

# Imagem molecular pré-clínica: desenvolvimento de instrumentação para pesquisa translacional com pequenos animais

Preclinical molecular imaging: development of instrumentation for translational research with small laboratory animals

Jorge Mejia<sup>1</sup>, Ana Claudia Camargo Miranda<sup>1</sup>, Ana Claudia Ranucci Durante<sup>1</sup>, Larissa Rolim de Oliveira<sup>1</sup>, Marycel Rosa Felisa Figols de Barboza<sup>1</sup>, Katerin Taboada Rosell<sup>1</sup>, Daniele Pereira Jardim<sup>1</sup>, Alexandre Holthausen Campos<sup>1</sup>, Marilia Alves dos Reis<sup>2</sup>, Marcela Forli Catanoso<sup>1</sup>, Orfa Yineth Galvis-Alonso<sup>3</sup>, Francisco Romero Cabral<sup>1</sup>

## RESUMO

**Objetivo:** Apresentar o resultado da adaptação de uma gama câmara clínica para uso dedicado na obtenção de imagens tomográficas *in vivo* de órgãos de pequenos animais de experimentação, e de sua aplicação na obtenção de imagens cardíacas, renais e neurológicas.

**Métodos:** Foi construída uma versão atualizada do dispositivo de adaptação miniSPECT, composto por três subsistemas: mecânico, eletrônico e de *software*. O dispositivo foi montado em uma câmara Discovery VH da General Electric Healthcare, retirada do serviço clínico e instalada no Centro de Imagem Pré-Clínica do Hospital Israelita Albert Einstein. O sistema combinado foi caracterizado, determinando parâmetros de funcionamento como resolução espacial, magnificação, limites de tamanho dos alvos de estudo, número de projeções, tempo de registro e tempo de reconstrução das imagens tomográficas.

**Resultados:** Foram obtidas imagens com resolução espacial de até 0,5mm, com tempos de registro e reconstrução de 30 a 45 minutos, utilizando reconstrução iterativa com 10 a 20 iterações e 4 subconjuntos de projeções. O sistema foi validado obtendo imagens tomográficas *in vivo* do coração, dos rins e do cérebro de animais normais (camundongos e ratos adultos), utilizando os radiofármacos hexakis-2-metoxi-isobutil-isonitrila marcado com <sup>99m</sup>Tc (Sestamibi-<sup>99m</sup>Tc), ácido dimercaptosuccínico marcado com <sup>99m</sup>Tc (DMSA-<sup>99m</sup>Tc) e hexametil-propileno-amina-oxima marcada com <sup>99m</sup>Tc (HMPAO-<sup>99m</sup>Tc).

**Conclusão:** Este tipo de aplicação, que consiste na adaptação para um objetivo alternativo de instrumentação já existente, constituiu-se em uma opção de infraestrutura de baixo custo, que permite realizar estudos *in vivo* em larga escala, com qualidade aprimorada, em áreas diversas, como neurologia, nefrologia, cardiologia, entre outras.

**Descritores:** Modelos animais; Tomografia computadorizada de emissão de fóton único; Funções verossimilhança

## ABSTRACT

**Objective:** To present the result of upgrading a clinical gamma-camera to be used to obtain *in vivo* tomographic images of small animal organs, and its application to register cardiac, renal and neurological images. **Methods:** An updated version of the miniSPECT upgrading device was built, which is composed of mechanical, electronic and software subsystems. The device was attached to a Discovery VH (General Electric Healthcare) gamma-camera, which was retired from the clinical service and installed at the *Centro de Imagem Pré-Clínica* of the *Hospital Israelita Albert Einstein*. The combined system was characterized, determining operational parameters, such as spatial resolution, magnification, maximum acceptable target size, number of projections, and acquisition and reconstruction times.

**Results:** Images were obtained with 0.5mm spatial resolution, with acquisition and reconstruction times between 30 and 45 minutes, using iterative reconstruction with 10 to 20 iterations and 4 projection subsets. The system was validated acquiring *in vivo* tomographic images of the heart, kidneys and brain of normal animals (mice and adult rats), using the radiopharmaceuticals technetium-labeled hexakis-2-methoxy-isobutyl isonitrile (<sup>99m</sup>Tc-Sestamibi), technetium-labeled dimercaptosuccinic acid (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) and technetium-labeled hexamethyl propyleneamine oxime (<sup>99m</sup>Tc-HMPAO). **Conclusion:** This kind of application, which consists in the adaptation for an alternative objective of already existing instrumentation, resulted in a low-cost

<sup>1</sup> Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brasil.

Autor correspondente: Jorge Mejia – Avenida Albert Einstein, 627/701 – Morumbi – CEP: 05652-900 – São Paulo, SP Brasil – Tel.: (11) 2151-6823 – E-mail: jorge.cabeza@einstein.br

Data de submissão: 29/3/2016 – Data de aceite: 27/6/2016

Conflitos de interesse: não há.

