

**" (Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de  
13 de novembro de 2011. A versão original está  
disponível na Biblioteca da FMUSP) "**

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA

**REGIS OTAVIANO FRANÇA BEZERRA**

**Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do  
metabolismo tecidual em células tumorais usando a  
técnica *Chemical Exchange Saturation Transfer* (CEST)**

**São Paulo**  
**2023**

**REGIS OTAVIANO FRANÇA BEZERRA**

**Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do  
metabolismo tecidual em células tumorais usando a  
técnica *Chemical Exchange Saturation Transfer* (CEST)**

Versão Original

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. Giovanni Guido Cerri

**São Paulo**

**2023**



**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

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

©reprodução autorizada pelo autor

Bezerra, Regis Otaviano França  
Estudo piloto de viabilidade para avaliar  
alterações do metabolismo tecidual em células  
tumoriais usando a técnica Chemical Exchange  
Saturation Transfer (CEST) / Regis Otaviano França  
Bezerra. -- São Paulo, 2023.  
Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Radiologia.  
Orientador: Giovanni Guido Cerri.

Descritores: 1.Glucose 2.Ressonância magnética  
multiparamétrica 3.Glioma 4.Metabolismo dos  
carboidratos 5.Tecidos 6.Química

USP/FM/DBD-116/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

## AGRADECIMENTOS

---

---

Ao Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri, meu orientador, por aceitar o desafio de conduzir e orientar minha pesquisa, pelo apoio, exemplo e incentivo ao longo de minha jornada, além do compromisso com meu desenvolvimento profissional.

Ao Dr. Frederico Perego Costa, por toda a contribuição científica desde a idealização do projeto, inspiração, esforço pessoal e estímulo à pesquisa, além da amizade ao longo destes anos.

Ao Engenheiro Gustavo Kaneblai, pela contribuição enorme na coleta, análise e processamento dos dados, fundamental para a concretização deste estudo, além da competência e parceria em inúmeras reuniões e na redação do projeto.

À Dra. Cláudia Leite, pelo apoio e inspiração científica durante toda minha carreira.

À Dra. Hae Won Lee, pela dedicação na análise das imagens e expertise no campo da neurorradiologia.

Ao Engenheiro Eduardo Henrique Figueiredo, pela grande contribuição em todo o processo de desenvolvimento deste experimento.

Ao Engenheiro Mitsuharu Miyoshi, pela contribuição fundamental no desenvolvimento da sequência de pulso.

Ao Matemático Antônio Francisco lemma, pela contribuição na análise dos dados.

Ao Engenheiro Thomas Martin Doring, por fazer a parceria com a GE uma realidade que permitiu a realização desta pesquisa.

Ao Engenheiro Luis Eduardo Pimenta, pelo suporte durante toda a análise dos dados.

Ao Biomédico Kleber Shiratori Schuler, por todo o apoio e competência durante a aquisição das imagens.

Ao Biomédico Alex Evangelista, por todo o apoio e suporte durante a aquisição das imagens.

À equipe de enfermagem, tecnólogos e biomédicos do Departamento de Radiologia do Hospital Sírio-Libanês, pela colaboração e parceria na coleta dos dados e aquisição dos exames.

A todos os pacientes que participaram deste estudo, por sua disposição e confiança.

Aos colegas radiologistas do Departamento de Radiologia do Hospital Sírio-Libanês e do Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo convívio, aprendizado e amizades.

A todos meus Professores, que desde minha infância mostraram a importância da busca pelo conhecimento.

Ao Hospital Sírio-Libanês, minha querida casa durante tantos anos de atuação profissional.

A meus pais José e Suely, que dedicaram suas vidas a minha felicidade e não mediram esforços para que eu tivesse a melhor educação.

Ao meu irmão Douglas, que me inspirou na decisão de fazer medicina.

A minha família, a meus dois amores, Ana e Sofia, que sempre estiveram a meu lado, pelo apoio, compreensão e inspiração em todos os momentos.



“Success is not final, failure is not fatal:  
it is the courage to continue that counts.”

*Winston Churchill, 1946*

## RESUMO

---

---

Bezerra ROF. Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do metabolismo tecidual em células tumorais usando a técnica *Chemical Exchange Saturation Transfer* (CEST) [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

