FERNANDO ULIANA KAY

**Parâmetros quantitativos obtidos por
tomografia computadorizada de dupla-energia na
avaliação da perfusão pulmonar em
modelo experimental de embolia e lesão pulmonar**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Programa de Radiologia

Orientador: Prof. Dr. Edson Amaro Júnior

São Paulo

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Kay, Fernando Uliana

Parâmetros quantitativos obtidos por tomografia
computadorizada de dupla-energia na avaliação da
perfusão pulmonar em modelo experimental de embolia
e lesão pulmonar / Fernando Uliana Kay. -- São
Paulo, 2018.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Radiologia.

Orientador: Edson Amaro Júnior.

Descritores: 1.Tomografia computadorizada de
multidetectors 2.Imagem radiográfica a partir de
emissão de duplo fóton 3.Tomografia computadorizada
quadridimensional 4.Modelos animais 5.Suínos
6.Embolia pulmonar 7.Lesão pulmonar aguda

USP/FM/DBD-193/18

Responsável: Kátia Maria Bruno Ferreira - CRB-8/6008

DEDICATÓRIA

Para a minha esposa Thaís, pelo seu amor, generosidade e altruísmo.

“O amor é sofredor, é benigno; o amor não é invejoso; o amor não trata com leviandade, não se ensoberbece.” (1 Coríntios 13:4)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, pela educação e amor incondicional. À toda minha família pelo apoio e incentivo moral.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edson Amaro Júnior, pelo seu exemplo como cientista, pelos seus ensinamentos como professor, e pela sua generosidade e paciência como pessoa.

Ao Prof. Dr. Marcelo Britto Passos Amato, ao meu parceiro Dr. Marcelo do Amaral Beraldo, e a todos os pesquisadores do Laboratório de Investigação Médica do HC-FMUSP LIM-09, pela inspiração científica e imenso esforço na viabilização deste projeto.

À Dra. Eloísa Santiago Gebrim e à equipe técnica do Instituto de Radiologia da FMUSP, por possibilitarem a execução dos estudos de imagem.

À Prof. Dra. Cláudia da Costa Leita, ao Prof. Dr. Leandro Tavares Lucato e ao Prof. Dr. Rogério de Souza, cujas críticas e comentários no exame de qualificação serviram para o enriquecimento desta tese.

À Sra Lia de Melo Souza Neta, pelo seu suporte administrativo e atenção ao longo deste trabalho.

Normatização adotada

Essa tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação e dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abrevitatura dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	6
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	9
3.1 Desenvolvimento tecnológico da TCDE.....	10
3.2 Bases físicas da TCDE	16
3.3 Aplicações clínicas em imagem torácica.....	18
3.3.1 Avaliação vascular.....	18
3.3.2 Avaliação do parênquima pulmonar	22
4 MÉTODOS.....	28
4.1 Ética	29
4.2 Local do estudo.....	29
4.3 Amostra estudada	30
4.4 Cenários experimentais.....	31
4.4.1 Modelo gravitacional de heterogeneidade da perfusão pulmonar.....	31
4.4.2 Efeitos da lesão alveolar aguda sobre a perfusão	32
4.4.3 Efeitos da oclusão de ramo da artéria pulmonar sobre a perfusão.....	32
4.5 Protocolo de aquisição das imagens.....	34
4.5.1 Tomografia Computadorizada Dinâmica	35
4.5.2 Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia	36
4.6 Eutanásia	36
4.7 Pós-processamento de imagens.....	37
4.7.1 Quantificação do Fluxo e Volume Sanguíneo Pulmonar (TCD).....	38
4.7.2 Quantificação do Volume Sanguíneo Perfundido (TCDE).....	41

4.7.3	Quantificação da isquemia causada por oclusão da artéria pulmonar por balão.....	47
4.7.4	Avaliação da eficácia do protocolo de lesão alveolar	48
4.8	Análise estatística	49
5	RESULTADOS	52
5.1	Modelo de lesão alveolar	53
5.2	TCDE × TCD: correlação e concordância	55
5.3	Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre a heterogeneidade regional da perfusão pulmonar.....	58
5.4	Efeitos da lesão alveolar e de decúbito sobre a heterogeneidade regional da perfusão regional.....	61
5.5	Isquemia induzida por oclusão com balão	64
5.6	Efeitos incrementais das injeções sequenciais de meio de contraste sobre a concentração de iodo tecidual e sanguínea	65
5.7	Análise de múltiplas variáveis	67
5.8	Limites de concordância tcde quantitativa e TCD	71
6	DISCUSSÃO	72
6.1	Comparação entre TCDE e TCD	73
6.2	A TCDE e o modelo gravitacional	75
6.3	A TCDE e o modelo de lesão alveolar aguda	81
6.4	A TCDE e o modelo de embolia pulmonar	83
6.5	Limitações do estudo	84
7	CONCLUSÕES.....	86
8	ANEXOS	89
9	REFERÊNCIAS	91

LISTAS

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DECT	<i>Dual-Energy Computed Tomography</i>
DynCT	<i>Dynamic Computed Tomography</i>
EBCT	<i>Electron Beam Computed Tomography</i>
EV	Endovenoso
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FSP _B	Fluxo Sanguíneo Pulmonar Bruto pela Tomografia Computadorizada Dinâmica
FSP _{TCD}	Fluxo Sanguíneo Pulmonar pela Tomografia Computadorizada Dinâmica
g	Grama
keV	Quiloeletronvoltagem
kg	Quilograma
kVp	Pico de Quilovoltagem
LPIV	Lesão Alveolar Induzida por Ventilação Mecânica
mA	Miliampere
mg	Miligramma
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milimetro
ms	Milisegundo
mSv	Milisievert
N	Número de Amostras/Sujeitos
p	P-valor
PA	<i>Pulmonary Artery</i>

PaO ₂	Pressão Parcial de Oxigênio Arterial
PBF _{DynCT}	<i>Pulmonary Blood Flow by Dynamic Computed Tomography</i>
PBV _{DECT}	<i>Perfused Blood Volume by Dual-Energy Computed Tomography</i>
PEEP	<i>Positive End-Expiratory Pressure</i>
PET	<i>Positron Emission Tomography</i>
R	Coeficiente de Correlação
RM	Ressonância Magnética
s	segundo
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SPECT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography</i>
SPECT/CT	<i>Single Photon Emission Computed Tomography/Computed Tomography</i>
TC	Tomografia Computadorizada
TCD	Tomografia Computadorizada Dinâmica
TCDE	Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia
TCMD	Tomografia Computadorizada de Multidetecores
TEP	Tromboembolismo Pulmonar
ua	Unidades Arbitrárias
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
V/Q	Ventilação/Perfusão
VSP _B	Volume Sanguíneo Pulmonar Bruto pela Tomografia Computadorizada Dinâmica
VSP _{TCDE}	Volume Sanguíneo Pulmonar pela Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia
ΔP	Diferença de Pressão Inspiratória
%F _{Ar}	Fração de Ar pela Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia
%F _{Sangue}	Fração de Sangue pela Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia

$\%F_{\text{Tecido}}$	Fração de Tecido pela Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia
$\%VSP_{\text{TCDE}}$	Volume Sanguíneo Perfundido pela TCDE, porcentagem
3D	Tridimensional

FIGURAS

Figura 1 -	Tomografia de dupla-energia, método de rotações consecutivas	11
Figura 2 -	Tomografia de dupla-energia, método de detectores em “sanduíche” (<i>multilayer</i> ou <i>split-detector</i>).....	13
Figura 3 -	Tomografia de dupla-energia, método de dupla-fonte (<i>dual source</i>).....	14
Figura 4 -	Tomografia de dupla-energia, alternância rápida de kVp	15
Figura 5 -	Tomografia de dupla-energia, aplicação no tromboembolismo pulmonar agudo	22
Figura 6 -	Exemplo de cenário experimental de aquisição de imagens	31
Figura 7 -	Imagem de localização para tomografia computadorizada na projeção frontal	33
Figura 8 -	Resumo do protocolo de aquisição de imagens	34
Figura 9 -	Exemplo do algoritmo de segmentação pulmonar.....	37
Figura 10 -	Corregistro de imagens	38
Figura 11 -	Quantificação do fluxo sanguíneo pulmonar pela TCD.....	40
Figura 12 -	Resultados da TCDE	41
Figura 13 -	Mensuração do $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD}	43
Figura 14 -	Quantificação do parâmetro de perfusão pulmonar pela TCDE	45
Figura 15 -	Processo de segmentação para avaliação de concordância dos valores de volume sanguíneo pulmonar	47
Figura 16 -	Quantificação do grau de isquemia causada por oclusão com balão	48
Figura 17 -	Efeitos do protocolo de lesão alveolar aguda	53
Figura 18 -	Gráfico de barras sobre os efeitos gravitacionais/de decúbito e da lesão alveolar aguda sobre a $\%F_{Ar}$	54
Figura 19 -	Mapas de perfusão pulmonar	55

Figura 20 - Gráfico de dispersão $\%VSP_{TCDE} \times FSP_{TCD}$	56
Figura 21 - Gráfico de Dispersão $\%VSP_{TCDE} \times VSP_{TCD}$	57
Figura 22 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre $\%VSP_{TCDE}$, Grupo A	58
Figura 23 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre FSP_{TCD} , Grupo A ..	59
Figura 24 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre VSP_{TCD} , Grupo A ..	60
Figura 25 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre $\%VSP_{TCDE}$, Grupo B	61
Figura 26 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre FSP_{TCD} , Grupo B ..	62
Figura 27 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre VSP_{TCD} , Grupo B ..	63
Figura 28 - Redução perfusional causada pela oclusão da artéria pulmonar.....	64
Figura 29 - Densidade de iodo tecidual e sanguínea por experimento	65
Figura 30 - Limites de concordância, $VSP_{TCDE} \times VSP_{TCD}$	71
Figura 31 - Modelo perfusional regional pulmonar	77

TABELAS

Tabela 1 - $\%VSP_{TCDE}$: modelo linear misto.....	67
Tabela 2 - FSP_{TCD} : modelo linear misto.....	68
Tabela 3 - VSP_{TCD} : modelo linear misto.....	68

RESUMO

Kay FU. *Parâmetros quantitativos obtidos por tomografia computadorizada de dupla-energia na avaliação da perfusão pulmonar em modelo experimental de embolia e lesão pulmonar* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2018.

Nesta tese, buscou-se avaliar se a tomografia computadorizada de dupla-energia pós-contraste (TCDE) é capaz de detectar diferenças regionais da perfusão pulmonar em um modelo animal suíno incluindo variações de decúbito, lesão alveolar e oclusão da artéria pulmonar com balão, comparando estes resultados com os obtidos pela perfusão de primeira passagem com a tomografia computadorizada dinâmica (TCD). Dez suínos *landrace* foram divididos em Grupos A (N = 5, controle) e B (N = 5). Animais do Grupo B foram submetidos ao protocolo de lesão alveolar induzida por ventilação mecânica (LPIV). O volume sanguíneo perfundido e o fluxo sanguíneo pulmonar foram, respectivamente, estimados pela TCDE (%VSP_{TCDE}) e pela TCD (FSP_{TCD}), em diversas condições experimentais: posição supina versus prona, presença versus ausência de LPIV, presença ou ausência de oclusão da artéria pulmonar. A correlação entre %VSP_{TCDE} e FSP_{TCD} foi moderada (R = 0,60) com ampla variabilidade (intervalo 0,35–0,91) entre animais. %VSP_{TCDE} e FSP_{TCD} demonstraram padrões similares de heterogeneidade da perfusão pulmonar nas diferentes condições experimentais. Entretanto, reduções do %VSP_{TCDE} causadas pela oclusão com balão foram em média –29,32 %, enquanto reduções do FSP_{TCD} foram em média –86,78 % (p<0,001). Estimativas quantitativas do VSP_{TCDE} tiveram um erro médio de +4.3 ml/100g em comparação com o FSP_{TCD}, com limites de concordância de 95 % entre –16,6 ml/100g e 25,1 ml/100g. A TCDE pós-contraste é capaz de prover estimativas semiquantitativas que refletem a heterogeneidade regional da perfusão pulmonar causada por mudanças de decúbito, lesão alveolar e oclusão da artéria pulmonar com balão, apresentando moderada correlação com a perfusão de primeira passagem pela TCD.

Descritores: tomografia computadorizada de multidetectores; imagem radiográfica a partir de emissão de duplo fóton; tomografia computadorizada quadridimensional; modelos animais; suínos; embolia pulmonar; lesão pulmonar aguda

ABSTRACT

Kay FU. *Quantitative parameters obtained from dual-energy computed tomography in the evaluation of pulmonary perfusion in an experimental model of embolism and alveolar damage* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2018.

We aimed to evaluate whether contrast-enhanced dual-energy CT (DECT) detects regional pulmonary perfusion changes in a swine model of acute lung injury, with variations in decubitus and transient occlusion of the pulmonary artery, comparing these results with those obtained with dynamic CT perfusion (DynCT). Ten landrace swine were assigned to Groups A (N = 5, control) and B (N = 5). Group B was subjected to ventilator-induced lung injury (VILI). Perfused blood volume and pulmonary blood flow were quantified by DECT (PBV_{DECT}) and DynCT (PBF_{DynCT}), respectively, under different settings: supine versus prone, and with/without balloon occlusion of a pulmonary artery (PA) branch. Correlation of regional PBV_{DECT} versus PBF_{DynCT} was moderate (R = 0.60) with high variability (range 0.35–0.91) among the animals. Regional pulmonary perfusion changes assessed by %PBV_{DECT} agreed with PBF_{DynCT} in response to decubitus changes, lung injury and balloon occlusion in the multivariate analysis. However, reductions in %PBV_{DECT} caused by balloon occlusion were in average –29.32 %, whereas reductions in PBF_{DynCT} were in average –86.78 % (p<0.001). Quantitative estimates of PBV_{DECT} had a mean bias of +4.3 ml/100g in comparison with PBV_{DynCT}, with 95 % confidence intervals between –16.6 ml/100g and 25.1 ml/100g. Semiquantitative contrast-enhanced DECT reflects regional changes in perfusion caused decubitus changes, acute lung injury, and balloon occlusion of the PA, with moderate correlation in comparison with DynCT.

Descriptors: multidetector computed tomography; radiography, dual-energy scanned projection; four-dimensional computed tomography; models, animal; swine; pulmonary embolism; acute lung injury

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Perfusão e ventilação são processos biológicos potencialmente mensuráveis que têm sido historicamente propostos como importantes biomarcadores em doenças pulmonares ⁽¹⁾. A necessidade de um método não invasivo, acurado e preciso para o estudo da perfusão pulmonar *in vivo* foi o fator propulsor para o desenvolvimento de diversas modalidades de imagem, cada qual com características únicas de resolução espacial, traçador utilizado, necessidade de exposição à radiação ionizante, extensão da cobertura do campo de visão e potenciais fontes de erro ⁽²⁾.

Métodos envolvendo a injeção venosa de traçadores radioativos, como a cintilografia com $C^{15}O_2$ ⁽³⁾ e ^{133}Xe ⁽⁴⁾, foram os primeiros a serem utilizados com o propósito de avaliar a perfusão pulmonar. Subsequentemente, estes foram substituídos por métodos seccionais, como a tomografia computadorizada por emissão de fóton único (*single photon emission computed tomography*, SPECT) ⁽⁵⁾ e a tomografia por emissão de pósitrons (*positron emission tomography*, PET) ^(6, 7). Embora o desenvolvimento de PET marcadores tenha sido acompanhado de melhoria da resolução espacial, podemos citar como fatores limitantes em torno de sua aplicação clínica a complexidade logística de produção e a curta meia-vida de traçadores dependentes de ^{13}N e ^{15}O ⁽⁸⁾.

Paralelamente, inovações tecnológicas no campo de imagem por ressonância magnética (RM) permitiram o desenvolvimento de métodos não

invasivos para o estudo da perfusão pulmonar, independentes não só do uso de radiação ionizante, como também da necessidade do uso meio de contraste exógeno; entre estas inovações, podemos citar a técnica de *arterial spin labeling* ^(9, 10). Entretanto, a desfavorável relação sinal-ruído inerente à baixa densidade de prótons no parênquima pulmonar, a relação não-linear entre a concentração do meio de contraste paramagnético e o sinal de imagem, assim como a complexidade técnica dos protocolos de aquisição ainda são fatores limitantes para a implementação clínica da RM na avaliação da perfusão pulmonar ⁽²⁾.

Com efeito, significativos avanços técnicos também foram observados no campo do estudo da perfusão pulmonar com tomografia computadorizada (TC), com benefícios que incluem resolução espacial otimizada e ampla disponibilidade necessária para a implementação na prática clínica. Por exemplo, a análise da primeira passagem do meio de contraste em TC ultrarrápida com feixe de elétrons (*electron beam CT*, EBCT) é capaz de fornecer estimativas quantitativas da perfusão pulmonar com elevada resolução temporal e espacial, tendo sido testada em fantasmas ⁽¹¹⁾, modelos animais ^(12, 13) e clinicamente ⁽¹⁴⁾. Won et al. ⁽¹⁵⁾ demonstraram a heterogeneidade regional da perfusão pulmonar por meio da EBCT, fenômeno também demonstrado por Chon et al. ⁽¹⁶⁾ em tomógrafos multidetectores (TCMD). No entanto, considerando-se que as doses efetivas de radiação para estudos dinâmicos de perfusão com TC são diretamente proporcionais à resolução temporal empregada, nota-se que o aumento da resolução temporal ocorre à custa do aumento da dose de radiação. Um exemplo típico de dose efetiva estimada

para um estudo de dinâmico de TC com extensão limitada a 8 cm no eixo longitudinal é de 12,5 mSv ⁽¹⁷⁾, comparada a doses efetivas médias de 7,0 mSv em estudos clínicos cobrindo a totalidade do tórax ⁽¹⁸⁾. Consequentemente, estudos dinâmicos de perfusão com TC ainda são pouco utilizados na prática médica em decorrência de preocupações com relação aos riscos estocásticos da radiação ionizante.

A Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia (TCDE) surge como técnica alternativa à tomografia computadorizada dinâmica (TCD) no estudo da perfusão pulmonar, utilizando doses efetivas de radiação semelhantes àquelas usualmente aplicadas na prática clínica ^(19, 20). Em suma, a TCDE depende da aquisição simultânea de dois conjuntos de dados sob diferentes níveis energéticos médios do espectro de raios-X. Apesar de ter sido primeiramente proposta por Hounsfield ⁽²¹⁾, limitações tecnológicas impediram a imediata translação do modelo teórico para a prática clínica. Somente na última década, após a incorporação de inovações de engenharia, é que a TCDE conquistou o status de ferramenta clínica ⁽²²⁾. Algoritmos de decomposição material utilizando os dois níveis energéticos podem estimar a composição química de um objeto ⁽²³⁾. Como consequência, é possível utilizar o aumento da densidade elementar do iodo no parênquima pulmonar detectável pela TCDE após a injeção endovenosa (EV) do meio de contraste iodado como marcador do status da perfusão pulmonar ⁽²⁴⁾. Uma série de estudos suportam a correlação entre mapas semiquantitativos coloridos da densidade elementar de iodo obtidos por esta técnica com a cintilografia e o SPECT/CT de perfusão pulmonar ^(25, 26). Fuld et al. ⁽²⁷⁾ demonstraram alto grau

de correlação entre os valores semiquantitativos de perfusão pulmonar obtidos pela TCDE em relação ao fluxo sanguíneo pulmonar pela TCD em um modelo animal. Por sua vez, Zhang et al. ⁽²⁸⁾ observaram que os mapas de perfusão e imagens de fusão com imagens angiotomográficas convencionais obtidas pela TCDE foram superiores à cintilografia de perfusão para a detecção de tromboembolismo pulmonar em coelhos, apresentando sensibilidade de 100% e especificidade de 98%. Devido à facilidade de execução, à possibilidade de combinação de imagens funcionais e anatômicas, assim como menor dose de radiação e maior extensão de cobertura no eixo longitudinal que a TCD, a TCDE conquistou rápido interesse, e sua utilidade clínica tem sido amplamente investigada para doenças vasculares, especialmente no tromboembolismo pulmonar ⁽¹⁹⁾ e doenças oncológicas ⁽²⁹⁾.

Até o momento, nenhum estudo avaliou concomitantemente as habilidades quantitativas da TCDE na avaliação da perfusão pulmonar sob diferentes cenários, combinando (a) o modelo gravitacional da heterogeneidade pulmonar, (b) alterações perfusionais causadas pela lesão alveolar aguda e (c) oclusão de ramo da artéria pulmonar em comparação com um dos métodos de imagem já estabelecidos para a avaliação da perfusão pulmonar, a TCD de primeira passagem.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Objetivo geral:

Desenvolver uma plataforma de teste de conceito capaz de comparar os parâmetros quantitativos e semiquantitativos de perfusão pulmonar estimados pela TCDE com a TCD em um modelo animal.

Objetivos específicos:

1. Avaliar se existe correlação regional entre parâmetros semiquantitativos de perfusão pulmonar estimados pela TCDE e pela TCD.
2. Avaliar se os parâmetros semiquantitativos de perfusão pulmonar obtidos pela TCDE refletem a heterogeneidade regional de perfusão esperada pelo modelo gravitacional demonstrado pela TCD.
3. Avaliar se os parâmetros semiquantitativos de perfusão pulmonar estimados pela TCDE e pela TCD são similarmente modulados pela lesão alveolar aguda.
4. Avaliar se os parâmetros semiquantitativos de perfusão pulmonar estimados pela TCDE e pela TCD são similarmente modulados durante a oclusão de um dos ramos da artéria pulmonar.
5. Avaliar a concordância entre os parâmetros quantitativos de perfusão pulmonar obtidos pela TCDE e pela TCD sob diferentes condições experimentais.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DA TCDE

Hounsfield ⁽²¹⁾ já havia proposto a utilização de dois níveis energéticos para a determinação do número atômico efetivo dos objetos estudados em seu artigo original descrevendo a tomografia computadorizada como novo método de imagem. Alvarez e Macovisk ^(30, 31) desenvolveram os conceitos teóricos sugeridos por Hounsfield, propondo as equações que descrevem os coeficientes de atenuação mensurados pela TC a partir de dois feixes policromáticos de raios-X como função da combinação do efeito fotoelétrico (relacionado ao número atômico dos elementos constituintes) e da dispersão Compton (relacionada à densidade eletrônica, e portanto à densidade efetiva do material). Rutherford et al. ⁽³²⁾ testaram estes conceitos teóricos, demonstrando boa correlação tanto para a densidade eletrônica efetiva, quanto para o número atômico efetivo obtidos pela TCDE em comparação com medidas teóricas em fantasmas com diferentes concentrações de hidrocarbonetos e cloreto de cálcio. Além disso, Rutherford et al. ⁽³²⁾ ainda testaram esta técnica de forma preliminar em humanos, obtendo TCDE do crânio em quatro pacientes. Utilizando abordagem similar, Zatz ⁽³³⁾ demonstrou o distinto comportamento de diversos materiais sob diferentes níveis energéticos, possibilitando estimativas quantitativas de iodo e cálcio.

Genant e Boyd ⁽³⁴⁾ foram os primeiros a demonstrar a aplicação da TCDE como método quantitativo para a avaliação da densidade mineral óssea.

Muito embora promissora, a TCDE não foi inicialmente incorporada ao arsenal radiológico em decorrência de limitações técnicas relacionadas à aquisição e processamento de imagens. Sua implementação em tomógrafos de primeira geração dependia inicialmente de duas aquisições consecutivas e temporalmente distintas ^(31-33, 35). Limitações desta abordagem incluem o corregristo impreciso entre imagens adquiridas sequencialmente sob diferentes níveis energéticos, especialmente em tecidos e órgãos mais propensos à movimentação (e.g., coração, pulmões, e vasos sanguíneos), diferenças na distribuição do meio de contraste entre aquisições, assim como o potencial aumento na dose de radiação ⁽³⁶⁾ e tempo de aquisição ⁽²²⁾. Apesar destas limitações, a técnica de aquisição consecutiva ainda vem sido aplicada em alguns tomógrafos multislice.

Os níveis de energia A e B são aplicados consecutivamente em cada rotação do tubo de raios-X. Fonte: Modificado de McCollough et al. ⁽²²⁾.

Figura 1 - Tomografia de dupla-energia, método de rotações consecutivas

Detectores em “sanduíche”, também conhecidos como detectores *multilayer* ou *split-detectors*, foram desenvolvidos com o intuito de reduzir o número de aquisições de duas para uma, resultando em aumento da eficiência do sistema. Este modelo se baseia na combinação de duas camadas de detectores capazes de separar os sinais capturados a partir de um feixe policromático de raios-X em canais de baixa (superficial) e alta (profunda) energia ⁽³⁷⁾. Chiro et al. ⁽³⁸⁾ demonstraram a potencial aplicabilidade desta nova técnica na caracterização tecidual em TCDE do crânio obtidas em 36 pacientes. Nestes estudos, a média da atenuação relacionada ao efeito fotoelétrico foi de 79 ua (unidades arbitrárias de atenuação) para o líquido cefalorquidiano, aproximando-se ao valor teórico calculado de 80 ua, enquanto o valor mensurado para a substância cinzenta foi de 64 ua, versus um valor teórico de 51 ua. Entretanto, a limitada acurácia dos dados brutos obtidos, fundamental para análise quantitativa das características teciduais, constituiu uma das limitações da técnica. Recentemente, uma nova geração de tomógrafos com detectores em “sanduíche” foi introduzida comercialmente na prática clínica ^(39, 40). Outras potenciais limitações da TCDE com detectores em “sanduíche” incluem ampla sobreposição do espectro energético entre os canais de alta e baixa energia ⁽²²⁾, assim como diferenças nos níveis de ruído entre imagens de baixa e alta energia ⁽⁴¹⁾.

A camada (*layer*) superficial **A** captura informações dos fótons de baixa energia, enquanto a camada profunda **B** captura informações dos fótons de alta energia, possibilitando a separação dos dados em dois canais energéticos distintos. Fonte: Modificado de McCollough et al.⁽²²⁾.

Figura 2 - Tomografia de dupla-energia, método de detectores em “sanduíche” (*multilayer* ou *split-detector*)

Em meados dos anos 2000 surgiram os primeiros sistemas comercialmente disponíveis para a aquisição de TCDE com base em dupla-fonte de raios X (*dual-source computed tomography*)⁽⁴²⁾. A TC de dupla-fonte consiste em dois conjuntos de tubos de raios-X, com respectivos canais de detectores transpostos 90° em um mesmo *gantry*⁽⁴²⁾. Tal configuração permite o funcionamento dos tubos de raio-X em distintos níveis energéticos, o que por sua vez possibilita a aquisição de dois conjuntos de imagens⁽⁴²⁾. Uma das vantagens da utilização da dupla-fonte de raios-X inclui a possibilidade de filtragem independente dos espectros de feixe policromático para cada tubo, permitindo maior separação entre os espectros energéticos e otimização da

relação sinal ruído nas imagens de decomposição material ^(43, 44). Desvantagens incluem a necessidade de algoritmos de correção de radiação espalhada e diferentes tamanhos de campo de visão entre os tubos ⁽²²⁾.

Dois tubos de raios-X operam independentemente em níveis energéticos A e B; fótons são capturados por canais independentes (detectores A e B). Fonte: Modificado de McCollough et al. ⁽²²⁾.

Figura 3 - Tomografia de dupla-energia, método de dupla-fonte (*dual source*)

A alternância rápida de kVp (*rapid kVp switching*) é outra modalidade desenvolvida em paralelo às técnicas previamente descritas para obtenção de TCDE ^(45, 46). Desenvolvimentos tecnológicos nos elementos detectores dos tomógrafos ocorridos no final da década de 2010 permitiram que esta modalidade pudesse ser clinicamente aplicada em escala ^(47, 48). Esta modalidade de aquisição compreende o método presente no tomógrafo

Discovery CT 750-HD (General Electric – Waukesha, Wis, EUA) utilizado em nossos experimentos. Neste sistema, a variação rápida do pico de kilovoltagem em um único tubo de raios-X (em intervalos de tempo menores que 1 ms) gera aquisições quase simultâneas dos perfis de atenuação em alta e baixa energia, o que, por sua vez, permite a aplicação dos algoritmos de decomposição material tanto no domínio projecional (também conhecidos como sinogramas ou “dados brutos”), como no domínio da imagem reconstruída. Desvantagens incluem o aumento no tempo de rotação do tubo de raios-X, necessário para a aquisição de projeções em alta e baixa energia, limitações na correção da corrente de tubo entre variações de kVp, além da ampla sobreposição dos espectros energéticos ⁽²²⁾.

Um único tubo de raios-X alterna rapidamente o pico de kilovoltagem entre dois níveis energéticos, permitindo a aquisição de dois sinogramas. Fonte: Modificado de McCollough et al. ⁽²²⁾.

Figura 4 - Tomografia de dupla-energia, alternância rápida de kVp

Em síntese, a TCDE é uma modalidade radiológica que evoluiu significativamente ao longo da última década em decorrência de recentes avanços tecnológicos. Diferentes metodologias estão disponíveis, cada qual com vantagens e desvantagens. Independentemente do método utilizado para a aquisição de dados, as bases físicas de imagem são semelhantes e exploradas a seguir.

3.2 BASES FÍSICAS DA TCDE

O coeficiente de atenuação linear de um voxel (i.e., elemento de uma matriz tridimensional no espaço real) pode ser representado por um pixel (i.e., elemento de uma matriz no espaço da imagem) por meio da seguinte equação:

$$\int \mu(r, E) ds = \alpha \int \rho_{ef} \frac{Z_{ef}^k}{E^n} ds + \beta \int \rho_{ef} f_{KN}(E) ds \quad (1)$$

onde μ é o coeficiente de atenuação para o pixel r resolvido pela integral dos diversos níveis energéticos constituintes do feixe policromático de raio-X; o coeficiente de atenuação pode ser descrito como a combinação da atenuação causada pelo efeito fotoelétrico ⁽⁴⁹⁾ (coeficiente α) e pelo espalhamento Compton ⁽⁵⁰⁾ (coeficiente β), com ρ_{ef} e Z_{ef} sendo respectivamente a densidade e número atômico efetivos para um determinado material; $f_{KN}(E)$ representa a predição da função de Klein-Nishina ⁽⁵¹⁾ para a seção de choque diferencial em um dado nível energético E ^(23, 30, 31).

Alternativamente, com as informações de atenuação dos feixes de raios-X sob dois níveis energéticos, é possível aplicar algoritmos matemáticos para decompor cada pixel em proporções de dois materiais com coeficientes de atenuação linear conhecidos, processo denominado decomposição material ^(23, 31):

$$\int \mu(r, E) ds = \int \rho_{efm1} \mu_{m1}(r, E) ds + \int \rho_{efm2} \mu_{m2}(r, E) ds \quad (2)$$

onde μ é o coeficiente de atenuação de um pixel r , ρ_{efm} e μ_m são as densidades efetivas e coeficientes de atenuação linear para dados materiais **1** e **2** em uma determinada energia E do fóton de raios-X.

Dadas duas medidas de atenuação linear sob diferentes níveis energéticos obtidos por TCDE, é possível resolver um sistema de duas equações e duas incógnitas para dois materiais com coeficientes de atenuação linear conhecidos. Aplicando o princípio de conservação de volume, é possível expandir o sistema para a resolução de três materiais:

$$f_1 + f_2 + f_3 = 1 \quad (3)$$

onde f_1 , f_2 e f_3 correspondem à fração de volume para os materiais **1**, **2** e **3** em uma mistura. Desta forma, a atenuação linear de três materiais poder ser descrita por:

$$\mu(r, E) = \frac{\rho_1 f_1 \mu_{m1}(r, E) + \rho_2 f_2 \mu_{m2}(r, E) + \rho_3 f_3 \mu_{m3}(r, E)}{\rho_{ef}(r)} \quad (4)$$

onde μ é o coeficiente de atenuação linear para o pixel r , ρ a densidade elementar, f a fração de volume e μ_m o coeficiente de atenuação linear teórico para materiais **1**, **2** e **3** no nível energético E , dividida pela densidade efetiva da mistura ⁽²³⁾.

Nos dias atuais, mapas de decomposição material e imagens monoenergéticas virtuais fazem parte das aplicações clínicas da TCDE em radiologia torácica ⁽⁵²⁾. Perspectivas futuras incluem a otimização de algoritmos de decomposição, permitindo a identificação simultânea de mais do que três materiais simultaneamente ^(53, 54), além de avanços tecnológicos incluindo o desenvolvimento de tomógrafos com detectores de contagem de fótons (*photon counting detector* CT) ⁽⁵⁵⁾.

3.3 APLICAÇÕES CLÍNICAS EM IMAGEM TORÁCICA

3.3.1 Avaliação vascular

O primeiro relato da utilização clínica da TCDE para a avaliação do tromboembolismo pulmonar (TEP) foi publicado por Johnson et al. em 2007 ⁽⁵⁶⁾, coincidindo com o relato da primeira experiência de seu grupo com os algoritmos de decomposição material implementados nos tomógrafos de

dupla-fonte. Neste artigo, os autores ilustram um caso de TEP para o lobo superior esquerdo, sendo possível notar um déficit regional da densidade de iodo em correspondência ao território distal da artéria acometida pelo TEP, atribuída à hipoperfusão pulmonar causada pela obstrução vascular.

Thieme et al. ⁽²⁵⁾ utilizaram os mapas de iodo pulmonar em TCDE como substituto da perfusão pulmonar para o diagnóstico de TEP em uma pequena coorte de pacientes, encontrando sensibilidade e especificidade por paciente de 75% e 80%, respectivamente, e por segmento pulmonar de 83% e 99%, respectivamente. Estes resultados foram obtidos independentemente das informações obtidas pelo estudo angiotomográfico, e utilizaram a cintilografia de perfusão pulmonar como padrão de referência. Pontana et al. ⁽¹⁹⁾ avaliaram uma amostra maior de pacientes (N = 117) que realizaram exame de TCDE com suspeita de TEP, e encontraram 17 pacientes com achados positivos de déficits de perfusão nos mapas de densidade de iodo concordantes com êmbolos obstrutivos nos ramos da artéria pulmonar em 82% das vezes. Zhang et al. ⁽²⁸⁾, utilizando um modelo animal, demonstraram que a combinação dos mapas perfusionais de iodo com imagens angiotomográficas apresentam maior acurácia diagnóstica do que a cintilografia de perfusão pulmonar na avaliação do TEP. Thieme et al. ⁽²⁶⁾ também avaliaram os mapas perfusionais de iodo pela TCDE frente ao SPECT/CT para o diagnóstico de TEP, encontrando, respectivamente, sensibilidade e especificidade para o primeiro de 77% e 98%, e para o segundo método de 86% e 88%.

A utilização de imagens monoenergéticas próximas ao limiar k (k -edge) do iodo (i.e., 33 keV) foi descrita como tática para a redução do volume

injetado de meio de contraste iodado EV e método de “resgate” para estudos com reduzida concentração de iodo na circulação pulmonar. Yuan et al. ⁽⁵⁷⁾ demonstraram que reconstruções de 50 keV apresentam maiores razões sinal-ruído e contraste-ruído nas artérias pulmonares do que imagens de CT convencional, ainda que as primeiras utilizassem apenas metade do volume de meio de contraste iodado em relação às últimas.

Perspectivas futuras para a aplicação da TCDE no TEP incluem a avaliação prognóstica e identificação de pacientes com maior risco de eventos adversos. Bauer et al. ⁽⁵⁸⁾ estimaram o volume de área hipoperfundida em valores absolutos e percentuais com relação à totalidade dos pulmões de acordo com os mapas de iodo obtidos pela TCDE em pacientes com TEP, encontrando valores maiores em pacientes com sobrecarga de câmaras cardíacas direitas. Apfalter et al. ⁽⁵⁹⁾ também encontraram maiores volumes de hipoperfusão nos mapas de iodo pela TCDE para pacientes com TEP apresentando eventos clínicos adversos, em relação àqueles sem eventos adversos, havendo também moderada correlação entre os volumes de hipoperfusão pulmonar e o escore de Mastora ($R = 0,5$), assim como em relação à razão dos diâmetros do ventrículo direito e esquerdo na reformatação de quatro câmaras ($R = 0,423$), ambos marcadores de pior prognóstico ⁽⁶⁰⁾.