DOI: 10.1590/S1679-45082016AO3696

infrastructure option, allowing to carry out large scale *in vivo* studies with enhanced quality in several areas, such as neurology, nephrology, cardiology, among others.

**Keywords:** Models, animal; Tomography, emission-computed, single-photon, Likelihood functions

## INTRODUÇÃO

A Imagem Molecular é uma área da Medicina que compreende um conjunto de técnicas de obtenção de imagens que permitem visualizar, caracterizar e quantificar, de forma não invasiva, processos e fenômenos biológicos que acontecem a níveis celular e molecular, no interior dos organismos vivos.<sup>(1)</sup> Essas imagens podem ser planas ou volumétricas, estáticas ou dinâmicas, e usar diferentes faixas de energia. Nesse conjunto de técnicas, podemos incluir a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (SPECT, sigla do inglês *single photon emission computed tomography*), a tomografia por emissão de pósitrons (PET, do inglês *positron emission tomography*), a imagem por ressonância magnética, a tomografia computadorizada, o ultrassom, a imagem por fluorescência e a bioluminescência.<sup>(2)</sup> Estas ferramentas são consideradas de uso padrão no ambiente clínico,<sup>(3)</sup> com exceção da fluorescência e da bioluminescência, que usam radiação infravermelha ou visível, e foram desenvolvidas no ambiente pré-clínico.<sup>(4)</sup>

Recentemente, tem sido feito um grande esforço para transferir as técnicas de SPECT e PET para o ambiente pré-clínico,<sup>(5-10)</sup> em que ratos e camundongos são os animais mais usados para estudar e tratar modelos de doenças humanas. Especificamente, SPECT é uma técnica de obtenção de imagens em que um fármaco ligado a um elemento emissor de raios gama, com afinidade por um órgão ou processo de interesse, é injetado no paciente. Imagens do alvo, chamadas projeções, são feitas de diferentes ângulos de visão. Usando ferramentas computacionais apropriadas, as projeções são combinadas para gerar uma imagem tomográfica do alvo. Diferentemente das técnicas invasivas para a avaliação dos efeitos dos protocolos experimentais, em que a eutanásia e a dissecação do órgão ou tecido de interesse são normalmente utilizadas, as técnicas de imagem molecular permitem visualizar a evolução do sujeito de estudo com mínima interferência. Assim, o animal pode ser usado como seu próprio controle e avaliado repetidamente em diferentes momentos ao longo do experimento, o que reduz o efeito das diferenças entre animais, melhorando a qualidade estatística dos dados coletados. Adicionalmente, por não ser necessário um grupo experimental para cada momento de avaliação,

há uma redução significativa nos custos de execução e está em acordo com as considerações éticas referentes ao uso de animais de experimentação.<sup>(11)</sup>

No entanto, considerando o tamanho desses animais, fazer imagens nesse ambiente esbarra em dificuldades associadas à resolução espacial e à sensibilidade. Para resolver esse desafio, diferentes grupos de pesquisa trabalham no desenvolvimento de estratégias para adaptar aparelhos já existentes e de uso clínico,<sup>(10,12,13)</sup> ou na construção de equipamentos específicos para animais de experimentação,<sup>(14-17)</sup> cada um favorecendo, à sua maneira, outros aspectos, como custos, reuso de equipamentos no tempo livre ou desativados, e disponibilidade dos equipamentos. De qualquer forma, desenvolver a instrumentação necessária para gerar essas imagens permite entender os parâmetros envolvidos e controlar as fontes de erro associadas, de forma a ter resultados apropriados, com investimento adequado à pergunta formulada.

Trabalhando nesta linha de pensamento, o Hospital Israelita Albert Einstein transferiu uma gama câmara SPECT do serviço clínico para o Centro de Imagem Pré-Clínica, localizado no Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia (CETEC), onde foi instalada e adaptada para a obtenção de imagens de pequenos animais. O dispositivo de adaptação corresponde a uma atualização do dispositivo miniSPECT, desenvolvido anteriormente, e ajustado à câmara específica.<sup>(13)</sup>

## OBJETIVO

Apresentar o resultado da adaptação de uma gama câmara clínica para uso dedicado na obtenção de imagens tomográficas *in vivo* de órgãos de pequenos animais de experimentação, e de sua aplicação na obtenção de imagens cardíacas, renais e neurológicas

## MÉTODOS

### Descrição do equipamento adaptado

Utilizamos uma gama câmara SPECT retirada do serviço clínico, modelo Discovery VH (General Electric Healthcare, Milwaukee, WI, EUA). Esta câmara tem dois detectores de NaI(Tl), com área útil de 540mm×400mm e 9,5mm de espessura, resolução espacial intrínseca de 3,9mm e resolução em energia de 10% a 140keV. Da forma como foi instalada, o *software* proprietário permite fazer registros em modos estático, dinâmico ou SPECT. No modo estático, imagens individuais são registradas, com tempo de integração determinado pelo usuário. No modo dinâmico, o sistema registra uma sequência de imagens com tempo de integração previa-

mente selecionado, sem movimentação dos detectores. No modo SPECT, os detectores se movimentam, permitindo registrar um conjunto de imagens de diferentes ângulos em torno do alvo. As imagens podem ser registradas em matrizes de até  $1.024 \times 1.024$  pixels e é possível sincronizar o registro das imagens com o eletrocardiograma (ECG). Neste trabalho, a câmara foi usada em modo dinâmico, e o animal foi girado para cada registro de uma imagem.