**Introdução:** A D-glicose está sendo investigada como uma alternativa de contraste para RM usando a técnica de Transferência de Saturação por Troca Química (glucoCEST). Mais recentemente, a avaliação dinâmica do sinal da glicose (DGE - *Dynamic Glucose Enhanced*) demonstrou resultados promissores em pacientes com glioma. Ainda assim, os dados sobre o uso desta técnica em campo magnético de uso clínico de 3 Tesla são limitados. **Objetivos:** Avaliar o efeito glucoCEST com imagem DGE usando equipamento de 3T em tumores cerebrais malignos primários em comparação com a substância branca (WM) e substância cinzenta (GM) de aparência normal. **Métodos:** Este estudo prospectivo foi realizado através de ressonância magnética 3T em fantasmas, voluntários saudáveis e pacientes com tumores cerebrais primários. A avaliação quantitativa do CEST foi realizada através da análise do Z-Spectrum obtida com a varredura dos pulsos de radiofrequência ao redor da ressonância da água, compensação por compensação. O efeito de transferência de magnetização foi medido através da assimetria da curva do Z-Spectrum, sendo chamado de MTR<sub>asym</sub>. Os Z-Spectrum completos em estado estacionário e as imagens em DGE foram adquiridos antes e depois da injeção intravenosa de D-glicose. Após a conclusão da primeira fase do estudo (coorte 1), os pacientes seguintes realizaram dois procedimentos idênticos com intervalo de 24 horas para avaliação de repetibilidade dos dados quantitativos (coorte 2), em um desenho de teste-reteste. As análises dinâmicas foram realizadas usando área sob a curva (AUC) e gráficos de Bland-Altman para avaliar a repetibilidade. **Resultados:** As varreduras nos fantasmas indicaram que a D-glicose tinha um melhor contraste CEST saturando a +2ppm e usando um pulso de radiofrequência (B<sub>1</sub>) de 2 $\mu$ T. Na análise dos três voluntários saudáveis, o

protocolo com 18 aquisições de +2 ppm a 0 ppm permitiu traçar um mapa adequado de DGE, com maiores variações de sinal em +2 ppm. Apenas as imagens de um voluntário com prótese dentária não foram passíveis de análise devido ao desvio de B0 maior que  $\pm 1$  ppm. Vinte pacientes foram incluídos no estudo, sendo 18 com gliomas de alto grau (15 primeiros na coorte 1 e os 5 subsequentes na coorte 2). Os valores médios MTRasym em +2 ppm para regiões tumorais de interesse (ROIs) foram significativamente maiores do que para ROIs de controle ( $p < 0,05$ ). A curva ROC apresentou uma acurácia de 90% para diferenciação de tecidos tumorais e normais ( $p < 0.0001$ ), sendo que MTRasym  $> 1,6$  apresentou sensibilidade e especificidade de 88,5% e 77,8%, respectivamente. Nas análises dinâmicas, o efeito médio de DGE após correção de B0 e de movimento foi de 0,53% (IC95% 0,47-0,60) para o ROI tumoral e foram encontradas diferenças significativas entre ROIs tumorais e substância cinzenta ( $p < 0,05$ ). Além disso, a fase de infusão (-0,23; IC95% -0,25 - -0,21) apresentou valores médios de AUC significativamente maiores do que a fase de contraste (-0,47; IC95% -0,49 - -0,44) ( $p < 0,0001$ ) e variabilidade significativamente menor dos valores médios de AUC (0,05 vs 0,27) ( $p < 0,0001$ ). Na coorte 2, cinco pacientes completaram 2 estudos em 24 horas e os gráficos de Bland-Altman mostraram boa repetibilidade para a mediana dos valores de AUC, com a maioria dos pontos dentro das duas barras de erro (2 desvios padrão). **Conclusão:** Aquisição de imagens DGE são possíveis no campo magnético clínico de 3 Tesla quando as correções de B0 e movimento são adequadamente utilizadas. Embora existam baixas variações de sinal, foi possível detectar diferenças significativas entre regiões tumorais versus substância cinzenta e os dados quantitativos mostraram boa repetibilidade.

**Palavras-chave:** Glucose. Ressonância magnética multiparamétrica. Glioma. Metabolismo dos carboidratos. Tecidos. Química.

## ABSTRACT

---

---

Bezerra ROF. Feasibility study to assess changes in the tissue metabolism of tumor cells using a Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) technique [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2023.

**Introduction:** D-glucose is being investigated as an alternative for contrast-enhanced MRI using Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) technique (glucoCEST). More recently, the use of dynamic glucose enhanced (DGE) imaging using glucoCEST has demonstrated promising results on patients with glioma. However, limited data are available reflecting the use of this technique in a 3 Tesla clinical field strength. **Objectives:** To assess the glucoCEST effect with DGE imaging at 3T in primary malignant brain tumors compared with that in normal appearing white matter (WM) and gray matter (GM). **Methods:** This prospective study was performed using 3T magnetic resonance imaging in phantoms, healthy volunteers and patients with primary brain tumors. The quantitative evaluation of the CEST was carried out through the analysis of the Z-Spectrum obtained with the sweep of the radiofrequency pulses around the water resonance, offset by offset. The magnetization transfer effect was measured through the asymmetry of the Z-Spectrum curve, being called MTR<sub>asym</sub>. Full steady-state Z-Spectrum and DGE images were acquired before and after intravenous D-glucose injection. After completion of the first phase of the study (cohort 1), the following patients underwent two identical procedures 24 hours apart to assess the repeatability of the quantitative data (cohort 2), in a test-retest design. Dynamic analyzes were performed using area under the curve (AUC) and Bland-Altman plots to assess repeatability. **Results:** Phantoms data indicated that D-glucose had better CEST contrast saturating at +2ppm and using a 2 $\mu$ T radiofrequency (B1) pulse. In the analysis of the three healthy volunteers, the protocol with 18 acquisitions from +2 ppm to 0 ppm allowed drawing an adequate DGE map, with greater signal variations at +2 ppm. Only the images of a volunteer with a dental prosthesis could not be analyzed due to a B<sub>0</sub> deviation greater than  $\pm 1$  ppm. Twenty patients were included in the study, 18 with high-