A TCDE também mostrou potencial aplicabilidade clínica no estudo da hipertensão pulmonar causada pelo tromboembolismo crônico. Estimativas semiquantitativas da perfusão pulmonar obtidas pela TCDE são inversamente correlacionadas com a pressão arterial pulmonar ^(61, 62) e com a resistência

vascular pulmonar ⁽⁶²⁾. Além disso, a TCDE pode estimar resposta hemodinâmica positiva ao tratamento. Um estudo preliminar em pacientes com hipertensão pulmonar causada pelo tromboembolismo crônico tratados com angioplastia por balão demonstrou que a melhoria dos parâmetros de perfusão pulmonar aferidos pela TCDE se correlaciona com redução da pressão de artéria pulmonar e da resistência vascular pulmonar, e com aumento da distância percorrida pelo paciente durante o teste de caminhada de seis minutos ⁽⁶³⁾.

A TCDE tem modificado a abordagem não invasiva das doenças vasculares pulmonares, combinando informações morfológicas e funcionais em um único estudo. Múltiplos sistemas de TCDE prontos para utilização clínica têm sido comercializados na última década. Apesar da necessidade de pós-processamento adicional que geralmente depende de estações de trabalho dedicadas, esta nova tecnologia tem sido progressivamente incorporada à prática radiológica ^(52, 64) (Figura 5).

a) Falhas de enchimento em ramos subsegmentares da artéria pulmonar nos lobos superiores (setas laranjas), que poderiam gerar dúvidas diagnósticas dada a reduzida conspicuidade das anormalidades. b) Mapa de densidade de iodo do mesmo paciente no nível dos ápices pulmonares; cores frias demonstram reduzidas concentrações de iodo em subsegmentos apicais dos lobos superiores, decorrentes de obstrução proximal causada pelo tromboembolismo pulmonar. Fonte: Original do autor

Figura 5 - Tomografia de dupla-energia, aplicação no tromboembolismo pulmonar agudo

3.3.2 Avaliação do parênquima pulmonar

Aplicações da TCDE para a avaliação do parênquima pulmonar têm focado na resolução de problemas oncológicos. Chae et al. ⁽²⁰⁾ estudaram o uso da TCDE para o diagnóstico de nódulos pulmonares solitários através dos números de TC obtidos em mapas de iodo três minutos após a injeção do meio de contraste, encontrando sensibilidades e especificidades para a diferenciação de lesões malignas de benignas de 92% e 70%, respectivamente. Os autores também concluíram que existe forte correlação (coeficiente de correlação de 0,83) entre os números de TC obtidos nas imagens pré-contraste e nas imagens virtuais sem contraste geradas pela subtração do componente de iodo das imagens pós-contraste da TCDE. Tais

achados estão alinhados com outros protocolos de TC convencional previamente desenvolvidos na literatura para a avaliação de benignidade em nódulos pulmonares solitários. O estudo de Swensen et al. ⁽⁶⁵⁾ já havia demonstrado que o realce pós-contraste maior que 15 unidades Hounsfield tem sensibilidade e especificidade de 98% e 58%, respectivamente, para a identificação de nódulos pulmonares solitários malignos. Os achados de Chae et al. ⁽²⁰⁾ sugerem que é possível reproduzir resultados semelhantes em performance para a detecção de malignidade em nódulos pulmonares solitários com uma única aquisição tomográfica. Esta proposta teria vantagens, por exemplo, em relação à abordagem proposta por Swensen et al. ⁽⁶⁵⁾ que requer uma fase pré-contraste incluindo todo o tórax, além de quatro fases pós-contraste sobre o nódulo em questão. Intrigantemente, Swensen et al. ⁽⁶⁶⁾ obtiveram resultado negativo em uma iniciativa pioneira de aplicação da TCDE, onde haviam analisado se um protocolo com duas varreduras consecutivas utilizando 80 kVp e 140 kVp, sem a utilização do meio de contraste, poderia ser capaz de diferenciar nódulos benignos de malignos.

Schmid-Bindert et al. ⁽⁶⁷⁾ avaliaram como se correlacionam densidade de iodo na TCDE pós-contraste e valor de captação padrão (*standard uptake value*, SUV) no PET/TC com 18-fluorodeoxiglicose (¹⁸FDG) em pacientes com câncer de pulmão (27 de não pequenas células e 10 de pequenas células). Os autores encontraram correlação moderada entre densidade de iodo na TCDE e SUV tanto no tumor primário quanto nos linfonodos mediastinais ($R = 0,507$ e $R = 0,654$, respectivamente).

Nódulos pulmonares com atenuação em vidro fosco também foram avaliados preliminarmente pela TCDE. Kawai et al. ⁽⁶⁸⁾ avaliaram 24 nódulos pulmonares em vidro fosco, observando aumento da atenuação relacionada ao iodo em 22 das lesões confirmadas cirurgicamente como malignas, o que não foi identificado nos dois nódulos benignos, que correspondiam a um foco de hemorragia e um nódulo inflamatório.

Mais recentemente, Li et al. ⁽⁶⁹⁾ encontraram diferença entre parâmetros quantitativos extraídos da TCDE pós-contraste em carcinomas de pulmão de não pequenas células, observando valores reduzidos de densidade de iodo nos tumores sem ou com baixa expressão de fator de crescimento endotelial vascular em comparação com aqueles apresentando moderada expressão do marcador. Além disso, os autores ainda observaram moderada correlação ($R = 0,413$) entre a densidade de iodo mensurada pela TCDE no tumor e a expressão do fator de crescimento pela análise imuno-histoquímica.

Outra linha de pesquisa com a TCDE em doenças parenquimatosas envolve a investigação de potenciais fatores envolvidos no desenvolvimento de diferentes fenótipos de doença pulmonar obstrutiva crônica em tabagistas. Alford et al. ⁽⁷⁰⁾ identificaram maior heterogeneidade da perfusão pulmonar pela TCD em pacientes com enfisema centrolobular precoce, quando comparados com indivíduos normais não tabagistas, ou tabagistas com achados normais à TC, concluindo que o desenvolvimento do enfisema centrolobular possa estar relacionado à disfunção ou à alteração patológica da estrutura endotelial, o que já havia sido sugerido previamente por outros autores ^(71, 72). Fuld et al. ⁽²⁷⁾ utilizaram um modelo suíno para para avaliar a

correlação entre as medidas de perfusão pulmonar pela TCD e aquelas obtidas pela TCDE, incluindo, em seu modelo, variações no grau de distensão alveolar e oclusão transitória da artéria pulmonar. Os autores observaram boa correlação entre as medidas de TCD e TCDE e também concluíram que os coeficientes de variação da perfusão pulmonar avaliada pela TCDE poderiam ser utilizados como substitutos dos valores de heterogeneidade da perfusão obtidos pela TCD. Subsequentemente, Iyer et al. ⁽⁷³⁾ utilizaram este parâmetro quantitativo obtido pela TCDE para demonstrar que pacientes susceptíveis ao desenvolvimento de enfisema centrolobular apresentam redução da heterogeneidade da perfusão pulmonar periférica após a administração de sildenafil, um inibidor da fosfodiesterase-5 que amplia os efeitos de vasodilatação do óxido nítrico endógeno, bloqueando o reflexo de vasoconstrição pulmonar hipóxica ⁽⁷⁴⁾. Tal efeito não foi observado em indivíduos não susceptíveis ao desenvolvimento de enfisema centrolobular, ressaltando o potencial papel da TCDE como biomarcador de alterações precoces da perfusão pulmonar, capaz de identificar, precocemente, diferentes perfis de risco para o enfisema em tabagistas ⁽⁷³⁾.

Perspectivas futuras na avaliação da doença pulmonar obstrutiva crônica com a TCDE incluem o estudo combinado da ventilação com gás xenônio e da perfusão com contraste iodado endovenoso em um único exame. Chae et al. ⁽⁷⁵⁾ descreveram inicialmente sua experiência com mapas ventilatórios baseados na administração de uma mistura de 30% de gás xenônio com 70% de oxigênio. Thieme et al. ⁽⁷⁶⁾ demonstraram a exequibilidade da combinação do estudo da ventilação e perfusão pulmonar

com a TCDE, utilizando-se de duas etapas: uma primeira aquisição com a administração do xenônio inalado, e a segunda aquisição após o clareamento do xenônio e administração do meio de contraste iodado endovenoso. Por sua vez, Hwang et al. ⁽⁷⁷⁾ aplicaram o estudo combinado da ventilação/perfusão pulmonar pela TCDE para a avaliação de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica, concluindo que não só a análise visual e quantitativa destes parâmetros é possível, como também a determinação da relação V/Q, que por sua vez se correlaciona com resultados das provas funcionais.

Apenas um pequeno número de estudos avaliou o uso potencial da TCDE na investigação de outras doenças parenquimatosas pulmonares. Lu et al. ⁽⁷⁸⁾ estudaram as alterações perfusionais pela TCDE durante e após oclusão mecânica da pulmonar esquerda em um modelo animal, com o intuito de melhor entender o fenômeno da lesão por reperfusão. Entretanto, potenciais aplicações da TCDE na avaliação das alterações perfusionais pulmonares em pacientes com Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) são escassos. Hoegl et al. ⁽⁷⁹⁾ publicaram os achados de um estudo preliminar sobre a aplicação clínica da TCDE na avaliação da ventilação pulmonar com xenônio em 13 pacientes críticos. Nesta série de casos, os autores concluem que o manejo clínico de 4 pacientes foi positivamente afetado pelos resultados do estudo ventilatório com TCDE, incluindo um paciente com ventilação preservada a despeito do desenvolvimento de pneumonia inicial (N = 1), maior grau de confiança na diferenciação entre uma grande bolha e pneumotórax (N = 1), detecção de fístula broncopleurale (N = 1) e exclusão de uma suspeita de fístula entre a via aérea e o mediastino.

Até onde pudemos observar, não há estudos experimentais na literatura científica que tenham explorado o significado das estimativas de perfusão pulmonar obtidos pela TCDE no contexto de lesão alveolar aguda. Assim, nossos resultados poderão fornecer elementos para o entendimento do potencial papel dos parâmetros da TCDE como biomarcadores da perfusão pulmonar no contexto de doenças parenquimatosas.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 ÉTICA

O estudo recebeu aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), em sessão de 29/05/2014, sob o protocolo de pesquisa nº 064/14 (Anexo 1) e cumpriu com as normas internacionais de conduta e cuidado humanizado com animais de laboratório ⁽⁸⁰⁾, sob os auspícios da Lei Federal n 11.794, de 8 de outubro de 2008 ⁽⁸¹⁾.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

A preparação dos animais foi iniciada no Laboratório de Investigação Médica nº 09 do Hospital das Clínicas da FMUSP (unidade de terapia intensiva para pequenos animais), enquanto a aquisição de imagens foi concluída no setor de Tomografia do Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da FMUSP.

4.3 AMOSTRA ESTUDADA

Dez suínos da raça Landrace (30 – 34 kg) foram anestesiados, monitorizados e ventilados mecanicamente. Os animais foram anestesiados com uma combinação de ketamina intramuscular (5,0 mg/kg), acepromazina (0,1 mg/kg) e midazolam (0,5 mg/kg), seguida de estabelecimento de acesso venoso periférico, administração de propofol EV 1% (3,0 ml/kg) e intubação orotraqueal por uma equipe de pesquisadores experientes, sob monitoramento não-invasivo dos sinais vitais. A ventilação foi instituída no modo de pressão controlada, ajustada para se obter um volume corrente de 10 ml/kg, com pressão expiratória final positiva (PEEP) de 5 cm H₂O, frequência respiratória de 20 ciclos por minuto, tempo inspiratório de um segundo e fração inspiratória de O₂ igual a 100%. Foi então instituída infusão contínua de ketamina, thionembotal e pancurônio com o propósito de manter a analgesia, sedação e relaxamento muscular. Os sinais de dor ou desconforto respiratório foram ativamente monitorados, sendo realizados ajustes da infusão de analgésicos e sedativos quando necessário (Figura 6).

Animal #1 anestesiado e em posição prona, com suporte ventilatório e monitorização hemodinâmica, preparado para o início da aquisição das imagens no tomógrafo Discovery CT 750-HD. Fonte: Original do autor

Figura 6 - Exemplo de cenário experimental de aquisição de imagens

4.4 CENÁRIOS EXPERIMENTAIS

4.4.1 Modelo gravitacional de heterogeneidade da perfusão pulmonar

Para investigar como os parâmetros perfusionais pulmonares são distribuídos ao longo do eixo dorso-ventral, e se a TCDE concorda com a tomografia com a TCD na avaliação dos gradientes perfusionais, cada animal foi submetido a aquisições de imagem em posição supina e prona.

4.4.2 Efeitos da lesão alveolar aguda sobre a perfusão

Cinco animais foram utilizados como controle (Grupo A, N = 5), enquanto outros cinco animais (Grupo B, N = 5) foram submetidos ao protocolo de lesão alveolar em UTI para animais antes do transporte para a aquisição das imagens. O protocolo de lesão alveolar consiste na depleção do agente surfactante por meio de repetidas lavagens alveolares com salina isotônica (0,9%, 37°, 30 ml/kg), seguida por distensão alveolar com diferença de pressão inspiratória (ΔP) igual a 35 cm H₂O, e aumentos na PEEP de um a 13 cm H₂O, com o objetivo de induzir inflamação local por meio de colapso alveolar seguido por hiperdistensão cíclica. Após o término do protocolo, buscou-se manter uma PaO₂ menor ou igual a 100 mm Hg, com a PEEP igual a 10 cm H₂O e ΔP de 20 cm H₂O. Os animais do Grupo B foram submetidos à manobra de recrutamento alveolar, com passos incrementais da PEEP de 25 a 45 cm H₂O, em etapas de 5 cm H₂O, aplicadas por dois minutos, com ΔP de 15 cm H₂O.

4.4.3 Efeitos da oclusão de ramo da artéria pulmonar sobre a perfusão

Antes da aquisição das imagens, um pesquisador com experiência em manejo de animais em UTI (M. A. B.) inseriu um cateter de Swan-Ganz (Edwards – Irvine, CA, EUA) através da veia jugular interna, que foi progredido até o ramo interlobar/lobar inferior direito ou esquerdo da artéria pulmonar. A posição do cateter foi confirmada por meio da identificação do padrão de

pressão capilar pulmonar “em cunha” após a insuflação do balão na ponta do cateter. Adicionalmente, sua localização também foi confirmada pela visualização direta nas imagens de tomografia, sendo o cateter reposicionado caso necessário (Figura 7).

Com o propósito de investigar se as alterações da perfusão pulmonar induzidas pela oclusão da artéria pulmonar seriam igualmente detectadas pela TCDE assim como pela TCD, foi desenvolvido um o protocolo de isquemia transitória. Os objetivos do protocolo foram atingidos através de insuflações temporárias do balão do cateter de Swan-Ganz por cinco minutos antes e durante a aquisição das imagens “sob isquemia”, sendo prontamente desinflado ao final da varredura.

(Animal #4): Note a presença do cateter de Swan-Ganz introduzido através da região cervical esquerda, com terminação no ramo lobar inferior da artéria pulmonar (seta azul). Pode-se observar a presença de um acesso venoso central com terminação na transição cavoatrial superior (seta amarela). Nota: cinta para aquisição de tomografia de impedância elétrica assinalada pela seta vermelha. Fonte: Original do autor

Figura 7 - Imagem de localização para tomografia computadorizada na projeção frontal

4.5 PROTOCOLO DE AQUISIÇÃO DAS IMAGENS

O protocolo de aquisições de imagens tomográficas foi aplicado para animais dos Grupos A e B, em posição supina e prona, conforme ilustrado na Figura 8.

Os animais do Grupo B (N = 5) foram submetidos ao protocolo de lesão alveolar aguda previamente à aquisição das imagens. Ambos os grupos foram submetidos à sequência de aquisições conforme demonstrado no esquema, iniciando aleatoriamente em posição supina ou prona. Fonte: Original do autor

Figura 8 - Resumo do protocolo de aquisição de imagens

Quatro dos cinco animais do Grupo A e quatro dos cinco animais do Grupo B iniciaram o protocolo em posição supina. Um animal do Grupo A e

um animal do Grupo B iniciaram o protocolo em posição prona. Todas as varreduras tomográficas foram obtidas em um tomógrafo de 64 fileiras de detectores, com única fonte de raios-X e rápida alternância de kVp (Discovery CT 750-HD; General Electric Healthcare – Waukesha, Wis, EUA), comparando-se dois métodos distintos aquisição: TCD versus TCDE. Um intervalo de mínimo de 15 minutos foi respeitado entre cada diferente aquisição de TC para fins de clareamento (*washout*) do meio de contraste.

4.5.1 Tomografia Computadorizada Dinâmica

A aquisição dinâmica (4D) foi obtida em uma secção com 20 mm de espessura, posicionada através das bases pulmonares, imediatamente acima das cúpulas diafragmáticas, com os seguintes parâmetros: série de 300 aquisições com tempo de rotação de 0,4 s, colimação de $64 \times 0,625$ mm, dimensões do pixel de $0,39 \times 0,39$ mm, pico de kilovoltagem e corrente do tubo de raios-X de 80 kVp e 300 mA, respectivamente. O volume de dados foi reconstruído em quatro níveis axiais contíguos com 5 mm de espessura cada.

Foram injetados 20 ml de iobitridol 300 mg-I/ml (Henetix 300, Guerbet) EV através de uma bomba injetora (Stellant® Dual Syringe; Medrad Radiology/Bayer Healthcare – Whippany, NJ, EUA), administrados à razão de 10 ml/s, seguidos por 20 ml de solução salina com a mesma razão de injeção.