O dispositivo de adaptação, ao qual denominamos miniSPECT, consiste em três subsistemas: mecânico, eletrônico e de *software*.<sup>(13)</sup> O subsistema mecânico inclui um conjunto de tubos plásticos transparentes à radiação gama para posicionamento de alvos de diferentes tamanhos, os quais são girados por um motor de passos. Há, ainda, colimadores de orifício feitos em peças de chumbo, que projetam a imagem sobre o detector. Foram testados colimadores que consistem em inserts de tungstênio de pequenas dimensões, montados sobre uma peça de chumbo, ou em um orifício perfurado diretamente na peça de chumbo. Os colimadores têm formato de duplo cone, cujos vértices coincidem no centro da peça de que o colimador é feito. Os colimadores são montados sobre uma placa base de alumínio recoberta com chumbo, que serve como blindagem, para evitar a incidência de radiação indesejada no detector. Nesta placa, são fixados os tubos porta-alvo e o sistema de rotação do alvo. Finalmente, a placa base está montada sobre um carro, que permite que o dispositivo seja posicionado na frente do detector, independentemente da câmara utilizada. O dispositivo desenvolvido pode ser visto na figura 1.



**Figura 1.** Imagem da gama câmara Discovery VH e o dispositivo de adaptação miniSPECT

O subsistema eletrônico consiste em um dispositivo microcontrolado, que gira o tubo porta-alvo na frente do colimador, em sincronia com o registro de imagens pela câmara. Esse subsistema permite selecionar o número de projeções e o tempo por projeção, dentre um conjunto de opções pré-programadas, e controla os estados de ligado ou *stand-by*. Finalmente, o subsistema de *software* consiste em uma ferramenta iterativa de reconstrução tridimensional, que combina as projeções registradas com um modelo físico do instrumento utilizando o algoritmo de máxima verossimilhança,<sup>(18)</sup> para gerar a imagem do alvo que melhor corresponde às imagens registradas. Essa ferramenta foi desenvolvida em linguagem C (Microsoft Visual Studio C/C+). A visualização e a análise das imagens finais foram feitas com ferramentas de *software* livre, como ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>) e Amide's (<http://amide.sourceforge.net>). Alternativamente, é possível usar a técnica de *Ordered Subset Expectation Maximization* (OSEM). Com esta técnica, subconjuntos das projeções foram utilizados para fazer reconstruções intermediárias, que serviram como modelo de entrada para a iteração seguinte. Dessa forma, foi possível reduzir significativamente o tempo de processamento, acelerando o processo de reconstrução da imagem.<sup>(19)</sup>

### Determinação da resolução espacial do sistema: fantomas

Em instrumentos de tomografia SPECT que utilizam colimador de orifício, a resolução espacial depende destes fatores: resolução intrínseca do detector, relação de magnificação, diâmetro do orifício, material do colimador e energia de emissão do radionuclídeo. O primeiro fator determina o tamanho com que a gama câmara registra a imagem de uma pequena fonte projetada diretamente sobre o detector, depende do modelo da câmara e, neste projeto, é invariável. A relação de magnificação é dada pela razão entre as distâncias colimador-detector e colimador-alvo. Quanto menor a distância colimador-alvo ou maior a distância colimador-detector, maior a magnificação da imagem, aumentando a separação entre as imagens geradas por dois pontos vizinhos no alvo. A magnificação está limitada pelo tamanho do alvo a estudar e pela área útil do detector, sendo necessário que, durante a rotação do alvo, este seja sempre projetado em sua totalidade sobre a área útil do detector. Finalmente, o diâmetro do orifício afeta o tamanho da projeção de uma pequena fonte, de forma que, quanto menor o orifício, menor a área ocupada pela projeção dessa fonte, melhorando a capacidade de separação das imagens de dois pontos próximos no alvo. Adicional-

mente, a resolução espacial depende do material do colimador e da energia do radionuclídeo utilizado, devido à penetração de fótons pelas bordas do orifício do colimador, de forma que, para energias maiores ou materiais menos densos, o orifício é efetivamente maior do que o diâmetro físico.<sup>(20)</sup> Neste trabalho, limitamo-nos à energia de 140keV, correspondente à emissão pelo  $^{99m}\text{Tc}$ , e testamos colimadores de chumbo e tungstênio.