grade gliomas (15 in cohort 1 and the last 5 in cohort 2). Mean MTR<sub>asym</sub> values at +2 ppm for tumor regions of interest (ROIs) were significantly higher than for control ROIs ( $p < 0.05$ ). The ROC curve demonstrated an accuracy of 90% for differentiating tumor and normal tissues ( $p < 0.0001$ ), and MTR<sub>asym</sub>  $> 1.6$  showed sensitivity and specificity of 88.5% and 77.8%, respectively. In dynamic analyses, the mean effect of DGE after B<sub>0</sub> and motion correction was 0.53% (95%CI 0.47-0.60) for tumor ROI, and significant differences were found between tumor ROIs and gray matter ( $p < 0.05$ ). Furthermore, the infusion phase (-0.23; 95%CI -0.25 - -0.21) had significantly higher mean AUC values than the contrast phase (-0.47; 95%CI -0.49 - -0.44) ( $p < 0.0001$ ) and significantly less variability of mean AUC values (0.05 vs 0.27) ( $p < 0.0001$ ). In cohort 2, five patients completed 2 studies within 24 hours and the Bland-Altman plots showed good repeatability for median AUC values, with most points within the two error bars (2 standard deviations). **Conclusions:** The results demonstrated that dynamic glucoCEST acquisitions are possible in clinical magnetic field of 3 Tesla using adequate motion and B<sub>0</sub> corrections. Although there are low signal variations, it was possible to detect significant differences between tumoral regions versus gray matter and quantitative data showed good repeatability.

**Keywords:** Glucose. Multiparametric magnetic resonance imaging. Glioma. Carbohydrate metabolism. Tissues. Chemistry.

# LISTAS

---

---

## FIGURAS

- Figura 1** - Princípios básicos da técnica CEST ..... 25
- Figura 2** - Máscara termoplástica acoplada à bobina para minimizar os movimentos da cabeça do paciente ..... 34
- Figura 3** - Imagem de ressonância magnética para seleção das oito regiões de interesse (ROI) ..... 36
- Figura 4** - Sequências glucoCest usadas nas coortes 1 e 2..... 39
- Figura 5** - Fantoma usado para encontrar melhor resposta de frequência de saturação de glicose.....45
- Figura 6** - Voluntários com ajuste de B0 e DGE AUC..... 47
- Figura 7** - Imagens dinâmicas mostrando o efeito de correção do movimento ..... 52
- Figura 8** - **(A)** Posicionamento dos 8 ROIs: ROI 1, 2, 3 em áreas selecionadas do tumor, ROI 4 envolvendo todo o tumor e ROI 5 e 6 na substância branca, ROI 7 e 8 na substância cinzenta (S0 Imagem). **(B)** Os valores de MTRasym para cada ROI (paciente 13), destaque em +2 ppm, pois é o deslocamento em observação para o efeito glucoCEST ..... 55
- Figura 9** - Plot mostrando a curva ROC para o MTRasym em +2ppm 56
- Figura 10** - **A:** Imagem dos valores médios de DGE AUC1-4 min e DGE AUC4-14 min ao paciente 19 (varredura do 2º dia). **B:** Sinal DGE em função do tempo de infusão..... 60
- Figura 11** - Teste e reteste da coorte 2..... 62

## TABELAS E GRÁFICOS

- Tabela 1** - Tabela com as características demográficas ..... 49
- Tabela 2** - Variação de sinal DGE com significância estatística na comparação dos ROIs tumorais com a substância cinzenta ..... 61
- Tabela 3** - Comparação entre as médias dos valores de MTRasym no dia 1 com o dia 2 de todos os ROIs ..... 63
- 
- Gráficos 1A e 1B** mostram a variação de sinal de todos os ROIs nas coortes 1 e 2, respectivamente..... 51
- Gráfico 2** - Coortes 1 e 2 mostram os valores médios de MTRasym e variância em +2ppm por ROIs na fase estática, antes da infusão da glicose ..... 54
- Gráfico 3** - Valores médios de MTRasym da coorte 2 e variação em +2ppm por ROIs antes e após a infusão de glicose ..... 57
- Gráfico 4** - Valores de infusão de AUC versus valores de contraste de AUC (valores médios de todos os pacientes) da coorte 1 (A) e da coorte 2 (B) para todos os ROIs ..... 59
- Gráfico 5** - Média dos valores de DGE para todos os ROIs nas 25 aquisições..... 61
- Gráfico 6** - **A)** Gráfico de Bland-Altman para AUC1-4 min médio em todos os ROIs da coorte 2 comparando dia 1 vs. dia 2. **B)** Gráfico de Bland-Altman para AUC4-14 min médio em todos os ROIs do coorte 2 comparando dia 1 vs. dia 2 ..... 64

## ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AUC	Área sob a curva
CBV	<i>Cerebral blood volume</i>
CEST	<i>Chemical Exchange Saturation Transfer</i>
CHESS	<i>Chemical shift-selective saturation</i>
DGE	<i>Dynamic Glucose Enhanced</i>
DICOM	<i>Digital Imaging and Communications in Medicine</i> EP
DWS	<i>Direct water saturation -</i>
<i>FLAIR</i>	<i>Fluid attenuated inversion recovery</i>
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
IC	Intervalo de Confiança
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MTR	<i>Magnetization transfer ratio</i>
NOE	<i>Nuclear Overhauser effect</i>
PET/CT	<i>Positron Emission Computed Tomography / Computed Tomography</i>
RF	Radiofrequência
RM	Ressonância Magnética
ROC	<i>Receiver operating curve</i>
ROI	<i>Region of interest</i>
SAR	<i>Specific absorption rate</i>
SB	Substância branca
SC	Substância cinzenta
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
WaSSR	<i>Water saturation shift referencing</i>



# SUMÁRIO

---

---

1 INTRODUÇÃO .....	15
2 OBJETIVOS .....	18
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	20
3.1 Avaliação do metabolismo tecidual por meio de RM.....	21
3.1.1 Espectroscopia.....	21
3.1.2 Avaliação do metabolismo tecidual por meio de RM -CEST.....	22
3.1.2.1 CEST – Efeitos Confundidores .....	26
3.1.3 Avaliação do sinal de glicose pela RM - GlucoCEST.....	28
4 MÉTODOS .....	30
4.1 Delineamento.....	31
4.2 Ética.....	31
4.3 Casuística .....	31
4.4 Fases do estudo .....	32
4.4.1 Fantoma .....	32
4.4.2 Voluntários Saudáveis.....	32
4.4.3 Pacientes.....	33
4.5 Aquisição de dados - Pacientes .....	36
4.5.1 Coorte 1.....	38
4.5.2 Coorte 2.....	38
4.6 Análise da Dados.....	39
4.7 Análise estatística.....	41
5 RESULTADOS.....	43
5.1 Fase 1 - Fantoma .....	44
5.2 Fase 2 - Voluntários saudáveis .....	46
5.3 Fase 3 - Pacientes.....	48
5.3.1 Análise de correção de movimento e B0.....	50
5.3.2 GlucoCEST estático (MTRasym 2 ppm) .....	53
5.3.3 GlucoCEST dinâmico (DGE).....	58
5.3.4 Coorte 2 - Análise de repetibilidade .....	62
6 DISCUSSÃO .....	65
7 CONCLUSÕES .....	71
8 REFERÊNCIAS .....	73
9 ANEXOS .....	82

# 1 INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

O método de RM por transferência de saturação por troca química (*Chemical Exchange Saturation Transfer- CEST*) permite detectar baixas concentrações de metabólitos que contêm resíduos de prótons trocáveis (como amina, amida ou hidroxila) Esta técnica permite identificar componentes em concentrações muito baixas (variando de  $\mu\text{M}$  to  $\text{mM}$ ), que não alteram o sinal de RM em sequências convencionais (T1, T2, densidade de prótons e T2\*) e não podem ser diretamente medidos pela técnica padrão de espectroscopia (MRS) (1, 2).

A espectroscopia (MRS) é a sequência de RM mais estudada para avaliação da composição química tecidual, mas apresenta algumas limitações em razão da baixa concentração desses componentes em relação à água e à superposição de espectros de sinal dos diferentes núcleos em campos magnéticos usados na prática clínica (1,5T a 3,0T). Dessa forma, muitas excitações são necessárias para atingir um adequado sinal-ruído, resultando em longo tempo de aquisição e com limitada resolução espacial, de cerca de  $20 \text{ mm}^3$  em sequências de *voxel* único (*single voxel*) (3).

No CEST, a magnetização é transferida de outras moléculas à molécula de água e, portanto, o efeito de saturação (redução de sinal) pode ser observado na água. A condição para que isso aconteça é que a substância química avaliada tenha um próton de hidrogênio ( $^1\text{H}$ ) trocável com a água. Na prática, um pulso de ressonância é aplicado na frequência da substância de interesse até atingir o estado de saturação. Após esse passo, o próton do metabólito excitado é

transferido pela troca química com os prótons não excitados de água. Consequentemente, ocorre queda do sinal de água que pode ser detectada pelas sequências-padrão de RM, permitindo uma medida indireta da concentração do metabólito estudado (2, 4, 5).

A maior parte das aplicações de CEST envolve metabólitos encontrados no corpo humano ou que podem ser administrados como agentes de contraste, como por exemplo, glicose, glutamato e creatina. Na prática clínica, os estudos vêm abordando a aplicação da técnica *in vivo*, sobretudo para avaliação de acidente vascular isquêmico e tumores cerebrais (4, 6). Como é possível o uso de glicose como meio de contraste, este método tem potencial para aplicação na imagem diagnóstica complementar à do  $^{18}\text{F}$ FDG-PETCT, porém sem exposição à radiação ionizante ou a radiofármacos (7).

Entretanto, a quantificação das alterações teciduais *in vivo* ainda é desafiadora em razão de inúmeros fenômenos concomitantes que podem acontecer nos tecidos, alguns conhecidos como *RF spillover*, transferência de magnetização macromolecular semi-sólida (MT) e *nuclear overhauser effect* (NOE). Além disso, a aplicação em tecido tumoral, visando à avaliação do consumo de glicose e suas possíveis implicações ainda não é totalmente conhecida, notadamente em aparelhos usados na prática clínica de 3 Tesla (8).