4.5.2 Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia

A varredura 3D em dupla-energia foi obtida em única fase e incluiu a totalidade do tórax no modo helicoidal (do topo dos ápices pulmonares até o limite inferior dos seios costofrênicos), com os seguintes parâmetros: única aquisição com tempo de rotação de 0,8 s, colimação de $64 \times 0,625$ mm, dimensões do pixel de $0,39 \times 0,39$ mm, picos de kilovoltagem de 80 kVp e 140 kVp e corrente do tubo de raios-X de 260 mA. O volume de dados foi reconstruído em níveis monocromáticos virtuais a 70 keV e 140 keV diretamente do console do tomógrafo ⁽³⁰⁾, obtendo-se dois conjuntos de imagens contíguas com 5 mm de espessura cada, dos ápices até as bases pulmonares.

As aquisições foram iniciadas 15 s após o início da injeção de 20 ml de iobitridol 300 mg-I/ml, à razão de 4 ml/s, seguido por 20 ml de solução salina à mesma razão. O protocolo de injeção de contraste foi ajustado para simular a distribuição do meio de contraste no parênquima pulmonar similar àquela atingida durante no protocolo de angiotomografia para avaliação de tromboembolismo pulmonar ⁽⁶⁰⁾.

4.6 EUTANÁSIA

Ao fim do protocolo de aquisição das imagens, os animais receberam uma dose adicional de analgésicos e sedativos, seguida por uma injeção EV contínua de cloreto de potássio a 19,1% até que o padrão de assistolia fosse confirmado no monitor cardíaco. O descarte da carcaça seguiu os preceitos das boas práticas de cuidado com animais de laboratório ⁽⁸⁰⁾.

4.7 PÓS-PROCESSAMENTO DE IMAGENS

As imagens foram armazenadas em formato DICOM e transferidas para o programa OsiriX MD versão 2.6 (Pixmeo – Bernex, Suíça). Foi utilizado um algoritmo rápido de propagação coerente plana para a segmentação do parênquima pulmonar (Figura 9) com a finalidade de otimizar os processamentos matemáticos dos mapas perfusionais (MIA Lite, *plug-in* para OsiriX) ⁽⁸²⁾.

Interface de interação gráfica do *plug-in* MIA Lite. A segmentação do parênquima pulmonar necessita da definição dos limites de atenuação (–910 UH a –200 UH), seguindo-se da criação manual de “sementes” e “barreiras” de propagação, de modo a excluir árvore brônquica e grandes vasos pulmonares. O resultado do algoritmo pode ser observado pelo modelo 3D pulmonar em verde no quadrante inferior direito da figura (Animal #5). Fonte: Original do autor

Figura 9 - Exemplo do algoritmo de segmentação pulmonar

Para eliminar pequenas incongruências espaciais entre as diferentes aquisições (TCDE e TCD) para uma mesma condição experimental, foi

utilizado um algoritmo de corregristo de imagens baseado em intensidade de sinal (Matlab®; Mathworks – Natick, MA, EUA) (Figura 10).

Exemplo de imagem de fusão demonstrando o resultado do algoritmo de corregristo entre a TCDE (a) e TCD (b) para o Animal #10 na posição supina. A figura (c) mostra a sobreposição de ambas as imagens após aplicação do algoritmo de corregristo. Para facilitar a visualização, cada imagem foi pós-processada com filtro de detecção de bordas (83); traçados em verde e magenta são as interfaces da TCDE e TCD, respectivamente; o traçado branco representa sobreposição entre TCDE e TCD. Fonte: Original do autor

Figura 10 - Corregristo de imagens

4.7.1 Quantificação do Fluxo e Volume Sanguíneo Pulmonar (TCD)

O fluxo sanguíneo pulmonar (FSP) foi utilizado como parâmetro quantitativo perfusional para a TCD, sendo calculado a partir da deconvolução da curva de valor de atenuação dos pixels ao longo do tempo ⁽¹⁵⁾:

$$FSP_B = FI(t_0) \quad (5)$$

onde FI é uma função impulso, cujo valor para o t_0 corresponde ao FSP bruto (FSP_B) em ml/100g/min de tecido líquido.

O volume sanguíneo pulmonar bruto (VSP_B) é definido como o volume de distribuição do traçador aportado por 100g de tecido líquido durante a primeira passagem:

$$VSP_B = FSP_B \times TMT \quad (6)$$

onde FSP_B é o fluxo sanguíneo pulmonar bruto e TMT é o tempo médio de trânsito do meio de contraste ⁽⁸⁴⁾.

FSP_B e VSP_B foram automaticamente obtidos através do software CT Perfusion 4 (AW Workstation; General Electric Healthcare – Waukesha, Wis, EUA), utilizando-se o algoritmo de deconvolução. A maior artéria pulmonar contralateral ao cateter de Swan-Ganz foi definida como o parâmetro de entrada arterial (*arterial input vessel*). Para correção da distribuição intravascular do meio de contraste, foram levados em consideração os diferentes valores de hematócrito para capilares e vasos de maior calibre, utilizando-se o fator de correção de 0,8 ^(85, 86). Os resultantes mapas de FSP_B e VSP_B foram submetidos a filtro de suavização por meio da média móvel do número de TC numa janela de 5 mm × 5 mm para redução do ruído (Figura 11).

Exemplo do processamento das imagens obtidas em posição supina no Animal #8, sem a insuflação do balão de Swan-Ganz. O software CT Perfusion 4 é alimentado com a série temporal de 300 imagens adquiridas durante a injeção endovenosa do meio de contraste, fornecendo o mapa de fluxo sanguíneo pulmonar bruto, FSP_B , por meio de algoritmo de deconvolução. Fonte: Original do autor

Figura 11 - Quantificação do fluxo sanguíneo pulmonar pela TCD

FSP_B e VSP_B foram normalizados pela densidade do parênquima pulmonar ⁽¹⁶⁾ calculada através das imagens pré-contraste:

$$TC_{(Tecido, Sanguie)} = \frac{UH_{Pixel} - UH_{Ar}}{UH_{Artéria Pulmonar} - HU_{Ar}} \quad (7)$$

onde $TC_{(Tecido, Sanguie)}$ corresponde à fração de contribuição da atenuação do pixel dada pela soma do tecido e do sangue, UH_{Pixel} é o coeficiente de atenuação do pixel a ser resolvido, UH_{Ar} é a média de atenuação dos pixels referentes ao ar, e $UH_{Artéria Pulmonar}$ é a média de atenuação no interior dos ramos de grande calibre da artéria pulmonar. O resultado da divisão do FSP_B e VSP_B pela $TC_{(Tecido, Sanguie)}$ é igual ao fluxo sanguíneo pulmonar normalizado pela densidade do parênquima pulmonar (FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , respectivamente).

4.7.2 Quantificação do Volume Sanguíneo Perfundido (TCDE)

Dois métodos foram utilizados para estimar o volume sanguíneo perfundido pela TCDE. O primeiro método, semiquantitativo, utiliza o princípio de decomposição material dupla ⁽³¹⁾ implementado diretamente no tomógrafo Discovery 750HD. Este método gera duas séries de imagens a partir de uma aquisição TCDE, nas quais valores de intensidade representam densidades estimadas de iodo e água, respectivamente, sendo o mais utilizado sob o ponto de vista clínico ^(87, 88) (Equação 2, Figura 12).

Experimento em posição supina no Animal #4, sem a insuflação do balão de Swan-Ganz. Imagens reconstruídas pelo tomógrafo Discovery 750HD, utilizando decomposição material pareada “iodo-água”. Imagem à esquerda corresponde ao mapa de densidade de iodo (valores em $\times 100 \mu\text{g}$ de iodo/cc). Imagem à direita corresponde ao mapa de densidade de água (valores em mg de H_2O /cc). Fonte: Original do autor

Figura 12 - Resultados da TCDE

Por meio deste método ⁽⁸⁷⁾, o volume sanguíneo perfundido é expresso como:

$$\%FSP_{TCDE} = \frac{\text{Densidade de Iodo}_{\text{Pulmão}}}{\text{Densidade de Iodo}_{\text{Artéria Pulmonar}}} \times 100\% \quad (8)$$

onde $\%FSP_{TCDE}$ é a percentagem da densidade de iodo no parênquima pulmonar dividida pela densidade de iodo na artéria pulmonar.

Os valores de $\%FSP_{TCDE}$ foram mensurados em três regiões do parênquima pulmonar de cada pulmão, levando-se em consideração o eixo vertical da imagem, nomeados de acordo com a anatomia do animal (i.e., ventral, média e dorsal). Para isso, utilizou-se o software ImageJ (Fiji version 1.0,⁽⁸⁹⁾). Um radiologista com 6 anos de experiência em imagem torácica (F. U. K.) definiu manualmente seis regiões de interesse com área 1,0 cm² em cada imagem, evitando grandes vasos ou artefatos. O valor médio de cada região foi extraído para análise. O mesmo procedimento foi utilizado para extrair o valor médio de FSP_{TCD} e VSP_{TCD} nas regiões pulmonares correspondentes (Figura 13).

Regiões de interesse com 1,0 cm² de área desenhadas manualmente nas regiões ventral, média e dorsal, evitando grandes vasos e artefatos. Fonte: Original do autor

Figura 13 - Mensuração do %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD}.

O segundo parâmetro perfusional extraído a partir da TCDE foi o volume sanguíneo perfundido (VSP_{TCDE}) em ml/100g de tecido pulmonar. Para o cálculo deste parâmetro quantitativo experimental, foi necessária a implementação de um algoritmo de decomposição material tripla em Matlab® (Mathworks – Natick, MA, EUA), utilizando como entrada as imagens monocromáticas virtuais em 70 keV e 140 keV. As imagens foram pré-processadas através de um filtro de média móvel com janela de 5 mm × 5 mm. O algoritmo resolve o sistema linear de três parâmetros (i.e., densidade dos três materiais) por mínimos quadrados, utilizando o princípio de

conservação de volume para contornar o problema de duas variáveis e três incógnitas ⁽⁹⁰⁾:

$$\%F_{Tecido}UH_{Tecido,70} + \%F_{Ar}UH_{Ar,70} + \%F_{Sangue}UH_{Sangue,70} = UH_{70} \quad (9)$$

$$\%F_{Tecido}UH_{Tecido,140} + \%F_{Ar}UH_{Ar,140} + \%F_{Sangue}UH_{Sangue,140} = UH_{140} \quad (10)$$

$$\%F_{Tecido} + \%F_{Ar} + \%F_{Sangue} = 1, \text{ considerando a conservação de volume} \quad (11)$$

onde UH_{Ar} corresponde à atenuação do ar no interior das grandes vias aéreas ou externamente à parede torácica, UH_{Tecido} à atenuação do tecido na musculatura paravertebral e UH_{Sangue} à atenuação do sangue no interior de ramos de grande calibre da artéria pulmonar, respectivamente nas imagens de 70 keV e 140 keV; UH_{70} e UH_{140} correspondem aos coeficientes de atenuação linear para cada pixel das imagens de 70 keV e 140 keV, respectivamente. As saídas do algoritmo implementado correspondem a três imagens representando as frações de tecido ($\%F_{Tecido}$), de ar ($\%F_{Ar}$) e de sangue ($\%F_{Sangue}$) resolvidas para cada pixel da imagem (Figura 14).

Exemplo do processamento das imagens obtidas em posição supina no Animal #8, sem a insuflação do balão de Swan-Ganz. O algoritmo de decomposição material implementado no Matlab® é alimentado com as duas séries de imagens monoenergéticas virtuais em 70 keV e 140 keV, reconstruídas pelo tomógrafo Discovery CT 750-HD, adquiridas após a injeção endovenosa do meio de contraste, adicionadas dos parâmetros de atenuação da musculatura paravertebral (UH_{Tecido}), do ar (UH_{Ar}) e do sangue no interior de um ramo calibroso da artéria pulmonar (UH_{Sangue}), nos respectivos níveis energéticos. O resultado são os mapas de fração de tecido, de ar e de sangue. Fonte: Original do autor

Figura 14 - Quantificação do parâmetro de perfusão pulmonar pela TCDE

VSP_{TCDE} é definido em ml/100g de tecido líquido por:

$$VSP_{TCDE} = \frac{\%F_{Sangue} \times k \times 100}{(1 - \%F_{Ar}) \times 1,05} \quad (12)$$

onde $\%F_{Sangue}$ é a fração de sangue e $\%F_{Ar}$ a fração de ar (cujo complementar corresponde à soma das frações de sangue e tecido, i.e. $\%F_{Sangue}$ e $\%F_{Tecido}$; 1,05 g/m foi utilizado como fator de correção para densidade de tecido; k foi

utilizado para correção entre as diferenças de hematócrito entre vasos de grande e de pequeno calibre. O valor de correção k leva em consideração que o meio de contraste iodado tem distribuição exclusivamente extracelular, que o hematócrito capilar é cerca de 80% do valor do hematócrito em grandes vasos (utilizados como parâmetro no algoritmo de decomposição material)^(85, 86) e que o volume de distribuição plasmático do meio de contraste no protocolo de injeção TCDE (4 ml/s) é 2,5 vezes maior que aquele do protocolo da TCD (10 ml/s) para um mesmo volume injetado. Assim, utilizou-se o valor de $k = 0,32$ para a correção do VSP_{TCDE} na microcirculação do parênquima pulmonar.

Para fins de avaliação de concordância entre os valores de volume sanguíneo pulmonar estimados pela TCD e TCDE, utilizou-se um algoritmo automatizado implementado no software R versão 3.1.3 ⁽⁹¹⁾ que divide qualquer coluna de pixels ($N \geq 3$) em três partes, i.e. ventral, média e dorsal (resto da divisão adicionado à região dorsal). Os pulmões direito e esquerdo foram segmentados manualmente utilizando-se os reparos anatômicos (reflexões pleurais e segmentação brônquica) por um mesmo radiologista (F. U. K.) (Figura 15).

Os mapas de perfusão pulmonar obtidos por TCD e TCDE são segmentados em regiões dorsais, médias e ventrais, de acordo com um algoritmo automatizado. Fonte: Original do autor

Figura 15 - Processo de segmentação para avaliação de concordância dos valores de volume sanguíneo pulmonar

4.7.3 Quantificação da isquemia causada por oclusão da artéria pulmonar por balão

Para quantificar as diferenças perfusionais causadas pela oclusão com balão de Swan-Ganz, utilizaram-se as imagens de FSP_{TCD} com o balão inflado como referência. Um radiologista (F. U. K.) utilizou um padrão fixo de janela (centro e abertura de 250 ml/100g/min) para definir uma região de interesse englobando a área de isquemia no mapa FSP_{TCD} durante oclusão (Figura 16), que foi posteriormente transferido para a mesma região anatômica nos mapas FSP_{TCD} , VSP_{TCD} , $\%VSP_{TCDE}$ pré-oclusão, assim como nos mapas VSP_{TCD} e $\%VSP_{TCD}$ durante oclusão.

Região de interesse englobando a região de isquemia no mapa FSP_{TCD} durante a oclusão com balão, posteriormente replicada para a mesma região anatômica nos respectivos mapas FSP_{TCD} , VSP_{TCD} e $\%VSP_{TCDE}$ pré e durante oclusão. Fonte: Original do autor

Figura 16 - Quantificação do grau de isquemia causada por oclusão com balão

A redução percentual dos valores de FSP_{TCD} , VSP_{TCD} e $\%VSP_{TCDE}$ foi calculada como:

$$Redução \% = \frac{Valor\ Médio\ ROI_{Pré-oclusão} - Valor\ Médio\ ROI_{Oclusão}}{Valor\ Médio\ ROI_{Pré-oclusão}} \quad (13)$$

4.7.4 Avaliação da eficácia do protocolo de lesão alveolar

Os mapas de F_{Ar} obtidos em 4.7.2 (equações 9-11, Figura 14) pela TCDE foram utilizados como marcador da eficácia do protocolo de lesão alveolar. Com efeito, reduções da F_{Ar} foram consideradas evidência de

substituição do espaço aéreo por uma combinação de dano alveolar difuso, inflamação e colapso.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

- a) Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando a linguagem R versão 3.1.3 ⁽⁹¹⁾. O software GraphPad Prism (GraphPad Software – La Jolla, CA, USA) foi utilizado para a criação gráfica. Os resultados são reportados como média, mais ou menos ($\pm$) erro padrão da média, a menos que indicado alternativamente. Para todas as análises foi considerado um nível de significância α (i.e., probabilidade de se rejeitar a hipótese nula quando esta é verdadeira) de 5%.
- b) Testamos a existência de diferenças na %F_{Ar} global entre animais do Grupo A e B utilizando análise multivariada com modelos mistos lineares ⁽⁹²⁾. Testamos a existência de diferenças regionais na %F_{Ar} entre animais de um mesmo grupo (em posições supina e prona) através da análise de variância seguida pelo teste *post-hoc* de tendência linear ⁽⁹¹⁾.
- c) Testamos a correlação regional entre %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} nos diferentes animais e condições experimentais com o coeficiente de correlação *R* de Pearson ⁽⁹¹⁾.
- d) Testamos a existência de gradientes gravitacionais regionais do %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} em posição supina e prona nos animais

do Grupo A através da análise de variância, seguida pela análise *post-hoc* de tendência linear ⁽⁹¹⁾.

- e) Testamos a existência de gradientes gravitacionais regionais do %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} em posição supina e prona nos animais do Grupo B através da análise de variância, seguida pela análise *post-hoc* de tendência linear ⁽⁹¹⁾.
- f) Testamos diferenças entre reduções percentuais de %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} causada pela oclusão de ramo da artéria pulmonar com balão por meio da análise de variância, seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey ⁽⁹¹⁾.
- g) Testamos a existência de possíveis efeitos incrementais causados pelas injeções venosas sequenciais do meio de contraste sobre a concentração sanguínea de iodo acessada pela TCDE utilizando a análise de variância das medidas em região de interesse posicionados na artéria pulmonar e musculatura paravertebral, seguida pelo teste *post-hoc* de tendência linear ⁽⁹¹⁾.
- h) Testamos as interações e efeitos da mudança de decúbito, presença de lesão alveolar aguda e oclusão transitória da artéria pulmonar sobre %VSP_{TCDE} e FSP_{TCD} através da análise de modelos mistos lineares, ajustando o modelo para a ordem de realização dos experimentos ⁽⁹²⁾.
- i) Por fim, testamos a concordância entre estimativas quantitativas de volume sanguíneo perfundido obtidos pela TCDE e TCD através da análise de Bland-Altman ⁽⁹³⁾.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 MODELO DE LESÃO ALVEOLAR

O protocolo de lesão alveolar (Figura 17) esteve associado ao decréscimo global de 13,68% (IC 95% de 21,34% a 6,02%, $p < 0,001$) da %F_{Ar} pulmonar em animais do Grupo B em comparação com animais do Grupo A, após ajuste para decúbito e região pulmonar através da análise com modelo linear misto.

