0,03
Valor <i>t</i>	-2,757	-3,114	-3,421	-3,807	-3,351	-3,005
Valor <i>p</i>	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02	0,03

O método de normalização Debruyne *et al.* (2002) (Tabela 2) nas regiões justacortical e periventricular não resultou em diferenciação estatisticamente significativa entre pacientes e controles, em nenhum dos intervalos temporais ($p > 0,20$).

O método de normalização Hammoud *et al.* (2005) (Tabela 3) nas regiões justacortical e periventricular resulta em diferença estatisticamente significativa entre pacientes com MS e o grupo controle para todos os intervalos temporais. Dos intervalos temporais analisados, os intervalos de (B) a (D) foram os que resultaram em maior significância estatística ($p < 0,01$). O intervalo (D), os últimos 50 minutos da aquisição, foi o que obteve diferenciação mais significativa ($t = -3,807$; $p < 0,01$).

As médias de concentração de atividade normalizada pelo método Hammoud *et al.* (2005) nas regiões justacortical e periventricular da imagem PET (D) foram de $(1,03 \pm 0,02)$ para o grupo de pacientes com

MS e $(1,07 \pm 0,02)$ para o grupo controle (aproximadamente 4% maior).

Após a avaliação inicial com todos os resultados, verificou-se a presença de valores atípicos utilizando diagramas de blocos. A tabela a seguir (Tabela 4) apresenta os valores alterados com a retirada dos valores atípicos.

Tabela 4. Valores do teste *t* e valores *p*, resultados das análises dos métodos SUV e Hammoud *et al.* (2005), com a retirada dos valores atípicos aplicação de diagrama de blocos.

SUV (g/mL)		
Intervalo Temporal	Valor <i>t</i>	Valor <i>p</i>
(D) 10 a 60 min	3,014	0,01
(E) 30 a 60 min	3,032	0,01
(F) 40 a 60 min	2,975	0,01
Hammoud <i>et al.</i> (2005)		
(B) 5 a 20 min	-2,800	0,02
(C) 5 a 30 min	-3,096	0,01
(D) 10 a 60 min	-3,608	< 0,01

Com a retirada dos valores atípicos, os resultados de SUV nas regiões justacortical e

periventricular das imagens PET passam a indicar diferença estatisticamente significativa ($p=0,01$). A média para pacientes com MS passa a ser de $(0,37 \pm 0,11)$ e $(0,26 \pm 0,03)$ para o grupo controle, valores para o intervalo temporal (F). Não houve diferença importante nos resultados do método Hammoud *et al.* (2005) após retirada dos valores atípicos.

Correlação estatisticamente significativa foi encontrada entre idade e os valores de concentração de atividade normalizada pelo método Hammoud *et al.* (2005) para a imagem PET (A) ($p=0,05$). Não foi encontrada nenhuma outra correlação estatisticamente significativa.

4. Discussão

Os resultados das análises dos valores de SUV indicam que as imagens mais próximas ao período de estado estável (após 40 min da injeção do radiotraçador) apresentam maior diferenciação estatisticamente significativa ($p=0,09$), embora o nível de significância desejado ($p=0,05$) não tenha sido alcançado nessa etapa do estudo. Após a retirada dos valores atípicos, entretanto, o nível de significância passou a ser de $p=0,01$.

Observa-se semelhança dos valores de SUV obtidos com valores obtidos no estudo de Kumar e colaboradores (2012)¹³. O mesmo estudo também reporta correlação entre idade e valores de SUV¹³ identificada no presente estudo ($p=0,05$).

Para as ROIs desse estudo, justacortical e periventricular, os resultados da aplicação da metodologia Debruyne *et al.* (2002) não foram satisfatórios e a comparação entre os grupos não atingiu significância estatística ($p > 0,20$) para nenhum dos intervalos temporais, mesmo quando os valores atípicos foram retirados.

Por fim, os resultados da aplicação do método Hammoud *et al.* (2005) indicam que existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos para as regiões justacortical e periventricular das imagens PET de [¹¹C]-(R)-PK11195 para todos os intervalos temporais analisados. Dentre esses, os resultados extraídos da imagem obtida pela média entre 10 e 60 min da aquisição foram os que apresentaram maior diferenciação entre os grupos ($t = -3,807$; $p < 0,01$). Isso indica que o método Hammoud *et al.* (2005) apresenta melhores resultados quando a imagem contém tanto contagens do início quanto do final da aquisição.