Desta forma, este estudo tem como objetivos: 1) avaliar as alterações teciduais dinâmicas relacionadas ao metabolismo da glicose em tumores cerebrais primários, comparando com tecidos normais, usando a técnica de CEST em aparelho de uso clínico de 3 Tesla e 2) avaliar em um subgrupo de pacientes a repetibilidade do método pelos parâmetros quantitativos.

## **2 OBJETIVOS**

---

---

## **2 OBJETIVOS**

**2.1** Estudo exploratório para avaliar alterações teciduais dinâmicas relacionadas ao metabolismo de glicose em tumores cerebrais primários usando a técnica de CEST, demonstrando a viabilidade deste método (*prova de conceito*) em aparelho de uso clínico de 3 Tesla, comparando com tecidos normais.

**2.1.1** Avaliar o efeito de CEST pela assimetria da taxa de transferência de magnetização na frequência de saturação da glicose;

**2.1.2** Otimizar o protocolo de estudo de modo a determinar o ponto de melhor diferenciação entre o tumor e o tecido normal usando fantasmas e voluntários sadios.

**2.2** Avaliar a confiabilidade dos parâmetros quantitativos obtidos pela análise de repetibilidade, em um modelo de teste e reteste.

## **3 REVISÃO DA LITERATURA**

---

---

## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 AVALIAÇÃO DO METABOLISMO TECIDUAL POR MEIO DE RM

#### 3.1.1 Espectroscopia

Desde o final da década de 1980, a espectroscopia de ressonância magnética de prótons ( $^1\text{H}$  MRS) é utilizada para avaliação de metabólitos cerebrais. Mas, apesar do longo tempo de desenvolvimento, ainda hoje não é usada em larga escala pelos inúmeros desafios técnicos e permanece restrita a centros de referência e projetos de pesquisa. Na prática clínica, os aparelhos de 3T são preferidos em relação aos de 1,5T, mas também promovem maior heterogeneidade do campo magnético estático ( $B_0$ ). Essa heterogeneidade resulta em linhas espectrais alargadas e degradação das imagens. Outro desafio é o erro de localização do metabólico pelo deslocamento da transferência química (*chemical shift displacement* - CSD), que exige otimização do pulso de radiofrequência com maior potência  $B_1$  <sup>(3, 9)</sup>.

A maioria dos estudos avaliou a espectroscopia cerebral no diagnóstico tumoral, ou mesmo na diferenciação entre subtipos de gliomas. Mas, o valor clínico desta técnica ainda é motivo de debate, permanecendo com sequência adicional, recomendada somente para casos selecionados <sup>(10)</sup>.



### 3.1.2 Avaliação do metabolismo tecidual por meio de RM - CEST

Atualmente, estão disponíveis novos contrastes de RM que exploram diferentes propriedades físicas ou estruturais dos tecidos, como difusão, perfusão, rigidez, características dependentes do nível de oxigenação do sangue (BOLD), transferência química e outros <sup>(11)</sup>. Mais recentemente, a transferência de saturação por troca química, conhecida na língua inglesa como *chemical exchange saturation transfer* (CEST), foi descrita por Wolff e Balaban <sup>(12)</sup>, como uma forma alternativa de obter contraste em imagens de RM. O CEST explora as propriedades químicas de certos metabólitos que podem ser detectados com maior sensibilidade com base em suas mudanças específicas no grau de magnetização de prótons de água. A magnetização é transferida dos prótons trocáveis (prótons 1H) às moléculas de água, de forma que, a saturação que originalmente afetava uma determinada molécula de interesse, pode ser observada afetando a água. Como resultado, o CEST pode detectar a presença de baixas concentrações de prótons trocáveis através da queda do sinal de água.

É digno de nota que o sistema de trocas deve ocorrer em regime lento ou intermediário, em outras palavras, a diferença de troca química entre o solvente e o soluto ( $\Delta_{CS}$ ) deve ser maior ou igual à taxa de transferência ( $k_{ex}=k_{AB}+k_{BA}$ ):  $k_{ex} < \Delta_{CS}$ . Nessa situação, os dois *pools* de spins podem ser diferenciados e suas linhas espectrais separadas. Importante destacar, que o conceito de “lento” ou “intermediário” é relativo, uma vez que o mais importante é a relação (*ratio*). No caso de uma troca química muito rápida, os dois *pools* serão indistinguíveis pela técnica CEST <sup>(1, 2)</sup>.