Imagens axiais tomográficas em janela pulmonar demonstrando três animais de cada um dos grupos, A (linha superior) e B (linha inferior). Note a marcada presença de opacidades em vidro fosco (asterisco) e espessamento de septos interlobulares (setas) nos animais do Grupo B, quando comparados com os animais do Grupo A. Fonte: Original do autor

Figura 17 - Efeitos do protocolo de lesão alveolar aguda

Em posição supina, notou-se um gradiente vertical positivo na %F_{Ar} da região dorsal para a região ventral tanto em animais do Grupo A (6,15%/região, $p < 0,001$), quanto em animais do Grupo B (5,77%/região, $p = 0,020$). Em posição prona, a distribuição de %F_{Ar} tornou-se menos heterogênea, não sendo identificados gradientes estatisticamente significativos nos Grupos A ou B ($p = 0,390$ e $p = 0,740$, respectivamente) (Figura 18).

Gradientes positivos são observados de dorsal para ventral em posição supina nos animais do Grupo A (6,15%/região, $p < 0,001$) e Grupo B (5,77%/região, $p = 0,02$). Os gradientes são anulados na posição prona tanto para animais do Grupo A ($p = 0,390$) quanto para animais do Grupo B ($p = 0,740$). Dados representados como média $\pm$ erro padrão. Fonte: Original do autor

Figura 18 - Gráfico de barras sobre os efeitos gravitacionais/de decúbito e da lesão alveolar aguda sobre a %F_{Ar}

5.2 TCDE × TCD: CORRELAÇÃO E CONCORDÂNCIA

A Figura 19 ilustra, lado-a-lado, os mapas brutos de $\%F_{\text{Sangue}}$ e FSP_B obtidos pela TCDE e TCD, respectivamente, em um dos animais do Grupo B.

Exemplo dos mapas de fluxo sanguíneo pulmonar bruto, FSP_B , e de fração de sangue ($\%F_{\text{Sangue}}$) obtidos, respectivamente, pela TCD e TCDE sob os diferentes cenários experimentais para o Animal #7. Note a concordância visual subjetiva para as distribuições da perfusão nos diferentes cenários. Estes mapas são pós-processados, sendo normalizados para a densidade do parênquima pulmonar. Fonte: Original do autor

Figura 19 - Mapas de perfusão pulmonar

A Figura 20 demonstra o gráfico de dispersão das medidas de $\%VSP_{TCDE}$ versus FSP_{TCD} sob diferentes condições experimentais, em todas as regiões pulmonares e para todos animais. Os coeficientes de correlação entre $\%VSP_{TCDE}$ e FSP_{TCD} tiveram um valor mediano de R igual a 0,60 (mínimo: 0,35; máximo: 0,91).

Dispersão do volume sanguíneo perfundido, $\%VSP_{TCDE}$ (%) versus fluxo sanguíneo pulmonar, FSP_{TCD} (em ml/100 g/min) para diferentes regiões pulmonares, sob diferentes condições experimentais. Cada animal é representado com cor única. Fonte: Original do autor

Figura 20 - Gráfico de dispersão $\%VSP_{TCDE} \times FSP_{TCD}$

A Figura 21 demonstra o gráfico de dispersão das medidas de $\%VSP_{TCDE}$ versus VSP_{TCD} sob diferentes condições experimentais, em todas as regiões pulmonares e para todos animais. Os coeficientes de correlação entre $\%VSP_{TCDE}$ e VSP_{TCD} tiveram um valor mediano de R igual a 0,66 (mínimo: 0,40; máximo: 0,87).

Dispersão do volume sanguíneo perfundido, $\%VSP_{TCDE}$ (%) versus volume sanguíneo pulmonar, VSP_{TCD} (em ml/100 g/min) para diferentes regiões pulmonares, sob diferentes condições experimentais. Cada animal é representado com cor única. Fonte: Original do autor

Figura 21 - Gráfico de Dispersão $\%VSP_{TCDE} \times VSP_{TCD}$

5.3 EFEITOS GRAVITACIONAIS E DE DECÚBITO SOBRE A HETEROGENEIDADE REGIONAL DA PERFUSÃO PULMONAR

Em animais do Grupo A, observou-se heterogeneidade perfusional entre as regiões dorsal e ventral dos pulmões em posição supina, demonstrada pela TCDE e TCD. Os gradientes dorsal-ventral foram $-12,24$ %/região ($p = 0,002$, Figura 22), $-141,2$ ml/100 g/min/região ($p < 0,001$, Figura 23) e $-5,79$ ml/100 g/min/região ($p < 0,001$, Figura 24) para $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , respectivamente.

Gráfico de barras mostrando os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o volume sanguíneo perfundido, $\%VSP_{TCDE}$ (dados representados como média $\pm$ erro padrão). Gradientes estatisticamente significativos foram observados da região dorsal para a ventral somente na posição supina ($-12,24$ %/região, $p=0,002$). Fonte: Original do autor

Figura 22 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre $\%VSP_{TCDE}$, Grupo A

Gráfico de barras demonstrando os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o fluxo sanguíneo pulmonar, FSP_{TCD} (dados apresentados como média $\pm$ erro padrão). Gradientes negativos são observados de dorsal para ventral somente na posição supina ($-141,2$ ml/100 g/min/região, $p < 0,001$). Fonte: Original do autor

Figura 23 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre FSP_{TCD}, Grupo A

Gráfico de barras demonstrando os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o volume sanguíneo pulmonar, VSP_{TCD} (dados apresentados como média $\pm$ erro padrão). Gradientes negativos são observados de dorsal para ventral somente na posição supina ($-5,79$ ml/100 g/min/região, $p<0,001$). Fonte: Original do autor

Figura 24 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre VSP_{TCD}, Grupo A

Em posição prona, houve redução da heterogeneidade regional da perfusão pulmonar aferida pela TCDE e TCD. Embora os valores obtidos nas regiões dorsais ainda tivessem sido absolutamente maiores que aqueles observados nas regiões ventrais, não existiram gradientes estatisticamente significativos para %VSP_{TCDE} ($p=0,052$, Figura 22), FSP_{TCD} ($p=0,080$ Figura 23) ou VSP_{TCD} ($p=0,070$, Figura 24).

5.4 EFEITOS DA LESÃO ALVEOLAR E DE DECÚBITO SOBRE A HETEROGENEIDADE REGIONAL DA PERFUSÃO REGIONAL

Em animais do Grupo B, observou-se heterogeneidade perfusional entre as regiões dorsal e ventral dos pulmões em posição supina, tanto pela TCDE quanto pela TCD. Os gradientes dorsal-ventral foram $-6,15 \text{ \%/região}$ ($p=0,013$, Figura 25), $-110,2 \text{ ml/100 g/min/região}$ ($p<0,001$, Figura 26) e $-3,9 \text{ ml/100 g/região}$ ($p<0,001$, Figura 27) para $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , respectivamente.

Gráfico de barras sobre os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o volume sanguíneo perfundido, $\%VSP_{TCDE}$ (dados representados como média $\pm$ erro padrão da média). Gradientes negativos são observados de dorsal para ventral tanto em posição supina ($-6,15 \text{ \%/região}$, $p=0,013$) quanto prona ($-9,04 \text{ \%/região}$, $p=0,007$) em animais do Grupo B. Fonte: Original do autor

Figura 25 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre $\%VSP_{TCDE}$, Grupo B

Gráfico de barras sobre os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o fluxo sanguíneo pulmonar, FSP_{TCD} (dados representados como média $\pm$ erro padrão). Gradientes negativos são observados de dorsal para ventral tanto em posição supina ($-110,2$ ml/100 g/min/região, $p<0,001$) quanto prona ($-52,0$ ml/100 g/min/região, $p<0,001$) em animais do Grupo B. Fonte: Original do autor

Figura 26 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre FSP_{TCD}, Grupo B

Gráfico de barras sobre os efeitos gravitacionais e de decúbito sobre o fluxo sanguíneo pulmonar, VSP_{TCD} (dados representados como média $\pm$ erro padrão). Gradientes negativos são observados de dorsal para ventral tanto em posição supina ($-3,9$ ml/100 g/região, $p<0,001$) quanto prona ($-1,9$ ml/100 g/min/região, $p=0,007$) em animais do Grupo B. Fonte: Original do autor

Figura 27 - Efeitos gravitacionais e de decúbito sobre VSP_{TCD}, Grupo B

Em contraste com animais do Grupo A, animais do Grupo B também demonstraram heterogeneidade regional da perfusão pulmonar dorso-ventral em posição prona, fenômeno confirmado pela TCDE e TCD. Os gradientes dorsal-ventral $-9,04\%/região$ ($p=0,007$, Figura 25), $-110,2$ ml/100 g/min/região ($p<0,001$, Figura 26) e $-1,9$ ml/100 g/min/região ($p=0,007$, Figura 27) para %VSP_{TCDE}, FSP_{TCD} e VSP_{TCD}, respectivamente.

5.5 ISQUEMIA INDUZIDA POR OCLUSÃO COM BALÃO

A oclusão de ramo da artéria pulmonar com balão de Swan-Ganz causou reduções significativas nos parâmetros de perfusão regional avaliados pela TCDE e pela TCD em comparação com os valores basais pré-oclusão. As reduções perfusionais distais à oclusão com balão foram de $-29,32\%$, $-86,78\%$ e $-84,75\%$ para medidas de $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , respectivamente. A redução percentual de $\%VSP_{TCDE}$ foi significativamente menor que aquela observada por FSP_{TCD} e VSP_{TCD} ($p < 0,001$, Figura 28).

Gráfico *boxplot* dos efeitos da oclusão da artéria pulmonar com balão de Swan-Ganz sobre a perfusão regional (dados representados como média $\pm$ erro padrão). Note que a redução percentual dos valores de perfusão pulmonar distal à oclusão é menor para a $\%VSP_{TCDE}$ em comparação com FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , levando-se em consideração as medidas regionais pré e durante a insuflação do balão ($N = 10$, $p < 0,001$) (•, *outlier*). Fonte: Original do autor

Figura 28 - Redução perfusional causada pela oclusão da artéria pulmonar

5.6 EFEITOS INCREMENTAIS DAS INJEÇÕES SEQUENCIAIS DE MEIO DE CONTRASTE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE IODO TECIDUAL E SANGUÍNEA

Apesar da utilização de um intervalo de *washout* de 15 minutos entre as injeções do meio de contraste iodado, observou-se progressivo aumento da densidade de iodo tecidual, mensurado na musculatura paravertebral, assim como no compartimento intravascular, mensurado no lúmen da artéria pulmonar através da TCDE (Figura 29).

Gráfico de tendência linear da densidade de iodo tecidual e sanguínea ao longo das injeções sequenciais do meio de contraste (média $\pm$ erro padrão). Note o incremento estatisticamente significativo nas densidades de iodo tecidual ($p<0,001$) e sanguíneo ($p<0,001$) entre as injeções do meio de contraste. Fonte: Original do autor

Figura 29 - Densidade de iodo tecidual e sanguínea por experimento

Os aumentos médios da densidade tecidual e sanguínea de iodo foram de $1,83 \times 100 \mu\text{g/cc}$ ($p < 0,001$) e $7,01 \times 100 \mu\text{g/cc}$ ($p < 0,001$) entre cada um dos experimentos, respectivamente. Assim sendo, os efeitos do aumento da densidade de iodo causado por injeções sequenciais do meio de contraste tiveram que ser ajustados nas análises com modelos mistos lineares.

5.7 ANÁLISE DE MÚLTIPLAS VARIÁVEIS

Os resultados da análise linear com modelos mistos estão organizados nas Tabelas 1, 2 e 3, refletindo os efeitos de múltiplas variáveis sobre $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , respectivamente.

Tabela 1 - $\%VSP_{TCDE}$: modelo linear misto

Efeitos fixos	Coeficiente	IC 95%	p-valor
Região média (Ref: dorsal)	-6,73	-9,94; -3,53	<0,001
Região ventral (Ref: dorsal)	-16,70	-19,90; -13,49	<0,001
Região dorsal prona (Ref: supina)	-0,06	-3,56; 3,43	NS
Região média prona (Ref: supina)	6,22	2,73; 9,71	<0,001
Região ventral prona (Ref: supina)	5,14	1,65; 8,63	0,004
Lesão alveolar (Ref: controles)	-0,04	-9,09; 9,01	NS
Oclusão da artéria pulmonar	-5,24	-7,59; -2,89	<0,001
Ordem do experimento	-0,82	-1,86; 0,22	NS
Intercepto	32,08	25,47; 38,69	<0,001

NS: Sem significância estatística

Tabela 2 - FSP_{TCD}: modelo linear misto

Efeitos fixos	Coefficiente	IC 95%	p-valor
Região média (Ref: dorsal)	-136,80	-163,59; -110,01	<0,001
Região ventral (Ref: dorsal)	-203,90	-230,69; -177,11	<0,001
Região dorsal prona (Ref: supina)	-100,75	-129,93; -71,57	<0,001
Região média prona (Ref: supina)	-10,77	-39,95; 18,41	NS
Região ventral prona (Ref: supina)	21,64	-7,54; 50,82	NS
Lesão alveolar (Ref: controles)	-20,54	-49,71; 8,62	NS
Oclusão da artéria pulmonar	-101,63	-121,27; -81,99	<0,001
Ordem do experimento	11,57	2,92; 20,22	0,009
Intercepto	244,52	214,19; 274,84	<0,001

NS: Sem significância estatística

Tabela 3 - VSP_{TCD}: modelo linear misto

Efeitos fixos	Coefficiente	IC 95%	p-valor
Região média (Ref: dorsal)	-5,19	-6,35; -4,03	<0,001
Região ventral (Ref: dorsal)	-7,65	-8,80; -6,49	<0,001
Região dorsal prona (Ref: supina)	-4,06	-5,32; -2,80	<0,001
Região média prona (Ref: supina)	-0,18	-1,43; 1,09	NS
Região ventral prona (Ref: supina)	1,38	0,11; 2,64	0,030
Lesão alveolar (Ref: controles)	-1,43	-2,66; -0,20	0,030
Oclusão da artéria pulmonar	-4,90	-5,75; -4,05	<0,001
Ordem do experimento	0,33	-0,05; 0,70	NS
Intercepto	11,01	9,71; 12,31	<0,001

NS: Sem significância estatística

A análise multivariada está em concordância com o modelo regional de heterogeneidade pulmonar dorso-ventral observado durante a análise univariada. Houve concordância entre os efeitos observados para a TCDE e TCD. De acordo com o modelo, o $\%VSP_{TCDE}$ foi em média 6,73 % e 16,70 % menor nas regiões média ($p<0,001$) e ventral ($p<0,001$) em relação à região dorsal, respectivamente. Observaram-se reduções de FSP_{TCD} médias de 136,80 ml/100 g/min e 203,90 ml/100 g/min nas regiões média ($p<0,001$) e ventral ($p<0,001$), em relação à região dorsal, respectivamente. Similarmente, houve reduções de VSP_{TCD} médias de 5,19 ml/100 g e 7,65 ml/100 g nas regiões média ($p<0,001$) e ventral ($p<0,001$).

Os efeitos causados pela mudança de decúbito da posição supina para a prona apresentaram discordâncias entre os parâmetros acessados pela TCDE e TCD. Com a mudança de decúbito, não se observou diferença estatisticamente significativa do $\%VSP_{TCDE}$ na região dorsal, embora o $\%VSP_{TCDE}$ tenha aumentado em média 6,22 % ($p<0,001$) e 5,14 % ($p=0,004$) nas regiões média e ventral, respectivamente. Em contraste, a mudança de decúbito causou decréscimo médio de FSP_{TCD} de 100,75 ml/100 g/min na região dorsal, não sendo observadas mudanças estatisticamente significativas nas regiões média e dorsal. Por fim, a mudança de decúbito causou um decréscimo médio de VSP_{TCD} 4,06 ml/100 g na região dorsal e um aumento médio de 1,38 ml/100 g na região ventral, sem alterações estatisticamente significativas na região média.

O modelo de lesão alveolar causou reduções não significativas do $\%VSP_{TCDE}$ e FSP_{TCD} . O único parâmetro a demonstrar redução nos animais

do Grupo B em relação aos do Grupo A foi o VSP_{TCD} , reduzido em média 1,43 ml/100 g ($p=0,030$).

O modelo de oclusão da circulação pulmonar causou reduções do $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} , com reduções médias respectivas de 5,24 %, 101,64 ml/100 g/min e 4,90 ml/100 g durante a oclusão com balão de Swan-Ganz, sendo a redução do $\%VSP_{TCDE}$ significativamente menor que as reduções do FSP_{TCD} e VSP_{TCD} ($p<0,001$).

5.8 LIMITES DE CONCORDÂNCIA TCDE QUANTITATIVA E TCD

A estimativa regional do volume sanguíneo pulmonar quantificada pela TCDE (VSP_{TCDE}) para as diversas condições experimentais em ambos os grupos demonstrou um viés médio de 4,3 ml/100g em relação ao VSP_{TCD} , com limites de concordância 95% entre -16,6 ml/100g e 25,1 ml/100g. A Figura 30 demonstra a análise gráfica de Bland-Altman entre VSP_{TCDE} e VSP_{TCD} .