Para determinar a resolução espacial do instrumento, utilizamos dois fantasmas diferentes: (a) um fantoma de barras quentes ou de Jaszczak e (b) um conjunto de capilares paralelos. O primeiro fantoma consiste em uma peça de acrílico com quatro conjuntos de orifícios de 0,5, 1,0, 1,5 e 2,0mm de diâmetro, com uma distância entre as bordas dos orifícios igual ao diâmetro dos orifícios do conjunto. Esta peça foi colocada em um tubo plástico preenchido com pertecnetato de sódio ( $\text{Na-}^{99m}\text{TcO}_4^-$ ), selado para evitar vazamentos. O segundo fantoma consiste em um conjunto de seis capilares paralelos montados em formato triangular, preenchidos com  $\text{Na-}^{99m}\text{TcO}_4^-$ . A distância entre as bordas dos espaços preenchidos de capilares contíguos foi de 0,5mm. Os dois fantasmas foram preenchidos com uma concentração de 1mCi/mL. Cada fantoma foi posicionado no dispositivo de imageamento e foram feitos dois conjuntos de imagens: um com o fantoma de Jaszczak, com um fator de magnificação de 7x e orifício de 1,5mm de chumbo, e outro com o fantoma de capilares, com um fator magnificação de 9x e orifício de 0,5mm de tungstênio. Nos dois casos, foram registradas 40 projeções de 60 segundos cada uma. As projeções foram processadas para gerar a imagem tridimensional da distribuição do  $\text{Na-}^{99m}\text{TcO}_4^-$  no fantoma usando a ferramenta de *software* iterativo, com 20 iterações, 4 subconjuntos de projeções e suavizado com uma função gaussiana de 1,5 *pixel* de largura a meia altura a cada duas iterações.

## Imagens de órgãos de animais normais

### Animais

Foram utilizados dois camundongos *Swiss* machos, normais, com peso aproximado de 30g e um rato *Wistar* macho, normal, com peso de 350g. Os animais foram mantidos no biotério de experimentação do CETEC, com ciclo claro-escuro de 12 horas, temperatura ambiente controlada em  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  e sem restrição de água ou alimento. Para o registro das imagens, os radiofármacos foram administrados por via intravenosa na veia caudal. Na sequência, os animais foram anestesiados com a associação cetamina:xilazina (75:10mg/kg), respeitando o tempo entre injeção e início dos registros. Após a aquisição das imagens, os animais foram man-

tidos em sala blindada do biotério por 48 horas, até o decaimento total do radionuclídeo. Posteriormente, foram transferidos para o biotério de experimentação convencional. Todos os procedimentos foram realizados conforme a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA), e foram aprovados pela Comissão de Ética para Uso de Animais em Experimentação do Hospital Israelita Albert Einstein, protocolo 2.359/15.

### Rins – DMSA- $^{99m}\text{Tc}$

O ácido dimercaptosuccínico marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  (DMSA- $^{99m}\text{Tc}$ ) é utilizado em medicina nuclear para estudar a função renal e visualizar anormalidades no parênquima, aproveitando-se do fato de ele ser removido do plasma pelas células tubulares proximais renais e se acumular no córtex, com baixa eliminação na urina.<sup>(21,22)</sup> Este radiofármaco apresenta alta ligação às proteínas plasmáticas e é excretado por filtração glomerular e secreção tubular. Foram administrados 130MBq de DMSA- $^{99m}\text{Tc}$  em um camundongo acordado. O animal foi anestesiado 2 horas após a injeção e posicionado horizontalmente no tubo porta-alvo. Foram registradas 40 projeções de 30 segundos cada uma, usando um colimador de 1,5mm de diâmetro e uma magnificação de 7x. As projeções foram processadas para produzir a imagem tomográfica do órgão-alvo, utilizando-se dez iterações e quatro subconjuntos de projeções.

### Coração – Sestamibi- $^{99m}\text{Tc}$

O hexaquis-2-metoxi-isobutil-isonitrila marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  (Sestamibi- $^{99m}\text{Tc}$ ) é um radiofármaco usado para estudar a perfusão miocárdica, que se acumula nos miócitos proporcionalmente ao fluxo sanguíneo.<sup>(23)</sup> Este radiofármaco apresenta baixa ligação às proteínas plasmáticas, com rápido clareamento sanguíneo, e é excretado pelo sistema renal, hepatobiliar e intestinos. Foram administrados 186MBq de Sestamibi- $^{99m}\text{Tc}$  em um camundongo acordado. O animal foi anestesiado 2 horas após a injeção e posicionado verticalmente no tubo porta-alvo. Foram registradas 40 projeções de 30 segundos cada uma, usando um colimador de 1,5mm de diâmetro e uma magnificação de 9x. Para produzir a imagem tomográfica do órgão alvo, foram utilizadas dez iterações e quatro subconjuntos de projeções.