Do ponto de vista quantitativo, a métrica utilizada para análise do CEST é a assimetria por transferência de magnetização, conhecida como MTR<sub>asym</sub> (*Magnetization Transfer asymmetry*), definida de acordo com a fórmula:

$$MTR_{asym}(\Delta CS) = \frac{I(-\Delta CS) - I(\Delta CS)}{I_0}$$

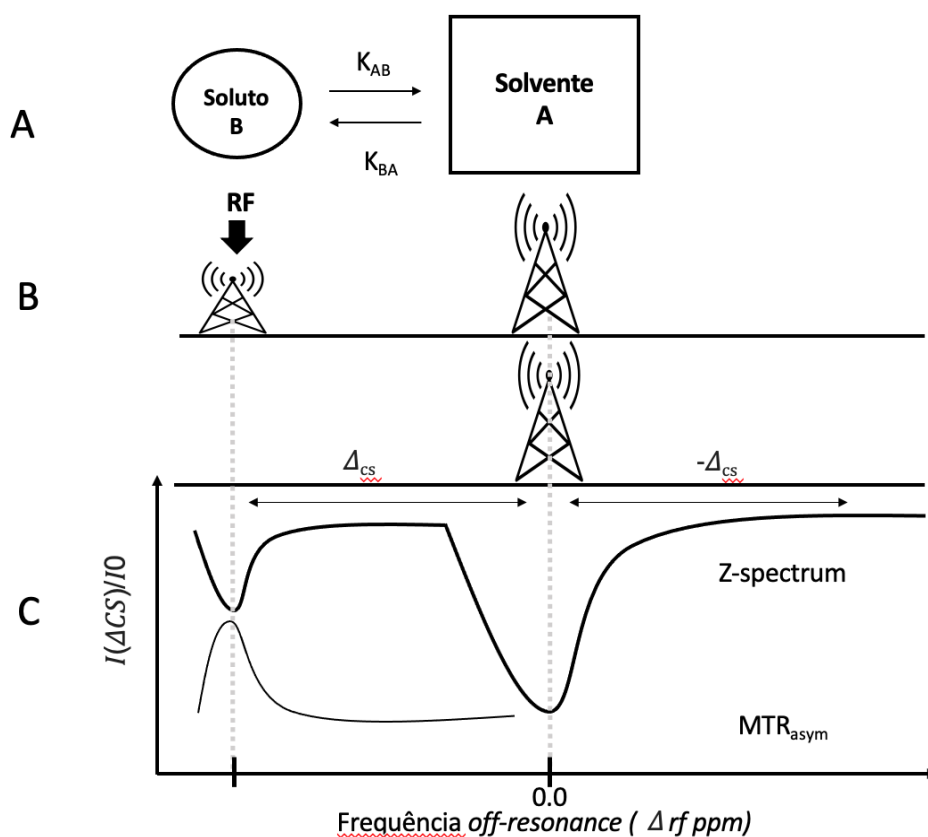
Nesta fórmula,  $I(-\Delta CS)$  e  $I(\Delta CS)$  são as intensidades de sinal adquiridas com o pulso de pré-saturação de RF aplicado com o *pool* de troca ( $\Delta CS = \Delta \text{chemical shift}$ ).  $I_0$  é o sinal de referência sem o pulso de pré-saturação de RF. Na literatura, MTR<sub>asym</sub> é comumente chamado de “efeito CEST”<sup>(2)</sup>. (Figura 1).

Diversas moléculas podem servir como agentes para o CEST. De modo geral, esses agentes são divididos de acordo com a natureza do soluto em: CEST diamagnético (diaCEST) e CEST paramagnético (paraCEST). No caso da troca protônica, que é o assunto desta tese, ela pode ser dividida em diaCEST endógena ou exógena<sup>(13)</sup>. Ainda temos outros tipos de trocas (molecular e compartimental), mas a descrição destes princípios vai além do escopo deste estudo.

A maioria dos agentes diaCEST envolve trocas de prótons endógenos, não sendo necessária injeção de nenhum meio de contraste, o que torna o método muito atrativo. São exemplos destas técnicas descritas na literatura: glicogênio (glycoCEST), glicosaminoglicanos (gagCEST), glutamato (gluCEST) e amido (APT)<sup>(14–16)</sup>. Em cada uma destas técnicas há um grupo diferente de troca que pode ser OH-CEST, NH-CEST e NH<sub>2</sub>-CEST<sup>(13)</sup>.

Em alguns casos, há a possibilidade de injeção exógena do agente para aumentar a sensibilidade do sinal, como no caso da imagem do pH pelo iopamodol ou do glucoCEST usando a glicose. Nesse último caso, a abordagem CEST mostrou potencial para uso em imagens estáticas (MTRasym) e dinâmicas realçadas com glicose (*dynamic glucose enhanced* - DGE) <sup>(17, 18)</sup>.

De maneira geral, os estudos com a técnica CEST tem demonstrado resultados promissores em diversas áreas, desde avaliação de isquemia cerebral, oncologia, osteoartrites, fisiologia muscular, escleros múltipla e outras desordens neurológicas <sup>(19)</sup>.



(A) O pool A (solvente) está em troca com o pool B (soluto). (B) Os pools A e B possuem deslocamentos químicos distintos (CS - *chemical shift*), e a diferença entre eles é chamada de  $\Delta_{CS}$ . O pulso de radiofrequência (RF) é aplicado em ressonância com o pool B, resultando em transferência de saturação e diminuição do sinal do pool A. (C) Z spectrum: intensidade de sinal água normalizada ( $I/I_0$ ) vs frequência fora de ressonância do pulso de RF saturado ( $\Delta_{RF}$ ). A ressonância da água recebe um valor de 0 ppm.