Gráfico de Bland e Altman entre VSP_{TCDE} e VSP_{TCD} para diferentes regiões pulmonares, sob diferentes condições experimentais. Linhas tracejadas demonstram o viés médio e o intervalo de confiança de 95% ($\pm 1,96$ desvios-padrão). Fonte: Original do autor

Figura 30 - Limites de concordância, $VSP_{TCDE} \times VSP_{TCD}$

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Nosso estudo objetivou avaliar a tomografia computadorizada de dupla-energia como biomarcador da perfusão pulmonar, utilizando experimentos para explorar a heterogeneidade fisiológica intrínseca dos pulmões sob diferentes decúbitos, e introduzindo fatores que acentuam esta heterogeneidade, i.e., lesão alveolar aguda e oclusão da circulação pulmonar. Os resultados deste estudo confirmam e expandem o entendimento do valor da tomografia computadorizada como método de imagem apto para o estudo de doenças como o tromboembolismo pulmonar ⁽⁸⁷⁾ e a SDRA ^(94, 95).

6.1 COMPARAÇÃO ENTRE TCDE E TCD

Métodos que utilizam microesferas marcadas são classicamente considerados como padrão de referência para a análise da perfusão pulmonar ⁽⁹⁶⁾. Entretanto, sua aplicação depende da amostragem histológica *post mortem* do tecido pulmonar, fator limitante para a aplicação em modelos animais e em humanos. A perfusão de primeira passagem pela TCD foi escolhida como o método de referência neste estudo ^(12, 97) por permitir a execução de etapas sequenciais de avaliação da perfusão sob diversas condições experimentais ^(15, 16, 27), resultando assim em um menor número efetivo necessário de animais sacrificados.

Em uma série de estudos, Thieme et al. ⁽²⁴⁻²⁶⁾ demonstraram que a TCDE é capaz de avaliar a distribuição tecidual do iodo no tecido pulmonar após a injeção do meio de contraste, parâmetro que se aproximaria da perfusão pulmonar em pacientes com TEP, utilizando curto tempo de aquisição (e.g., ao redor de 10 segundos) e aquisição simultânea de imagens com alta resolução das artérias e do parênquima pulmonar. Com efeito, tais informações estão disponíveis a partir exames clínicos de angiotomografia computadorizada pulmonar, e não requerem reinjeção de meio de contraste, tampouco exposição adicional à radiação ionizante.

Fuld et al. ⁽²⁷⁾ utilizaram um modelo suíno para avaliar aos valores semiquantitativos obtidos pela TCDE contra valores quantitativos obtidos pela perfusão de primeira passagem com TCD de primeira passagem utilizando dois modelos, um que inclui a oclusão da circulação pulmonar e outro que avalia o efeito de diferentes estados de expansão pulmonar sobre a heterogeneidade perfusional. Os resultados de nosso estudo são consistentes com estas observações, e confirmam que estimativas semiquantitativas da perfusão pulmonar avaliadas pela TCDE (i.e. $\%VSP_{TCDE}$) são não somente correlacionadas com o fluxo sanguíneo pulmonar ($R = 0,60$), como também com o volume sanguíneo pulmonar ($R = 0,66$), levando-se em consideração todos os fatores causais de heterogeneidade perfusional investigados. Até o limite do nosso conhecimento, nosso estudo foi o primeiro a demonstrar a viabilidade da TCDE como método puramente quantitativo, capaz de estimar o volume sanguíneo pulmonar utilizando uma única aquisição de imagem após a injeção do meio de contraste iodado. Nossos resultados apontam para

um erro médio da estimativa do volume sanguíneo pulmonar pela TCDE de 4,3 ml/100g em relação à TCD. O amplo intervalo de confiança de 95% observado (–16,6 ml/100g e 25,1 ml/100g) representaria uma variação maior que 100% do valor de VSP_{TCD} na região dorsal (i.e., aquela com maior de VSP_{TCD}), o que limitaria tanto sua aplicação experimental quanto clínica. Portanto, os resultados de nosso estudo reforçam a utilização de métodos semiquantitativos da perfusão pulmonar com a TCDE, que apresentam simplicidade metodológica enquanto mantêm moderada correlação com a perfusão pulmonar auferida pela TCD.

6.2 A TCDE E O MODELO GRAVITACIONAL

Estudos fisiológicos clássicos já haviam demonstrado que a função pulmonar é regionalmente heterogênea e não relacionada à segmentação anatômica ^(3, 98-100). Além disso, muitos destes estudos demonstraram a influência da postura e dos efeitos gravitacionais sobre a função pulmonar por meio de métodos de imagem, sugerindo que tanto ventilação quanto perfusão são preferencialmente direcionados para regiões dependentes dos pulmões ^(4, 100-105). A teoria para este modelo gravitacional postula que a perfusão pulmonar depende das interrelações entre a pressão de perfusão da artéria pulmonar e as resistências regionais geradas por gradientes locais de resistência tecidual ⁽⁴⁾ e pressão alveolar ⁽¹⁰⁶⁾. Este modelo, inicialmente descrito por West ⁽¹⁰⁷⁾, divide os pulmões em três zonas estratificadas verticalmente e com perfusões progressivamente maiores das regiões não

dependentes para as dependentes. Na zona 1 (não-dependente), os valores de pressão alveolar são maiores que os valores de pressão arterial, que por sua vez são maiores que os valores de pressão venosa; na zona 2 (intermédia), os valores de pressão arterial são maiores que os valores de pressão alveolar, que por sua vez são maiores os valores de pressão venosa, na zona 3 (dependente), os valores de pressão arterial são maiores que os valores de pressão venosa, que por sua vez são maiores que os valores de pressão alveolar ⁽¹⁰⁸⁾ (Figura 31). Hughes et al. ⁽⁴⁾ investigaram a presença de uma quarta zona na região subpleural dependente, que apresenta com comportamento variável de acordo com o grau de insuflação pulmonar.

Em nosso estudo, a TCDE foi capaz de demonstrar o modelo de perfusão estratificada de três zonas proposto por West na posição supina. O %VSP_{TCDE} na região dorsal em posição supina foi significativamente maior que nas regiões média e ventral nas análises univariada e multivariada, fato também demonstrado pelo método de referência (TCD) e em concordância com resultados prévios de Won et al. ⁽¹⁵⁾ e Chon et al. ⁽¹⁶⁾ em modelos animais. A análise multivariada foi utilizada neste estudo com o intuito de tratar potenciais fatores de confusão secundários aos variados procedimentos experimentais, incluindo injeções repetidas do meio de contraste. Tais achados comprovam a capacidade da TCDE em demonstrar os efeitos do modelo gravitacional sobre a perfusão nos pulmões.

Esquema simplificado do modelo de perfusão pulmonar e três zonas. A pressão alveolar é responsável pelo aumento progressivo da resistência do capilar pulmonar da região basal (zona 3) para a região apical (zona 1). A perfusão pulmonar é menor na região não-dependente (zona 1), aumentando progressivamente em direção à região gravitacional dependente (zona 3). Fonte: Modificado de West ⁽¹⁰⁷⁾

Figura 31 - Modelo perfusional regional pulmonar

Mais recentemente, estudos em modelos animais e em humanos utilizando métodos de imagem com maior resolução espacial sugerem que a distribuição vertical da perfusão pulmonar é apenas parcialmente justificada por efeitos gravitacionais, e que elementos anatômicos possuem papel similarmente importante no modelo da heterogeneidade perfusional pulmonar ⁽¹⁰⁹⁻¹¹⁵⁾. Outros estudos demonstram maior homogeneização da perfusão pulmonar na região prona ^(116, 117), e justificam, por exemplo, a existência de relação ventilação-perfusão mais favorável em pacientes com a SDRA ventilados em posição prona, como discutido posteriormente. Nossos resultados, obtidos por ambos os métodos (TCDE e TCD), estão em total concordância com tais estudos. Diferentemente do esperado para o modelo

puramente gravitacional, onde se esperaria a reversão do gradiente dorsal-ventral após a mudança de decúbito da posição supina para a prona, ambos os métodos revelaram homogeneização da perfusão regional pulmonar sem reversão do gradiente. A análise multivariada foi capaz de demonstrar peculiaridades no comportamento de $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} após a mudança de decúbito. Nota-se que a homogeneização do $\%VSP_{TCDE}$ se deve ao aumento dos valores nas regiões média e ventral na região prona, a homogeneização do FSP_{TCD} se deve à redução da perfusão da região dorsal, e a homogeneização do VSP_{TCD} é resultado da redução dos valores dorsais e aumento dos valores ventrais. É plausível que tais diferenças possam refletir características distintas dos fenômenos fisiológicos mensurados por cada um dos biomarcadores, embora tal hipótese não tenha sido diretamente testada neste estudo. Com efeito, diferenças no volume sanguíneo tecidual são particularmente mais sensíveis nos pulmões que em órgão sólidos, fato corroborado pela observação de que o volume de sangue corresponde a mais da metade do peso líquido pulmonar ⁽¹¹⁸⁾. Tais diferenças na distribuição do volume sanguíneo pulmonar podem em parte explicar as diferenças observadas no comportamento de $\%VSP_{TCDE}$, FSP_{TCD} e VSP_{TCD} da posição prona para a supina através da análise multivariada.

A avaliação regional da perfusão pulmonar impõe desafios metodológicos únicos inerentes à microarquitetura do órgão. Enquanto as densidades de órgão sólidos se aproximam de 1 g/cm^3 ⁽¹¹⁹⁾, a densidade pulmonar média estimada por TC é de aproximadamente $0,26 \text{ g/cm}^3$ ⁽¹²⁰⁾. Assim sendo, medidas de perfusão brutas aferidas em órgão sólidos, como o

fígado ou cérebro, se aproximam da perfusão corrigida para a densidade tecidual, mas diferem sensivelmente da perfusão tecidual nos pulmões. Os gradientes perfusionais observados poderiam estar relacionados não às diferenças regionais de condutância, mas a diferenças na densidade efetiva ou compressibilidade do parênquima pulmonar. Por exemplo, Prisk et al. ⁽¹²¹⁾ demonstraram diferentes compressibilidades do parênquima pulmonar nas regiões ventral e dorsal. Seus resultados mostram que a redução da densidade na região dorsal foi maior que o aumento da densidade pulmonar na região ventral em posição prona.

Hopkins et al. ⁽¹⁰⁾, utilizaram a RM para analisar os efeitos da correção das medidas brutas de perfusão pela densidade tecidual utilizando *arterial spin labeling* e imagens de densidade de prótons. Os autores sugerem que o fenômeno de heterogeneidade perfusional na posição supina (zonas de West) pode ser, em parte explicado, pelos efeitos de deformação gravitacional do parênquima pulmonar ⁽¹⁰⁾. Petersson et al. ⁽¹²²⁾ chegaram à mesma conclusão utilizando um modelo de perfusão com SPECT e macroagregados de albumina marcados com 99m-Tc em humanos. Para contabilizar a variável da compressibilidade do parênquima pulmonar, utilizamos a densidade pulmonar medida pela TC para ajustar os valores quantitativos de FSP_{TCD} , VSP_{TCD} e VSP_{TCDE} . Entretanto, diferentemente dos resultados de Hopkins et al. ⁽¹⁰⁾, nossos resultados estão de acordo com métodos que empregam alta resolução espacial, indicando que o efeito gravitacional é menos importante que a condutância intrínseca da árvore vascular na determinação do fluxo sanguíneo pulmonar ⁽¹²³⁻¹²⁵⁾.

O principal objetivo terapêutico em pacientes com insuficiência respiratória é prover o melhor balanço entre a ventilação e perfusão, de modo a otimizar a troca gasosa. Entretanto, uma das complicações da ventilação mecânica é uma maior ventilação da região não-dependente ⁽¹²⁶⁾, o que pode levar a desequilíbrios da relação V/Q. O impacto destes achados fisiológicos, e mais importante, a possibilidade de analisá-los por meio de biomarcadores clínicos não invasivos, permitiria a personalização de estratégias de ventilação mais adequadas para cada indivíduo de acordo com suas necessidades, aproximando tal prática da proposta medicina de precisão ⁽¹²⁷⁾.

Embora o modelo suíno tenha sido escolhido em virtude de sua similaridade anatômica e fisiológica com humanos ⁽¹²⁸⁾, nosso estudo somente pode inferir que a relativa independência dos efeitos gravitacionais sobre a perfusão regional pulmonar ocorram de maneira similar entre suínos e humanos. Eventuais diferenças estruturais relacionadas às posturas mais comuns de cada espécie (i.e., prona e ereta, respectivamente), poderiam levar a diferentes resultados caso nosso protocolo fosse aplicado em humanos. Entretanto, múltiplos estudos mostram concordância dos achados de perfusão regional pulmonar em suínos e humanos ^(10, 115, 122), sugerindo que tais diferenças, caso existentes, são mínimas e provavelmente irrelevantes para nossas conclusões.

6.3 A TCDE E O MODELO DE LESÃO ALVEOLAR AGUDA

Dentro do amplo espectro de doenças parenquimatosas pulmonares, a SDRA se destaca como uma condição frequente e com alta mortalidade em pacientes críticos ^(129, 130). Ela é caracterizada por uma resposta estereotipada a diferentes fatores, culminando em lesão aguda alveolar, perda da complacência pulmonar e hipoxemia ^(131, 132). Em nosso modelo, a lavagem broncoalveolar com salina causa depleção do surfactante e redução da complacência alveolar ⁽¹³³⁾, enquanto a subsequente ventilação com alta variação pressórica é responsável por gerar a reação inflamatória e dano alveolar ^(134, 135). A TCDE foi capaz de demonstrar de forma quantitativa o efeito prático deste protocolo, ou seja, a redução global de aproximadamente 14% da $\%F_{Ar}$ no parênquima pulmonar entre animais do grupo A e B. Tal redução se aproxima do valor de 19% de redução do volume de ar observado por Fernandez-Bustamente et al. ⁽¹³⁶⁾ em um modelo de lesão alveolar causada por endotoxina em ovinos. Com efeito, a lesão alveolar causada pela ventilação mecânica em modelos animais não difere do dano alveolar difuso observado na SDRA ⁽¹³⁷⁻¹³⁹⁾. Estudos histopatológicos em suínos demonstraram a semelhança entre a lesão observada após ventilação com altas pressões inspiratórias (40 cm H₂O) e a SDRA ⁽¹⁴⁰⁾.

Nossos resultados demonstraram que a lesão alveolar não altera a concordância entre as medidas perfusionais da TCDE e TCD. Como vimos, os gradientes dorso-ventral foram estatisticamente significativos não só na posição supina, como também na prona em animais do grupo B. Em contraste, a aeração pulmonar demonstra um gradiente reverso à perfusão pulmonar dorso-ventral tanto em animais do grupo A quanto em animais do grupo B, de

acordo com o observado previamente em humanos com SDRA ⁽¹⁴¹⁾, ambas se tornando mais homogêneas na posição prona. Tal observação está de acordo com o fenômeno de melhoria da oxigenação que ocorre em cerca de 70% dos pacientes com SDRA ventilados em posição prona ⁽¹⁴²⁻¹⁴⁴⁾, resultante da melhor perfusão de regiões mais bem ventiladas do parênquima pulmonar (i.e. otimização da relação V/Q) ^(115, 145, 146).

A heterogeneidade perfusional observada em animais do Grupo B podem ser explicadas pelo fenômeno de vasoconstricção hipóxica, que é fundamental para a manutenção da relação V/Q pela distribuição da perfusão para regiões mais profundas ⁽¹⁴⁷⁾. Alguns estudos demonstraram que a vasoconstricção hipóxica não é um fenômeno uniforme ^(148, 149), e que modelos suínos são particularmente susceptíveis aos efeitos da vasoconstricção hipóxica em relação a outros modelos animais ⁽¹⁵⁰⁾. Easley et al. ⁽¹⁵¹⁾ demonstraram que a TCD é capaz de avaliar as redistribuições da perfusão pulmonar decorrentes da lesão alveolar. A lesão por múltiplas lavagens mantém preservado este reflexo, com redistribuição das regiões aereadas para não aeradas ⁽¹⁵¹⁾. Utilizar a TCDE para avaliar ajustes da perfusão tecidual decorrentes da vasoconstricção hipóxica já foi demonstrado como potencial biomarcador de susceptibilidade para o desenvolvimento do enfisema centrolobular em fumantes ⁽⁷³⁾.

A TC convencional já vem sendo utilizada rotineiramente para a adequação de estratégias de ventilação, como o monitoramento do recrutamento alveolar em pacientes com SDRA ⁽¹⁵²⁾. Nossos resultados ampliam a perspectiva da utilização clínica da TCDE como ferramenta para

avaliação não só dos efeitos do recrutamento, como também da adequação da relação V/Q através da análise concomitante da perfusão pulmonar.

6.4 A TCDE E O MODELO DE EMBOLIA PULMONAR

Por fim, nosso modelo também confirmou a capacidade do $\%VSP_{TCDE}$ em detectar reduções da perfusão pulmonar causadas por obstrução ao fluxo em ramos da artéria pulmonar, assemelhando-se ao fenômeno observado no TEP. Um grande número de estudos clínicos e experimentais demonstram que parâmetros semiquantitativos/quantitativos obtidos por TCDE fornecem informações sobre a perfusão pulmonar no cenário de investigação do TEP. Por exemplo, a quantificação do volume sanguíneo perfundido utilizando a TCDE provou valor adicional na estratificação do risco clínico em pacientes com tromboembolismo pulmonar, sendo inversamente correlacionado à carga de trombos, parâmetros laboratoriais de gravidade e necessidade de internação em unidades de terapia intensiva ⁽⁸⁷⁾. Outros estudos clínicos também identificaram a utilidade de estimativas da perfusão pulmonar por TCDE na estratificação de risco em pacientes com tromboembolismo pulmonar ^(59, 153-155). Fuld et al. ⁽²⁷⁾, utilizando um modelo suíno similar de oclusão com balão da artéria pulmonar reportaram forte correlação entre medidas da perfusão pulmonar por TCD e TCDE, embora nossos resultados tenham demonstrado que reduções do $\%VSP_{TCDE}$ tenham sido menores que aquelas detectadas por FSP_{TCD} durante a oclusão com o balão de Swan-Ganz.

6.5 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Algumas limitações metodológicas devem ser reconhecidas em nosso estudo. A primeira delas se relaciona à opção pela perfusão de primeira passagem como padrão de referência na avaliação da perfusão pulmonar. Embora conte com as vantagens metodológicas já discutidas, a perfusão de primeira passagem e a TCDE pode ter sido influenciada pelo protocolo de múltiplas injeções do meio de contraste (Figura 23). Nós contabilizamos os efeitos das múltiplas injeções nos modelos multivariados, não havendo discordância significativa em relação aos resultados observados na análise univariada. Além disso, se tanto, os efeitos de múltiplas injeções só viriam a subestimar a acurácia da TCDE, tendo em vista que apenas uma injeção de meio de contraste é necessária em estudos clínicos.