### Cérebro – HMPAO- $^{99m}\text{Tc}$

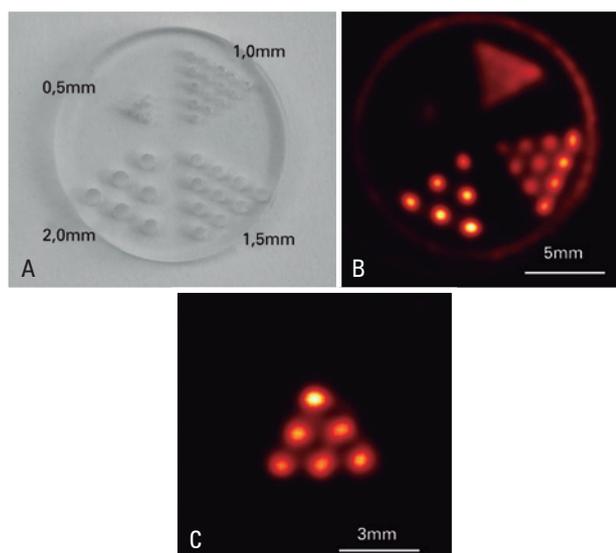
O hexametil-propileno-amina-oxima marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  (HMPAO- $^{99m}\text{Tc}$ ) e o dicloridrato de etileno cisteína dietil ester marcado com  $^{99m}\text{Tc}$  (ECD- $^{99m}\text{Tc}$ ) são radiofármacos usados na prática clínica para estudos de perfusão cerebral. Trata-se de agentes lipofílicos, o

que garante sua passagem pela barreira hematoencefálica, que se acumulam no meio intracelular proporcionalmente ao fluxo sanguíneo.<sup>(23)</sup> Diferentemente do HMPAO-<sup>99m</sup>Tc, o ECD-<sup>99m</sup>Tc não é retido no cérebro de ratos ou coelhos,<sup>(24,25)</sup> o que justifica nossa escolha pelo HMPAO-<sup>99m</sup>Tc neste experimento. A excreção deste ocorre pelo sistema hepatobiliar e renal. Assim, foram administrados 370MBq de HMPAO-<sup>99m</sup>Tc em um rato anestesiado. Imediatamente depois, o animal foi posicionado verticalmente no tubo porta-alvo. Foram registradas 40 projeções de 30 segundos cada uma, usando um colimador de 1,5mm de diâmetro e uma magnificação de 5,5x. A imagem tomográfica do órgão alvo foi produzida utilizando-se 20 iterações e 4 subconjuntos de projeções.

## RESULTADOS

### Resolução espacial

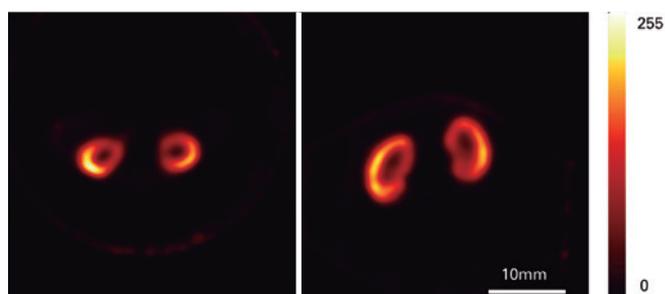
Na figura 2, podem ser vistos uma foto do fantoma de Jaszczak e cortes transaxiais através das imagens da distribuição do Na-<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup> nos dois fantasmas utilizados. No primeiro caso, que corresponde a uma configuração para estudo de alvos do tamanho de ratos jovens, foi possível verificar que uma resolução espacial entre 1,0 e 1,5mm foi atingida. No segundo caso, que corresponde a uma configuração para estudo de alvos do tamanho de camundongos, os capilares contíguos foram identificados individualmente, correspondendo a uma resolução espacial melhor que 0,5mm.



**Figura 2.** Resolução espacial. (A) Imagem do fantoma de Jaszczak indicando os tamanhos dos orifícios e o espaçamento entre eles. (B) Corte transaxial da imagem da distribuição do radiotraçador no fantoma de Jaszczak, em que as barras de 1,5mm podem ser facilmente identificadas. (C) Corte transaxial da imagem da distribuição do radiotraçador no fantoma de capilares, em que os capilares contíguos são identificados individualmente

### Imagem renal

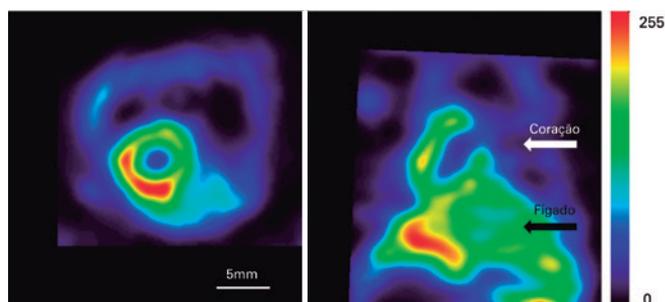
Na figura 3, ilustramos o resultado da obtenção de imagens renais de um camundongo normal. À esquerda, observa-se um corte transversal da imagem tomográfica dos rins e à direita, um corte horizontal da mesma imagem. Pode verificar-se que os rins têm dimensões de 3,5mm de diâmetro e 6,5mm de altura. Igualmente, a integridade do parênquima renal pode ser verificada.