MTR<sub>asym</sub>: assimetria do Z spectrum vs valor fora da ressonância do pulson de RF.

(Fonte: adaptado de Vinogradov et al <sup>(1)</sup>)

**Figura 1** - Princípios básicos da técnica CEST

### 3.1.2.1 CEST- Efeitos confundidores

Há diversos efeitos confundidores que podem ocorrer quando analisamos o efeito CEST. Dentre eles, destacamos a transferência de magnetização (TM) chamada de CEST-TM, os artefatos de lipídios, o efeito nuclear Overhauser (*nuclear Overhauser effect* - NOE), correção de B0 e os artefatos de movimentação <sup>(1)</sup>.

#### a) Transferência de Magnetização - TM

A TM sempre acompanhará o efeito CEST nos tecidos. Dessa forma, o perfil de do Z-Spectrum não é simétrico ao redor da água em estudos *in vivo*. O fato ocorre por provável contribuição de prótons alifáticos (sem moléculas de benzeno em sua estrutura) que reduzem o “peso” da troca química e promovem contaminação do sinal. Assim, o efeito CEST não deve ser considerado “puro” e explica a preferência de muitos autores pelo termo MTRasym, que, muitas vezes, é negativo pela existência de TM subjacente <sup>(20)</sup>.

#### b) Artefatos de lipídios

A presença de lipídios, como artefatos de oscilação no lado negativo do Z-Spectrum da linha de água, foi observada em estudos cerebrais. Uma vez que esta é uma região sem troca química identificável e o cérebro possui baixa concentração de lipídios, o fato foi atribuível aos lipídios da calota craniana. Há interesse na identificação desses artefatos, uma vez que eles ocorrem em -3 ppm de água, ponto exatamente simétrico aos prótons de amido <sup>(21)</sup>.

### c) Efeito Nuclear Overhauser – NOE

Este efeito foi descrito por Albert Overhauser, em 1953, e descreve a transferência de polarização para o *spin* nuclear, quando ocorre saturação da ressonância dos *spins* dos elétrons <sup>(22)</sup>. Em outras palavras, é o processo de relaxamento paramagnético que ocorre por meio de interação ultrafina entre elétrons e spins nucleares. A mudança na intensidade de ressonância do núcleo é consequência da proximidade espacial do mesmo com outros núcleos diretamente afetados pelo pulso de RF. De maneira prática, estudos de CEST em magnetos de alto campo observaram um efeito adicional na TM entre -5 e 0 ppm no Z-Spectrum, que foi atribuído aos prótons alifáticos e oleofínicos <sup>(23, 24)</sup>.

### d) Correção de B0

A heterogeneidade de campo magnético (B0) pode introduzir artefatos nas medidas de CEST, porque a comparação das imagens obtidas com a imagem de referência não é mais simétrica ao longo da frequência de ressonância de água e, conseqüentemente, a análise de assimetria não consegue remover o chamado efeito de transbordamento (*spillover effect*). Esse efeito, de forma resumida, promove aumento de atividade nos *voxels* adjacentes ao objeto estudado <sup>(25, 26)</sup>.

### e) Artefatos de Movimentação

A técnica CEST requer a aquisição de imagens pela saturação de troca química e, normalmente, as aquisições duram vários minutos para que a amostragem adequada na frequência de saturação seja obtida. Dessa forma, os

desalinhamentos nas imagens são quase inevitáveis em razão da movimentação do objeto, causando graves erros de mensuração do efeito CEST. De fato, mesmo a movimentação muito discreta pode causar erros significativos. Assim, diversas técnicas de correção de movimento foram descritas e são consideradas essenciais em qualquer experimento desta natureza. De maneira geral, as imagens são registradas e comparadas com uma imagem de referência, usando ferramentas de pós-processamento, como o *built-in function imregister* e SPM (*statistical parametric mapping*) disponíveis no MATLAB (MathWorks, Natick, MA) <sup>(26, 27, 28)</sup>.

### 3.1.3 Avaliação do sinal de glicose pela RM - glucoCEST

A sensibilidade para detecção do sinal de glicose depende da potência B1, uma vez que quanto maior a potência, mais saturação poderá ser alcançada antes que ocorra a troca <sup>(5)</sup>. Estudos anteriores mostraram a viabilidade de glucoCEST em campos de alta intensidade e em modelos animais com resultados promissores, mas há dados limitados para uso desta técnica em aparelhos de campo clínico de 3T e inferiores <sup>(4, 5, 17)</sup>. Os estudos iniciais de viabilidade da imagem glucoCEST em humanos, usando scanners clínicos, abriram o caminho para o desenvolvimento desta técnica, mas a medição do efeito glucoCEST em 3T tem várias limitações a serem abordadas <sup>(5, 8)</sup>. Como descrito anteriormente <sup>(29)</sup>, prótons hidroxila (-OH) na glicose trocam muito rápido (taxas de troca de 2.000 Hz ou maiores), levando à coalescência das ressonâncias dos prótons -OH com as de água. Além disso, o deslocamento do

---

campo magnético ( $B_0$ ) e a correção do movimento devem ser levados em consideração para evitar medições imprecisas <sup>(30)</sup>.