Embora nosso modelo de lesão alveolar tenha se comportado similarmente às observações da literatura, cabe ressaltar que não se obteve confirmação histopatológica dos efeitos de lesão alveolar. Além disso, é importante notar que a heterogeneidade perfusional gerada em nosso modelo animal pode diferir daquela observada em humanos com SDRA ⁽¹⁵⁶⁾.

Todas as nossas comparações entre TCDE e TCD se limitaram a uma secção de 5 mm de espessura através das bases pulmonares, acima do diafragma. Tal limitação se deve principalmente à inerente reduzida extensão de varredura da TCD no eixo longitudinal (extensão máxima de 8 cm no respectivo tomógrafo). É importante notar que a varredura da TCDE cobre a

extensão do tórax, sendo naturalmente favorável à avaliação da perfusão global pulmonar.

Por fim, ao menos três fatores podem ter contribuído para as diferenças de detecção de alterações da perfusão pulmonar observadas entre a TCDE e a TCD. O protocolo de injeção de contraste foi diferente entre os dois tipos de aquisição, com taxas maiores de administração no protocolo TCD. Além disso, estimativas da perfusão pulmonar por TCDE podem ter sido influenciados por efeitos da circulação das artérias brônquicas. Estes fatores podem ter influenciado, em parte, as diferenças entre o $\%VSP_{TCDE}$ e o FSP_{TCD} . Além disso, é possível que apesar de correlatos, os fenômenos representados por $\%VSP_{TCDE}$ e FSP_{TCD} reflitam diferentes fenômenos fisiológicos. Enquanto a perfusão de primeira passagem, i.e., FSP_{TCD} é função do aporte de sangue, e consequentemente do meio de contraste, $\%VSP_{TCDE}$ reflete a quantidade de meio de contraste distribuída na circulação pulmonar em um dado momento. Apesar de as imagens terem sido propositalmente adquiridas após um *delay* fixo, variáveis diversas, tais como volemia e parâmetros hemodinâmicos do animal podem ter influenciado os resultados.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

1. Existe moderada correlação entre os valores de perfusão pulmonar semiquantitativos estimados pela TCDE em comparação com os parâmetros quantitativos de fluxo ($R = 0,60$) e volume sanguíneo ($R = 0,66$) obtidos pela TCD sob diferentes condições experimentais.
2. Os parâmetros perfusionais obtidos pela TCDE e pela TCD são concordantes, demonstrando gradientes perfusionais dorso-ventral na posição supina, apenas parcialmente explicados pelo modelo gravitacional de West dada a homogeneização da perfusão regional em posição prona.
3. A heterogeneidade perfusional nos animais com lesão alveolar foi similarmente demonstrada pela TCDE e pela TCD nas posições supina e prona. A distribuição perfusional preferencial para a região não-dependente em posição prona é consistente com o fenômeno de melhoria da relação V/Q e consequente oxigenação observada em estudos clínicos.
4. A TCDE é capaz de detectar reduções perfusionais causadas pela oclusão da circulação pulmonar, embora a redução perfusional detectada pelo método seja menor que aquela mensurada pela perfusão de primeira passagem avaliada pela TCD.

5. Estimativas quantitativas do volume sanguíneo pulmonar obtidas pela TCDE na presente implementação apresentam pequeno erro médio, mas grande variância em relação aos valores referenciais obtidos pela TCD, limitando sua aplicabilidade experimental ou clínica.

8 ANEXOS

8 ANEXOS

Anexo 1 - Carta de aprovação do projeto de pesquisa no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A CEUA do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 29/05/2014, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **064/14** intitulado: **“Parâmetros Quantitativos Obtidos por Tomografia Computadorizada de Dupla-Energia na Avaliação da Perfusão Pulmonar em Modelo Experimental de Embolia e Lesão Pulmonar”** que utilizará **10** animais da espécie **Suíno**, apresentado pelo **DEPARTAMENTO DE RADIOLOGIA**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a CEUA-FMUSP, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei Nº 11.794 -8 de outubro de 2008).

Pesquisador (a) Responsável: Edson Amaro Júnior

Pesquisador (a) Executante: Fernando Uliana Kay

CEUA-FMUSP, 29 de Maio de 2014.

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

9 REFERÊNCIAS

9 REFERÊNCIAS

1. West JB. State of the art: ventilation-perfusion relationships. *Am Rev Respir Dis.* 1977;116(5):919-43.
2. Hopkins SR, Wielputz MO, Kauczor HU. Imaging lung perfusion. *J Appl Physiol* (1985). 2012;113(2):328-39.
3. West JB, Dollery CT, Hugh-Jones P. The use of radioactive carbon dioxide to measure regional blood flow in the lungs of patients with pulmonary disease. *J Clin Invest.* 1961;40:1-12.
4. Hughes JM, Glazier JB, Maloney JE, West JB. Effect of lung volume on the distribution of pulmonary blood flow in man. *Respir Physiol.* 1968;4(1):58-72.
5. Petersson J, Rohdin M, Sanchez-Crespo A, Nyren S, Jacobsson H, Larsson SA, et al. Regional lung blood flow and ventilation in upright humans studied with quantitative SPECT. *Respir Physiol Neurobiol.* 2009;166(1):54-60.
6. Vidal Melo MF, Winkler T, Harris RS, Musch G, Greene RE, Venegas JG. Spatial heterogeneity of lung perfusion assessed with (13)N PET as a vascular biomarker in chronic obstructive pulmonary disease. *J Nucl Med.* 2010;51(1):57-65.
7. Mintun MA, Ter-Pogossian MM, Green MA, Lich LL, Schuster DP. Quantitative measurement of regional pulmonary blood flow with positron emission tomography. *J Appl Physiol* (1985). 1986;60(1):317-26.

8. Maddahi J, Packard RR. Cardiac PET perfusion tracers: current status and future directions. *Semin Nucl Med*. 2014;44(5):333-43.
9. Mai VM, Hagspiel KD, Christopher JM, Do HM, Altes T, Knight-Scott J, et al. Perfusion imaging of the human lung using flow-sensitive alternating inversion recovery with an extra radiofrequency pulse (FAIRER). *Magn Reson Imaging*. 1999;17(3):355-61.
10. Hopkins SR, Henderson AC, Levin DL, Yamada K, Arai T, Buxton RB, et al. Vertical gradients in regional lung density and perfusion in the supine human lung: the Slinky effect. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103(1):240-8.
11. Jaschke W, Gould RG, Assimakopoulos PA, Lipton MJ. Flow measurements with a high-speed computed tomography scanner. *Med Phys*. 1987;14(2):238-43.
12. Hoffman EA, Tajik JK, Kugelmass SD. Matching pulmonary structure and perfusion via combined dynamic multislice CT and thin-slice high-resolution CT. *Comput Med Imaging Graph*. 1995;19(1):101-12.
13. Gould RG, Lipton MJ, McNamara MT, Sievers RE, Koshold S, Higgins CB. Measurement of regional myocardial blood flow in dogs by ultrafast CT. *Invest Radiol*. 1988;23(5):348-53.
14. Ludman PF, Coats AJ, Burger P, Yang GZ, Poole-Wilson PA, Underwood SR, et al. Validation of measurement of regional myocardial perfusion in humans by ultrafast x-ray computed tomography. *Am J Card Imaging*. 1993;7(4):267-79.
15. Won C, Chon D, Tajik J, Tran BQ, Robinswood GB, Beck KC, et al. CT-based assessment of regional pulmonary microvascular blood flow parameters. *J Appl Physiol* (1985). 2003;94(6):2483-93.

16. Chon D, Beck KC, Larsen RL, Shikata H, Hoffman EA. Regional pulmonary blood flow in dogs by 4D-X-ray CT. *J Appl Physiol* (1985). 2006;101(5):1451-65.
17. Shan F, Xing W, Qiu J, Zhang Z, Yang S. First-pass CT perfusion in small peripheral lung cancers: effect of the temporal interval between scan acquisitions on the radiation dose and quantitative vascular parameters. *Acad Radiol*. 2013;20(8):972-9.
18. Mettler FA, Huda W, Yoshizumi TT, Mahesh M. Effective doses in radiology and diagnostic nuclear medicine: a catalog. *Radiology*. 2008;248(1):254-63.
19. Pontana F, Faivre JB, Remy-Jardin M, Flohr T, Schmidt B, Tacelli N, et al. Lung perfusion with dual-energy multidetector-row CT (MDCT): feasibility for the evaluation of acute pulmonary embolism in 117 consecutive patients. *Acad Radiol*. 2008;15(12):1494-504.
20. Chae EJ, Song JW, Seo JB, Krauss B, Jang YM, Song KS. Clinical utility of dual-energy CT in the evaluation of solitary pulmonary nodules: initial experience. *Radiology*. 2008;249(2):671-81.
21. Hounsfield GN. Computerized transverse axial scanning (tomography). 1. Description of system. *Br J Radiol*. 1973;46(552):1016-22.
22. McCollough CH, Leng S, Yu L, Fletcher JG. Dual- and Multi-Energy CT: Principles, Technical Approaches, and Clinical Applications. *Radiology*. 2015;276(3):637-53.
23. Liu X, Yu L, Primak AN, McCollough CH. Quantitative imaging of element composition and mass fraction using dual-energy CT: three-material decomposition. *Med Phys*. 2009;36(5):1602-9.

24. Thieme SF, Johnson TR, Lee C, McWilliams J, Becker CR, Reiser MF, et al. Dual-energy CT for the assessment of contrast material distribution in the pulmonary parenchyma. *AJR Am J Roentgenol*. 2009;193(1):144-9.
25. Thieme SF, Becker CR, Hacker M, Nikolaou K, Reiser MF, Johnson TR. Dual energy CT for the assessment of lung perfusion--correlation to scintigraphy. *Eur J Radiol*. 2008;68(3):369-74.
26. Thieme SF, Graute V, Nikolaou K, Maxien D, Reiser MF, Hacker M, et al. Dual Energy CT lung perfusion imaging--correlation with SPECT/CT. *Eur J Radiol*. 2012;81(2):360-5.
27. Fuld MK, Halawish AF, Haynes SE, Divekar AA, Guo J, Hoffman EA. Pulmonary perfused blood volume with dual-energy CT as surrogate for pulmonary perfusion assessed with dynamic multidetector CT. *Radiology*. 2013;267(3):747-56.
28. Zhang LJ, Chai X, Wu SY, Zhao YE, Hu XB, Hu YX, et al. Detection of pulmonary embolism by dual energy CT: correlation with perfusion scintigraphy and histopathological findings in rabbits. *Eur Radiol*. 2009;19(12):2844-54.
29. Zhang LJ, Yang GF, Wu SY, Xu J, Lu GM, Schoepf UJ. Dual-energy CT imaging of thoracic malignancies. *Cancer Imaging*. 2013;13:81-91.
30. Alvarez RE, Macovski A. Energy-selective reconstructions in X-ray computerized tomography. *Phys Med Biol*. 1976;21(5):733-44.
31. Macovski A, Alvarez RE, Chan JL, Stonestrom JP, Zatz LM. Energy dependent reconstruction in X-ray computerized tomography. *Comput Biol Med*. 1976;6(4):325-36.

32. Rutherford RA, Pullan BR, Isherwood I. Measurement of effective atomic number and electron density using an EMI scanner. *Neuroradiology*. 1976;11(1):15-21.
33. Zatz LM. The effect of the kVp level on EMI values. Selective imaging of various materials with different kVp settings. *Radiology*. 1976;119(3):683-8.
34. Genant HK, Boyd D. Quantitative bone mineral analysis using dual energy computed tomography. *Invest Radiol*. 1977;12(6):545-51.
35. Dubal L, Wiggli U. Tomochemistry of the brain. *J Comput Assist Tomogr*. 1977;1(3):300-7.
36. Ho LM, Yoshizumi TT, Hurwitz LM, Nelson RC, Marin D, Toncheva G, et al. Dual energy versus single energy MDCT: measurement of radiation dose using adult abdominal imaging protocols. *Acad Radiol*. 2009;16(11):1400-7.
37. Brooks RA, Di Chiro G. Split-detector computed tomography: a preliminary report. *Radiology*. 1978;126(1):255-7.
38. Chiro GD, Brooks RA, Kessler RM, Johnston GS, Jones AE, Herdt JR, et al. Tissue signatures with dual-energy computed tomography. *Radiology*. 1979;131(2):521-3.
39. Carmi R, Naveh G, Altman A, editors. Material separation with dual-layer CT2005; IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record: IEEE.
40. Rassouli N, Etesami M, Dhanantwari A, Rajiah P. Detector-based spectral CT with a novel dual-layer technology: principles and applications. *Insights Imaging*. 2017;8(6):589-98.

41. Kalisz K, Rassouli N, Dhanantwari A, Jordan D, Rajiah P. Noise characteristics of virtual monoenergetic images from a novel detector-based spectral CT scanner. *Eur J Radiol.* 2018;98:118-25.
42. Flohr TG, McCollough CH, Bruder H, Petersilka M, Gruber K, Süß C, et al. First performance evaluation of a dual-source CT (DSCT) system. *Eur Radiol.* 2006;16(2):256-68.
43. Kelcz F, Joseph PM, Hilal SK. Noise considerations in dual energy CT scanning. *Med Phys.* 1979;6(5):418-25.
44. Primak AN, Ramirez Giraldo JC, Liu X, Yu L, McCollough CH. Improved dual-energy material discrimination for dual-source CT by means of additional spectral filtration. *Med Phys.* 2009;36(4):1359-69.
45. Kalender WA, Perman WH, Vetter JR, Klotz E. Evaluation of a prototype dual-energy computed tomographic apparatus. I. Phantom studies. *Med Phys.* 1986;13(3):334-9.
46. Vetter JR, Perman WH, Kalender WA, Mazess RB, Holden JE. Evaluation of a prototype dual-energy computed tomographic apparatus. II. Determination of vertebral bone mineral content. *Med Phys.* 1986;13(3):340-3.
47. Hsieh J. Dual-Energy CT with Fast-KVp Switch. *Medical Physics* 2009. p. 2749-.
48. Xu D, Langan DA, Wu X, Pack JD, Benson TM, Tkaczky JE, et al., editors. Dual energy CT via fast kVp switching spectrum estimation 2009.
49. Arons AB, Peppard MB. Einstein's Proposal of the Photon Concept—a Translation of the *Annalen der Physik* Paper of 1905. *American Journal of Physics.* 1965;33(5):367-74.

-
50. Compton AH. A quantum theory of the scattering of X-rays by light elements. 1923. p. 483-502.
51. Klein O, Nishida Y. The Scattering of Light by Free Electrons according to Dirac's New Relativistic Dynamics. *Nature* 1928. p. 398-9.
52. Remy-Jardin M, Faivre JB, Pontana F, Molinari F, Tacelli N, Remy J. Thoracic applications of dual energy. *Semin Respir Crit Care Med*. 2014;35(1):64-73.
53. Long Y, Fessler JA. Multi-material decomposition using statistical image reconstruction for spectral CT. *IEEE Trans Med Imaging*. 2014;33(8):1614-26.
54. Mendonca PR, Lamb P, Sahani DV. A Flexible Method for Multi-Material Decomposition of Dual-Energy CT Images. *IEEE Trans Med Imaging*. 2014;33(1):99-116.
55. Leng S, Zhou W, Yu Z, Halaweish A, Krauss B, Schmidt B, et al. Spectral performance of a whole-body research photon counting detector CT: quantitative accuracy in derived image sets. *Phys Med Biol*. 2017;62(17):7216-32.
56. Johnson TR, Krauss B, Sedlmair M, Grasruck M, Bruder H, Morhard D, et al. Material differentiation by dual energy CT: initial experience. *Eur Radiol*. 2007;17(6):1510-7.
57. Yuan R, Shuman WP, Earls JP, Hague CJ, Mumtaz HA, Scott-Moncrieff A, et al. Reduced iodine load at CT pulmonary angiography with dual-energy monochromatic imaging: comparison with standard CT pulmonary angiography--a prospective randomized trial. *Radiology*. 2012;262(1):290-7.
58. Bauer RW, Frellesen C, Renker M, Schell B, Lehnert T, Ackermann H, et al. Dual energy CT pulmonary blood volume assessment in acute pulmonary

embolism - correlation with D-dimer level, right heart strain and clinical outcome. *Eur Radiol.* 2011;21(9):1914-21.

59. Apfalter P, Bachmann V, Meyer M, Henzler T, Barraza JM, Gruettner J, et al. Prognostic value of perfusion defect volume at dual energy CTA in patients with pulmonary embolism: correlation with CTA obstruction scores, CT parameters of right ventricular dysfunction and adverse clinical outcome. *Eur J Radiol.* 2012;81(11):3592-7.

60. Henzler T, Roeger S, Meyer M, Schoepf UJ, Nance JW, Haghi D, et al. Pulmonary embolism: CT signs and cardiac biomarkers for predicting right ventricular dysfunction. *Eur Respir J.* 2012;39(4):919-26.

61. Meinel FG, Graef A, Thierfelder KM, Armbruster M, Schild C, Neurohr C, et al. Automated quantification of pulmonary perfused blood volume by dual-energy CTPA in chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Rofo.* 2014;186(2):151-6.

62. Takagi H, Ota H, Sugimura K, Otani K, Tominaga J, Aoki T, et al. Dual-energy CT to estimate clinical severity of chronic thromboembolic pulmonary hypertension: Comparison with invasive right heart catheterization. *Eur J Radiol.* 2016;85(9):1574-80.

63. Koike H, Sueyoshi E, Sakamoto I, Uetani M, Nakata T, Maemura K. Quantification of lung perfusion blood volume (lung PBV) by dual-energy CT in patients with chronic thromboembolic pulmonary hypertension (CTEPH) before and after balloon pulmonary angioplasty (BPA): Preliminary results. *Eur J Radiol.* 2016;85(9):1607-12.