**Figura 3.** Imagem renal com DMSA-<sup>99m</sup>Tc. Cortes transversal e horizontal através do modelo reconstruído da distribuição do radiofármaco DMSA-<sup>99m</sup>Tc nos rins de um camundongo normal

### Imagem cardíaca

Na figura 4, é ilustrado o resultado da obtenção de imagens cardíacas de camundongo. À esquerda, observa-se um corte transversal da imagem tomográfica e à direita, um corte horizontal da mesma imagem. Devido à proximidade anatômica do coração e do fígado, associada à excreção hepática do Sestamibi, a atividade hepática se sobrepõe à da parede inferior do ventrículo esquerdo, ainda que o animal seja mantido na posição vertical.

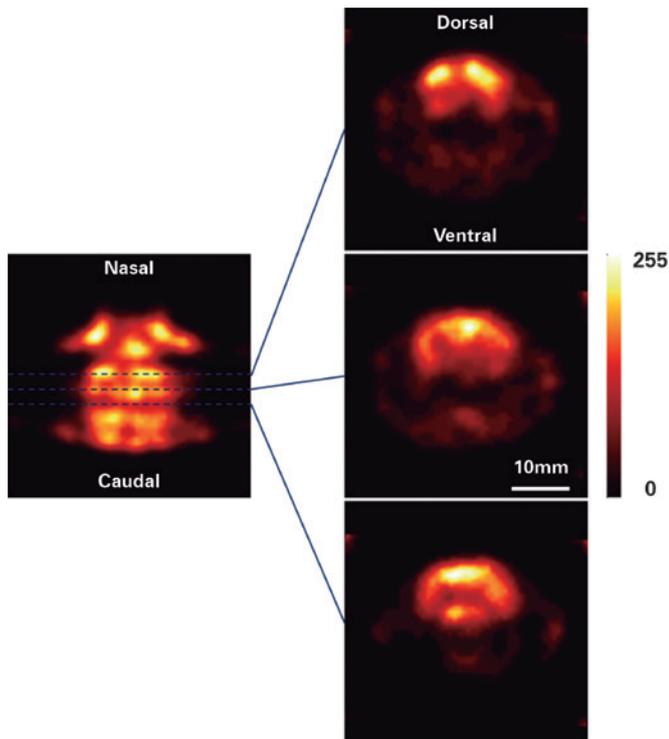


**Figura 4.** Imagem cardíaca com Sestamibi-<sup>99m</sup>Tc. Cortes transversal e horizontal através do modelo reconstruído da distribuição do radiofármaco Sestamibi-<sup>99m</sup>Tc no coração de um camundongo normal

### Imagem de perfusão cerebral

Na figura 5, ilustra-se o resultado de uma imagem de perfusão cerebral de um rato jovem. À esquerda, um corte horizontal através da imagem tomográfica e à

direita, três cortes transversais da mesma imagem em diferentes alturas.



**Figura 5.** Imagem de perfusão cerebral com HMPAO-<sup>99m</sup>Tc. Corte horizontal e três cortes coronais através do modelo reconstruído da distribuição do radiofármaco HMPAO-<sup>99m</sup>Tc no cérebro de um rato normal

## DISCUSSÃO

Recentemente, a necessidade de aplicar técnicas de imagem molecular no ambiente pré-clínico tem recebido amplo reconhecimento. A maior parte dessas técnicas foi desenvolvida para uso clínico, em que os órgãos e estruturas de interesse têm dimensões de vários centímetros. Já no ambiente pré-clínico, em que os experimentos são realizados em pequenos animais, as estruturas alvo apresentam tamanhos de alguns milímetros ou menores. Com isso, as técnicas de imagem molecular a serem usadas enfrentam importantes desafios associados com resolução espacial e sensibilidade.

Para superar esses desafios, dois enfoques têm sido seguidos: adaptar instrumentos clínicos ou desenvolver aparelhos específicos para pequenos animais. No primeiro enfoque, aparelhos desenvolvidos para avaliar órgãos humanos, e cuja tecnologia é relativamente bem dominada, são modificados mediante a instalação de dispositivos eletromecânicos, para se aproximarem dos requisitos de resolução espacial e sensibilidade necessários à nova aplicação.<sup>(12,13,26-28)</sup> Este enfoque tem a vanta-

gem de que os custos são significativamente reduzidos, uma vez que o aparelho de detecção já está instalado e é usado no tempo ocioso, ou trata-se de um aparelho mais antigo e desativado do serviço clínico, embora ainda totalmente funcional. No segundo caso, detectores, colimadores e ferramentas de produção de imagens são desenvolvidos e construídos visando ao uso específico no ambiente pré-clínico, tendo como alvos desde camundongos até ratos adultos.<sup>(15,16,29,30)</sup>

Seja qual for a alternativa escolhida, o uso de técnicas de imagem molecular permite avaliar a evolução do protocolo experimental em estágios intermediários, mantendo o animal vivo, o que leva a uma importante redução do número de grupos experimentais e, com isso, dos custos e do tempo de execução, e a uma melhor qualidade dos resultados.