5. Conclusões

Conclui-se que o método semiquantitativo proposto por Hammoud e colaboradores (2005) nas regiões justacortical e

periventricular permite a diferenciação estatisticamente significativa entre pacientes com esclerose múltipla e grupo controle. A maior diferença entre os grupos ocorre com a aplicação desse método na imagem PET obtida a partir da média entre 10 e 60 minutos da aquisição em modo lista.

Os valores de SUV das imagens PET entre os pacientes com MS e grupo controle também permite a diferenciação, particularmente quando obtida a partir da média dos últimos 20 minutos da aquisição.

Agradecimentos

Os autores agradecem à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro. Esse estudo acadêmico possui suporte financeiro da Novartis. Os autores não recebem qualquer reembolso ou benefícios financeiros e declaram que não têm interesses competitivos. Novartis não possui papel no projeto, métodos, gestão de dados ou análise ou na decisão de publicar.

Referências

1. Banati RB, Newcombe J, Gunn RN, et al. The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity. *Brain a J Neurol.* 2000;123:2321-2337.
2. Chauveau F, Boutin H, Van Camp N, Dolle F, Tavitian B. Nuclear imaging of neuroinflammation: a comprehensive review of [¹¹C]PK11195 challengers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2008;35(12):2304-2319.
3. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol.* 2011;69(2):292-302.
4. Banati RB. Visualising microglial activation in vivo. *Glia.* 2002;40(2):206-217.
5. Lammertsma AA, Hume SP. Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *Neuroimage.* 1996;4(3 Pt 1):153-158.
6. Kropholler M a, Boellaard R, Schuitemaker A, et al. Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[¹¹C]PK11195 brain studies. *J Cereb blood flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25(7):842-851.
7. Kropholler MA, Boellaard R, Schuitemaker A, Folkersma H, van Berckel BNM, Lammertsma AA. Evaluation of reference tissue models for the analysis of [¹¹C](R)-PK11195 studies. *J Cereb blood flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 2006;26:1431-1441.
8. Schuitemaker A, van Berckel BNM, Kropholler M a, et al. Evaluation of methods for generating parametric (R)-[¹¹C]PK11195 binding images. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27(9):1603-1615.
9. Schuitemaker A, van Berckel BNM, Kropholler M a., et al. SPM analysis of parametric (R)-[¹¹C]PK11195 binding images: Plasma input versus reference tissue parametric methods. *Neuroimage.* 2007;35:1473-1479.
10. Debruyne JC, Van Laere KJ, Versijpt J, et al. Semiquantification of the peripheral-type benzodiazepine ligand [¹¹C]PK11195 in normal human brain and application in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Belg.* 2002;102(3):127-135.
11. Debruyne JC, Versijpt J, Van Laere KJ, et al. Pet visualization of microglia in multiple sclerosis patients using [¹¹C]PK11195. *Eur J Neurol.* 2003;10(3):257-264.

12. Hammoud D a, Endres CJ, Chander AR, et al. Imaging glial cell activation with [¹¹C]-R-PK11195 in patients with AIDS. *J Neurovirol.* 2005;11:346-355.
13. Kumar A, Muzik O, Shandal V, Chugani D, Chakraborty P, Chugani HT. Evaluation of age-related changes in translocator protein (TSPO) in human brain using (11)C-[R]-PK11195 PET. *J Neuroinflammation.* 2012;9:232.
14. Anderson AN, Pavese N, Edison P, et al. A systematic comparison of kinetic modelling methods generating parametric maps for [(11)C]-(R)-PK11195. *Neuroimage.* 2007;36(1):28-37.
15. Versijpt J, Debruyne JC, Laere KJ Van, et al. Microglial imaging with positron emission tomography and atrophy measurements with magnetic resonance imaging in multiple sclerosis: a correlative study. *Mult Scler.* 2005;11(2):127-134.
16. Politis M, Giannetti P, Su P, et al. Increased PK11195 PET binding in the cortex of patients with MS correlates with disability. *Neurology.* 2012;79(6):523-530.
17. Cagnin A, Gerhard A, Banati RB. In vivo imaging of neuroinflammation. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2002;12:581-586.
18. Juntu J, Sijbers J, Dyck D Van, Gielen J. Bias field correction for mri images. *Comput Recognit Syst.* 2005;30:543-551. doi:10.1007/3-540-32390-2_64.
19. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM. FSL. *Neuroimage.* 2012;62:782-790.

Contato:

Lucas Diovani Lopes Narciso
 Av. Ipiranga, 6681, Pr. 96A sala 220,
 Partenon, Porto Alegre, RS. CEP 90619-900.
 E-mail: lucas.narciso@acad.pucrs.br