64. Otrakji A, Digumarthy SR, Lo Gullo R, Flores EJ, Shepard JA, Kalra MK. Dual-Energy CT: Spectrum of Thoracic Abnormalities. *Radiographics.* 2016;36(1):38-52.

-
65. Swensen SJ, Viggiano RW, Midthun DE, Müller NL, Sherrick A, Yamashita K, et al. Lung nodule enhancement at CT: multicenter study. *Radiology*. 2000;214(1):73-80.
66. Swensen SJ, Yamashita K, McCollough CH, Viggiano RW, Midthun DE, Patz EF, et al. Lung nodules: dual-kilovolt peak analysis with CT--multicenter study. *Radiology*. 2000;214(1):81-5.
67. Schmid-Bindert G, Henzler T, Chu TQ, Meyer M, Nance JW, Schoepf UJ, et al. Functional imaging of lung cancer using dual energy CT: how does iodine related attenuation correlate with standardized uptake value of 18FDG-PET-CT? *Eur Radiol*. 2012;22(1):93-103.
68. Kawai T, Shibamoto Y, Hara M, Arakawa T, Nagai K, Ohashi K. Can dual-energy CT evaluate contrast enhancement of ground-glass attenuation? Phantom and preliminary clinical studies. *Acad Radiol*. 2011;18(6):682-9.
69. Li GJ, Gao J, Wang GL, Zhang CQ, Shi H, Deng K. Correlation between vascular endothelial growth factor and quantitative dual-energy spectral CT in non-small-cell lung cancer. *Clin Radiol*. 2016;71(4):363-8.
70. Alford SK, van Beek EJ, McLennan G, Hoffman EA. Heterogeneity of pulmonary perfusion as a mechanistic image-based phenotype in emphysema susceptible smokers. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(16):7485-90.
71. Barr RG, Mesia-Vela S, Austin JH, Basner RC, Keller BM, Reeves AP, et al. Impaired flow-mediated dilation is associated with low pulmonary function and emphysema in ex-smokers: the Emphysema and Cancer Action Project (EMCAP) Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(12):1200-7.
72. McAllister DA, Maclay JD, Mills NL, Mair G, Miller J, Anderson D, et al. Arterial stiffness is independently associated with emphysema severity in

patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;176(12):1208-14.

73. Iyer KS, Newell JD, Jin D, Fuld MK, Saha PK, Hansdottir S, et al. Quantitative Dual-Energy Computed Tomography Supports a Vascular Etiology of Smoking-induced Inflammatory Lung Disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;193(6):652-61.

74. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*. 2005;353(20):2148-57.

75. Chae EJ, Seo JB, Goo HW, Kim N, Song KS, Lee SD, et al. Xenon ventilation CT with a dual-energy technique of dual-source CT: initial experience. *Radiology*. 2008;248(2):615-24.

76. Thieme SF, Hoegl S, Nikolaou K, Fisahn J, Irlbeck M, Maxien D, et al. Pulmonary ventilation and perfusion imaging with dual-energy CT. *Eur Radiol*. 2010;20(12):2882-9.

77. Hwang HJ, Seo JB, Lee SM, Kim N, Oh SY, Lee JS, et al. Assessment of Regional Xenon Ventilation, Perfusion, and Ventilation-Perfusion Mismatch Using Dual-Energy Computed Tomography in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. *Invest Radiol*. 2016;51(5):306-15.

78. Lu L, Xu K, Zhang LJ, Morelli J, Krazinski AW, Silverman JR, et al. Lung ischaemia-reperfusion injury in a canine model: dual-energy CT findings with pathophysiological correlation. *Br J Radiol*. 2014;87(1036):20130716.

79. Hoegl S, Meinel FG, Thieme SF, Johnson TR, Eickelberg O, Zwissler B, et al. Worsening respiratory function in mechanically ventilated intensive care patients: feasibility and value of xenon-enhanced dual energy CT. *Eur J Radiol*. 2013;82(3):557-62.

-
80. Neves S, Ong F, Rodrigues L, Santos R, Fontes R, Santana R. Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. In: FCF-IQ/USP, editor. São Paulo 2013. p. 216.
81. Lei Federal nº 11.794 de 8 de outubro de 2008, (2008).
82. Wang C, Frimmel H, Smedby Ö. Fast level-set based image segmentation using coherent propagation. *Med Phys*. 2014;41(7):073501.
83. Canny J. A computational approach to edge detection. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*. 1986;8(6):679-98.
84. Axel L. Tissue mean transit time from dynamic computed tomography by a simple deconvolution technique. *Invest Radiol*. 1983;18(1):94-9.
85. Tanos B, Kovacs G. The ratio of body haematocrit to venous haematocrit in open heart surgery and estimation of the blood volume in the large and small vessels. *Acta Chir Acad Sci Hung*. 1979;20(2-3):141-8.
86. Lee JS, Lee LP. Ventilatory changes of pulmonary capillary blood volume assessed by arterial density. *J Appl Physiol* (1985). 1986;61(5):1724-31.
87. Meinel FG, Graef A, Bamberg F, Thieme SF, Schwarz F, Sommer WH, et al. Effectiveness of automated quantification of pulmonary perfused blood volume using dual-energy CTPA for the severity assessment of acute pulmonary embolism. *Invest Radiol*. 2013;48(8):563-9.
88. Meinel FG, Graef A, Sommer WH, Thierfelder KM, Reiser MF, Johnson TR. Influence of vascular enhancement, age and gender on pulmonary perfused blood volume quantified by dual-energy-CTPA. *Eur J Radiol*. 2013;82(9):1565-70.

-
89. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*. 2012;9(7):676-82.
90. Badea CT, Guo X, Clark D, Johnston SM, Marshall CD, Piantadosi CA. Dual-energy micro-CT of the rodent lung. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012;302(10):L1088-97.
91. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing Vienna, Austria 2013 [Available from: <http://www.R-project.org/>].
92. Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-131 2017 [Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/nlme/nlme.pdf>].
93. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1986;1(8476):307-10.
94. Pelosi P, Crotti S, Brazzi L, Gattinoni L. Computed tomography in adult respiratory distress syndrome: what has it taught us? *Eur Respir J*. 1996;9(5):1055-62.
95. Gattinoni L, Caironi P, Pelosi P, Goodman LR. What has computed tomography taught us about the acute respiratory distress syndrome? *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(9):1701-11.
96. Beck KC. Regional trapping of microspheres in the lung compares well with regional blood flow. *J Appl Physiol* (1985). 1987;63(2):883-9.
97. Wolfkiel CJ, Ferguson JL, Chomka EV, Law WR, Labin IN, Tenzer ML, et al. Measurement of myocardial blood flow by ultrafast computed tomography. *Circulation*. 1987;76(6):1262-73.

-
98. Martin CJ, Cline F, Jr., Marshall H. Lobar alveolar gas concentrations; effect of body position. *J Clin Invest.* 1953;32(7):617-21.
99. Rahn H, Sadoul P, Farhi LE, Shapiro J. Distribution of ventilation and perfusion in the lobes of the dog's lung in the supine and erect position. *J Appl Physiol.* 1956;8(4):417-26.
100. Anthonisen NR, Milic-Emili J. Distribution of pulmonary perfusion in erect man. *J Appl Physiol.* 1966;21(3):760-6.
101. West JB, Dollery CT. Distribution of blood flow and ventilation-perfusion ratio in the lung, measured with radioactive carbon dioxide. *J Appl Physiol.* 1960;15:405-10.
102. Bryan AC, Bentivoglio LG, Beerel F, Macleish H, Zidulka A, Bates DV. Factors Affecting Regional Distribution of Ventilation and Perfusion in the Lung. *J Appl Physiol.* 1964;19:395-402.
103. Glazier JB, DeNardo GL. Pulmonary function studied with the xenon-133 scanning technique. Normal values and a postural study. *Am Rev Respir Dis.* 1966;94(2):188-94.
104. Kaneko K, Milic-Emili J, Dolovich MB, Dawson A, Bates DV. Regional distribution of ventilation and perfusion as a function of body position. *J Appl Physiol.* 1966;21(3):767-77.
105. Milic-Emili J, Henderson JA, Dolovich MB, TROP D, Kaneko K. Regional distribution of inspired gas in the lung. *J Appl Physiol.* 1966;21(3):749-59.
106. Banister J, Torrance RW. The effects of the tracheal pressure upon flow: pressure relations in the vascular bed of isolated lungs. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci.* 1960;45:352-67.

107. West JB. Regional differences in the lung. *Chest*. 1978;74(4):426-37.
108. West JB, Dollery CT, Naimark A. Distribution of Blood Flow in Isolated Lung; Relation to Vascular and Alveolar Pressures. *J Appl Physiol*. 1964;19:713-24.
109. Reed JH, Jr., Wood EH. Effect of body position on vertical distribution of pulmonary blood flow. *J Appl Physiol*. 1970;28(3):303-11.
110. Greenleaf JF, Ritman EL, Sass DJ, Wood EH. Spatial distribution of pulmonary blood flow in dogs in left decubitus position. *Am J Physiol*. 1974;227(1):230-44.
111. Beck KC, Rehder K. Differences in regional vascular conductances in isolated dog lungs. *J Appl Physiol* (1985). 1986;61(2):530-8.
112. Hakim TS, Lisbona R, Dean GW. Gravity-independent inequality in pulmonary blood flow in humans. *J Appl Physiol* (1985). 1987;63(3):1114-21.
113. Lisbona R, Dean GW, Hakim TS. Observations with SPECT on the normal regional distribution of pulmonary blood flow in gravity independent planes. *J Nucl Med*. 1987;28(11):1758-62.
114. Hakim TS, Dean GW, Lisbona R. Effect of body posture on spatial distribution of pulmonary blood flow. *J Appl Physiol* (1985). 1988;64(3):1160-70.
115. Beraldo MA. Estudo dos efeitos da posição prona na distribuição regional da aeração e da perfusão pulmonar através da tomografia de impedância elétrica e da tomografia computadorizada multislice. Tese apresentada à FMUSP. 2011.

116. Suzuki H, Sato Y, Shindo M, Yoshioka H, Mizutani T, Onizuka M, et al. Prone positioning improves distribution of pulmonary perfusion: noninvasive magnetic resonance imaging study in healthy humans. *Eur Radiol*. 2008;18(3):522-8.
117. Nyren S, Mure M, Jacobsson H, Larsson SA, Lindahl SG. Pulmonary perfusion is more uniform in the prone than in the supine position: scintigraphy in healthy humans. *J Appl Physiol* (1985). 1999;86(4):1135-41.
118. Brudin LH, Rhodes CG, Valind SO, Wollmer P, Hughes JM. Regional lung density and blood volume in nonsmoking and smoking subjects measured by PET. *J Appl Physiol* (1985). 1987;63(4):1324-34.
119. Allen TH, Krzywicki HJ, Roberts JE. Density, fat, water and solids in freshly isolated tissues. *J Appl Physiol*. 1959;14:1005-8.
120. Rosenblum LJ, Mauceri RA, Wellenstein DE, Thomas FD, Bassano DA, Raasch BN, et al. Density patterns in the normal lung as determined by computed tomography. *Radiology*. 1980;137(2):409-16.
121. Prisk GK, Yamada K, Henderson AC, Arai TJ, Levin DL, Buxton RB, et al. Pulmonary perfusion in the prone and supine postures in the normal human lung. *J Appl Physiol* (1985). 2007;103(3):883-94.
122. Petersson J, Rohdin M, Sanchez-Crespo A, Nyren S, Jacobsson H, Larsson SA, et al. Posture primarily affects lung tissue distribution with minor effect on blood flow and ventilation. *Respir Physiol Neurobiol*. 2007;156(3):293-303.
123. Glenny RW, Bernard S, Robertson HT, Hlastala MP. Gravity is an important but secondary determinant of regional pulmonary blood flow in upright primates. *J Appl Physiol* (1985). 1999;86(2):623-32.

-
124. Glenny RW, Lamm WJ, Albert RK, Robertson HT. Gravity is a minor determinant of pulmonary blood flow distribution. *J Appl Physiol* (1985). 1991;71(2):620-9.
125. Glenny RW, Robertson HT. Fractal modeling of pulmonary blood flow heterogeneity. *J Appl Physiol* (1985). 1991;70(3):1024-30.
126. Tokics L, Hedenstierna G, Svensson L, Brismar B, Cederlund T, Lundquist H, et al. V/Q distribution and correlation to atelectasis in anesthetized paralyzed humans. *J Appl Physiol* (1985). 1996;81(4):1822-33.
127. Lin Y, Qian F, Shen L, Chen F, Chen J, Shen B. Computer-aided biomarker discovery for precision medicine: data resources, models and applications. *Brief Bioinform*. 2017.
128. Judge EP, Hughes JM, Egan JJ, Maguire M, Molloy EL, O'Dea S. Anatomy and bronchoscopy of the porcine lung. A model for translational respiratory medicine. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;51(3):334-43.
129. Rubenfeld GD, Herridge MS. Epidemiology and outcomes of acute lung injury. *Chest*. 2007;131(2):554-62.
130. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, et al. Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries. *JAMA*. 2016;315(8):788-800.
131. Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2000;342(18):1334-49.
132. Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, Fan E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA*. 2012;307(23):2526-33.

-
133. Rotta AT, Gunnarsson B, Fuhrman BP, Hernan LJ, Steinhorn DM. Comparison of lung protective ventilation strategies in a rabbit model of acute lung injury. *Crit Care Med*. 2001;29(11):2176-84.
134. Borges JB, Costa EL, Suarez-Sipmann F, Widstrom C, Larsson A, Amato M, et al. Early inflammation mainly affects normally and poorly aerated lung in experimental ventilator-induced lung injury*. *Crit Care Med*. 2014;42(4):e279-87.
135. Park HY, Ha SY, Lee SH, Kim S, Chang KS, Jeon K, et al. Repeated derecruitments accentuate lung injury during mechanical ventilation. *Crit Care Med*. 2013;41(12):e423-30.
136. Fernandez-Bustamante A, Easley RB, Fuld M, Mulreany D, Hoffman EA, Simon BA. Regional aeration and perfusion distribution in a sheep model of endotoxemic acute lung injury characterized by functional computed tomography imaging. *Crit Care Med*. 2009;37(8):2402-11.
137. Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998;157(1):294-323.
138. Parker JC, Hernandez LA, Peevy KJ. Mechanisms of ventilator-induced lung injury. *Crit Care Med*. 1993;21(1):131-43.
139. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2008;295(3):L379-99.
140. Tsuno K, Miura K, Takeya M, Kolobow T, Morioka T. Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143(5 Pt 1):1115-20.

-
141. Pelosi P, D'Andrea L, Vitale G, Pesenti A, Gattinoni L. Vertical gradient of regional lung inflation in adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994;149(1):8-13.
142. Chatte G, Sab JM, Dubois JM, Sirodot M, Gaussorgues P, Robert D. Prone position in mechanically ventilated patients with severe acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;155(2):473-8.
143. Langer M, Mascheroni D, Marcolin R, Gattinoni L. The prone position in ARDS patients. A clinical study. *Chest*. 1988;94(1):103-7.
144. Pappert D, Rossaint R, Slama K, Gruning T, Falke KJ. Influence of positioning on ventilation-perfusion relationships in severe adult respiratory distress syndrome. *Chest*. 1994;106(5):1511-6.
145. Mure M, Martling CR, Lindahl SG. Dramatic effect on oxygenation in patients with severe acute lung insufficiency treated in the prone position. *Crit Care Med*. 1997;25(9):1539-44.
146. Piehl MA, Brown RS. Use of extreme position changes in acute respiratory failure. *Crit Care Med*. 1976;4(1):13-4.
147. Brimiouille S, Julien V, Gust R, Kozlowski JK, Naeije R, Schuster DP. Importance of hypoxic vasoconstriction in maintaining oxygenation during acute lung injury. *Crit Care Med*. 2002;30(4):874-80.
148. Hlastala MP, Lamm WJ, Karp A, Polissar NL, Starr IR, Glenny RW. Spatial distribution of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the supine pig. *J Appl Physiol* (1985). 2004;96(5):1589-99.
149. Starr IR, Lamm WJ, Neradilek B, Polissar N, Glenny RW, Hlastala MP. Regional hypoxic pulmonary vasoconstriction in prone pigs. *J Appl Physiol* (1985). 2005;99(1):363-70.

-
150. Tucker A, McMurtry IF, Reeves JT, Alexander AF, Will DH, Grover RF. Lung vascular smooth muscle as a determinant of pulmonary hypertension at high altitude. *Am J Physiol.* 1975;228(3):762-7.
151. Easley RB, Fuld MK, Fernandez-Bustamante A, Hoffman EA, Simon BA. Mechanism of hypoxemia in acute lung injury evaluated by multidetector-row CT. *Acad Radiol.* 2006;13(7):916-21.
152. Brunet F, Jeanbourquin D, Monchi M, Mira JP, Fierobe L, Armaganidis A, et al. Should mechanical ventilation be optimized to blood gases, lung mechanics, or thoracic CT scan? *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(2):524-30.
153. Chae EJ, Seo JB, Jang YM, Krauss B, Lee CW, Lee HJ, et al. Dual-energy CT for assessment of the severity of acute pulmonary embolism: pulmonary perfusion defect score compared with CT angiographic obstruction score and right ventricular/left ventricular diameter ratio. *AJR Am J Roentgenol.* 2010;194(3):604-10.
154. Thieme SF, Ashoori N, Bamberg F, Sommer WH, Johnson TR, Leuchte H, et al. Severity assessment of pulmonary embolism using dual energy CT - correlation of a pulmonary perfusion defect score with clinical and morphological parameters of blood oxygenation and right ventricular failure. *Eur Radiol.* 2012;22(2):269-78.
155. Zhou Y, Shi H, Wang Y, Kumar AR, Chi B, Han P. Assessment of correlation between CT angiographic clot load score, pulmonary perfusion defect score and global right ventricular function with dual-source CT for acute pulmonary embolism. *Br J Radiol.* 2012;85(1015):972-9.
156. Jones AT, Hansell DM, Evans TW. Pulmonary perfusion in supine and prone positions: an electron-beam computed tomography study. *J Appl Physiol* (1985). 2001;90(4):1342-8.