Nesta aplicação, testamos o uso de uma versão atualizada do dispositivo de adaptação miniSPECT<sup>(13)</sup> em uma gama câmara clínica Discovery VH da General Electric Healthcare, e verificamos que é possível obter resolução espacial melhor que 0,5mm, utilizando colimador de orifício simples de 0,5mm de diâmetro e uma magnificação de 9x, o que corresponde a uma configuração apropriada para imagens de órgãos de camundongos. Já em uma configuração apropriada para órgãos de ratos, atingimos uma resolução espacial melhor que 1,5mm. Imagens de diferentes órgãos de camundongos e ratos foram obtidas, em todos os casos, com um tempo de registro menor que 30 minutos. As projeções registradas foram processadas e a imagem tridimensional de distribuição do radiofármaco foi produzida utilizando uma ferramenta computacional baseada no algoritmo de máxima verossimilhança. Essa ferramenta foi adaptada para as condições específicas desta aplicação, a partir de uma versão anterior implementada em Linguagem C, utilizando a versão gratuita do compilador Visual Studio C++.<sup>(13)</sup> Foram feitas imagens de perfusão miocárdica, funcionalidade renal e perfusão cerebral em animais normais, mostrando a aplicabilidade da técnica nestas áreas. Considerando que a solução apresentada se baseia no uso de um equipamento retirado de um serviço de medicina nuclear, que os subsistemas mecânico e eletrônico usam componentes de fácil aquisição no mercado local, e que o subsistema de *software* foi desenvolvido no nosso laboratório, o custo de implementação do equipamento combinado é significativamente reduzido, em comparação com equipamentos comerciais específicos para animais de experimentação.

Futuramente, deve ser construído um segundo dispositivo, que permita utilizar os dois detectores simultaneamente, com o que teremos uma redução no tempo de registro ou na atividade do radiofármaco adminis-

trada ao animal. Trabalharemos no uso de colimadores de orifícios múltiplos, o que deve permitir fazer um uso mais eficiente da área útil dos detectores e reduzir o tempo de registro. Finalmente, incluiremos uma ferramenta para registros sincronizados com o ECG, o que deve permitir melhorar a qualidade das imagens e fazer estudos específicos na área de cardiologia.

## CONCLUSÃO

Foi possível desenvolver instrumentação de baixo custo aproveitando o reuso de um equipamento retirado de sua função original, atingindo resultados com qualidade comparável à de equipamentos comerciais específicos para essa aplicação. Adicionalmente, considerando que o aparelho está instalado no Centro de Imagem Pré-Clinica, no Centro de Experimentação e Treinamento em Cirurgia, deve ser possível realizar este tipo de experimentos de forma contínua, tornando-se uma ferramenta permanentemente disponível para pesquisas em diferentes áreas. Finalmente, ainda há espaço para melhorias no equipamento, que permitirão realizar estudos aprimorados em áreas específicas.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) pelo fornecimento de geradores de  $^{99}\text{Mo}$ - $^{99\text{m}}\text{Tc}$  e à empresa MJM Produtos Farmacêuticos e de Radioproteção Ltda. do Grupo RPH (Radiopharmacus), pela doação do reagente liofilizado *hexamethyl propylene amine oxime* (HMPAO).

## REFERÊNCIAS

- Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev.* 2003;17(5):545-80. Review.
- Bonekamp D, Hammoud DA, Pomper MG. Molecular imaging: techniques and current clinical applications. *Appl Radiol.* 2010;39:10-21.
- Weissleder R, Ross BD, Rehemtulla A, Gambhir SS, editores. *Molecular imaging: principles and practice.* Shelton: People's Medical Publishing House - USA; 2010.
- Ntziachristos V. Fluorescence Molecular Imaging. *Annu Rev Biomed Eng.* 2006; 8:1-33. Review.
- Del Guerra A, Belcari N. State-of-the-art of PET, SPECT and CT for small animal imaging. *Nucl Instrum Methods Phys Res A.* 2007;583(1):119-24.
- Meija J, Galvis-Alonso OY, Braga J, Corrêa R, Leite JP, Simões MV. Methodological approaches to planar and volumetric scintigraphic imaging of small volume targets with high spatial resolution and sensitivity. *Braz J Med Biol Res.* 2009;42(8):692-9. Review.
- de Kemp RA, Epstein FH, Catana C, Tsui BM, Ritman EL. Small-animal molecular imaging methods. *J Nucl Med.* 2010; 51 Suppl 1:18S-32S.
- Pysz MA, Gambhir SS, Willmann JK. Molecular imaging: current status and emerging strategies. *Clin Radiol.* 2010;65(7):500-16. Review.
- Khalil MM, Tremoleda JL, Bayomy TB, Gsell W. Molecular SPECT imaging: an overview. *Int J Mol Imaging.* 2011;2011:796025
- Aguiar P, Silva-Rodríguez J, González-Castaño DM, Pino F, Sánchez M, Herranz M, et al. A portable device for small animal SPECT imaging in clinical gamma-cameras. *J Instrum.* 2014;9(7):P07004.
- Brasil. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA [Internet]. Brasília (DF): Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação; 2013 [citado 2016 Jul 14]. Disponível em: [http://www.cobea.org.br/arquivo/download?ID\\_ARQUIVO=20](http://www.cobea.org.br/arquivo/download?ID_ARQUIVO=20)
- Difilippo FP. Design and performance of a multi-pinhole collimation device for small animal imaging with clinical SPECT and SPECT-CT scanners. *Phys Med Biol.* 2008;53(15):4185-201.
- Meija J, Galvis-Alonso OY, Castro AA, Braga J, Leite JP, Simões MV. A clinical gamma camera-based pinhole collimated system for high resolution small animal SPECT imaging. *Braz J Med Biol Res.* 2010;43(12):1160-6.
- Miller BW, Furenlid LR, Moore SK, Barber HB, Nagarkar VV, Barrett HH. System integration of FastSPECT III, a dedicated SPECT rodent-brain imager based on BazookaSPECT detector technology. *IEEE Nucl Sci Symp Conf Rec.* 2009:4004-4008. [Presented at IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference; 2009 Oct 25-31; Orlando, Florida, USA].
- van der Have F, Vastenhouw B, Ramakers RM, Branderhorst W, Krah JO, Ji C, et al. U-SPECT-II: An ultra-high-resolution device for molecular small-animal imaging. *J Nucl Med.* 2009;50(4):599-605.
- Boisson F, Zahra D, Parmar A, Gregoire MC, Meikle SR, Hamse H, et al. Imaging capabilities of the Inveon SPECT system using single-and multipinhole collimators. *J Nucl Med.* 2013;54(10):1833-40.
- Sánchez F, Orero A, Soriano A, Correcher C, Conde P, González A, et al. ALBIRA: a small animal PET/SPECT/CT imaging system. *Med Phys.* 2013;40(5):051906.
- Shepp LA, Vardi Y. Maximum likelihood reconstruction for emission tomography. *IEEE Trans Med Imaging.* 1982;1(2):113-22.
- Hudson HM, Larkin RS. Accelerated image reconstruction using ordered subsets of projection data. *IEEE Trans Med Imaging.* 1994;13(4):601-9.
- Meija J, Galvis-Alonso OY, Oliveira LF, Carvalho EE, Simões MV. Uma solução de baixo custo para tomografia SPECT de alta resolução e sensibilidade de pequenos animais de experimentação: considerações práticas. *JCBS J Cienc Biomed Saude.* 2015;1(1):2-13.
- Peters AM, Jones DH, Evans K, Gordon I. Two routes for  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DMSA uptake into the renal cortical tubular cell. *Eur J Nucl Med.* 1988;14(11):555-61.
- Weyer K, Nielsen R, Petersen SV, Christensen EI, Rehling M, Birn H. Renal uptake of  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinic acid is dependent on normal proximal tubule receptor-mediated endocytosis. *J Nucl Med.* 2013;54(1):159-65.
- Sharp PF, Gemmell HG, Murray AD, editores. *Practical nuclear medicine.* 3rd ed. London: Springer Verlag; 2005.
- Reba RC, Holman BL. Brain perfusion radiotracers. In: Diksic M, Reba RC, editores. *Radiopharmaceuticals and brain pathology studied with PET and SPECT.* Boca Raton: CRC Press; 1991. p. 35-65.
- Apostolova I, Wunder A, Dirnagl U, Michel R, Stemmer N, Lukas M, et al. Brain perfusion SPECT in the mouse: normal pattern according to gender and age. *Neuroimage.* 2012;63(4):1807-17.
- Habraken JB, de Bruin K, Shehata M, Booij J, Bennink R, van Eck Smit BL, et al. Evaluation of high-resolution pinhole SPECT using a small rotating animal. *J Nucl Med.* 2001;42(12):1863-9.
- Wu MC, Gao DW, Sievers RE, Lee RJ, Hasegawa BH, Dae MW. Pinhole single-photon emission computed tomography for myocardial perfusion imaging of mice. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42(3):576-82.
- Metzler SD, Jaszczak RJ, Patil NH, Vemulapalli S, Akabani G, Chin BB. Molecular imaging of small animals with a triple-head SPECT system using pinhole collimation. *IEEE trans Med Imaging.* 2005;24(7):853-62.
- Lange C, Apostolova I, Lukas M, Huang KP, Hofheinz F, Gregor-Mamoudou B, et al. Performance evaluation of stationary and semi-stationary acquisition with a non-stationary small animal multi-pinhole SPECT system. *Mol Imaging Biol.* 2014;16(3):311-6.
- Ivashchenko O, van der Have F, Villena JL, Groen HC, Ramakers RM, Weinans HH, et al. Quarter-millimeter-resolution molecular mouse imaging with U-SPECT+. *Mol Imaging.* 2014;13.