No lado tecidual, uma alteração no metabolismo celular é uma marca registrada das células tumorais e um dos principais contribuintes ao desenvolvimento e proliferação do tumor <sup>(31)</sup>. O efeito Warburg (ou glicólise aeróbica) é a mudança metabólica em que a maioria das células tumorais converte glicose em ácido láctico mesmo sob concentrações normais de oxigênio para suportar sua rápida proliferação <sup>(32, 33)</sup>. Intuitivamente, a técnica glucoCEST pode fornecer avaliação dinâmica do metabolismo do tecido tumoral de modo não invasivo, livre de radiação e com múltiplas aplicações clínicas potenciais.

Há muitos desafios relacionados à padronização de glucoCEST para uso clínico, sobretudo relacionados às estratégias de aquisição, análise de imagens, algoritmos de pós-processamento e interpretação da relação do sinal de glicose em tecidos tumorais versus tecidos normais <sup>(2, 29)</sup>. Potencialmente, estes problemas podem impactar o uso de dados derivados de glucoCEST como biomarcador na prática clínica.



## **4 MÉTODOS**

---

---

---

## **4 MÉTODOS**

### **4.1 DELINEAMENTO**

Trata-se de um estudo prospectivo observacional, unicêntrico e não randomizado, conduzido no Hospital Sírio-Libanês.

### **4.2 ÉTICA**

O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Sírio-Libanês (número 27682719.0.0000.5461 - 12/02/2020) (Anexo A). Esta investigação seguiu as diretrizes e normas regulamentadoras da pesquisa envolvendo seres humanos em vigor no Brasil <sup>(34)</sup>.

Todos os participantes foram informados a respeito dos objetivos e métodos do estudo e incluídos, após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo B).

### **4.3 CASUÍSTICA**

Foram convidados a participar do estudo os pacientes do Hospital Sírio-Libanês encaminhados do Departamento de Oncologia com o diagnóstico por imagem de tumor primário cerebral.

Os critérios de inclusão foram:

- I. Idade maior que 18 anos;
- II. Diagnóstico por imagem, confirmado ou não por meio de biópsia, de tumor primário do sistema nervoso central.

Os critérios de exclusão foram:

- I. Pacientes com contra-indicação para realização de ressonância magnética;
- II. Diabéticos descompensados; e
- III. Pacientes que se recusem a participar do protocolo do estudo.

## **4.4 FASES DO ESTUDO**

### **4.4.1 Fantoma**

Na primeira fase, foi usado um fantoma feito com quatro garrafas de plástico para configurar a sequência de pesquisa CEST e identificar se a glicose seria detectável em diferentes conjuntos de parâmetros de sequência (B1 de 1,0 $\mu$ T e 2 $\mu$ T), concentrações de glicose (somente solução salina, + 5% D - glicose, + 10% D-glicose e + 20% D-glicose) e frequências de compensação de saturação (de +7ppm a -7ppm com diminuição de 0,5 ppm)

### **4.4.2 Voluntários saudáveis**

Na segunda fase, três voluntários saudáveis foram submetidos a diferentes métodos de aquisição de imagem cerebral, variando o B1 entre 1 $\mu$ T e 2 $\mu$ T, variando a aquisição dinâmica entre três abordagens diferentes (1. Adquirindo três espectros Z de +7ppm a -7ppm para gerar três mapas MTRasym

após a infusão, 2. Adquirir 6 Z-Spectra de +5ppm a -2ppm com foco na criação de mapas MTRasym em torno de +1ppm, 3. Adquirir múltiplos Z-Spectra de +2ppm a 0ppm para observar mudanças rápidas no sinal em torno de +1ppm durante a infusão). Estas imagens foram então usadas para desenvolver a ferramenta de pós-processamento e, em seguida, avaliadas para determinar qual abordagem seria usada em pacientes juntamente com a avaliação da influência do movimento da cabeça e o algoritmo de correção do movimento.

#### **4.4.3 Pacientes**

Todos os participantes do estudo prospectivo e voluntários assinaram um termo de consentimento informado e o estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local. Entre agosto de 2020 e março de 2021, 20 pacientes com 18 anos ou mais com tumores cerebrais malignos primários foram inscritos em duas coortes (Tabela 1 - Demografia dos pacientes). Quinze pacientes foram incluídos na coorte 1 e foram solicitados a jejuar por, pelo menos, 8 horas antes de serem submetidos a uma sequência de glucoCEST modificada (CEST3 – GE research PSD) em 3T (Discovery MR 750, GE Healthcare, Milwaukee, EUA), seguida por uma aquisição convencional de RM de cérebro, incluindo sequências ponderadas de perfusão e difusão. Para induzir um estado hiperglicêmico, glicose D50 (30 g de glicose em 60 ml de solução de água estéril, Isofarma®) foi injetada, seguida de 60 ml de solução salina administrados usando um injetor a uma taxa de infusão de 0,3 ml/s (Mallinckrodt Company), conforme anteriormente descrito <sup>(3)</sup>.

Após o término do recrutamento na coorte 1, cinco pacientes foram adicionados em sequência na coorte 2. Estes pacientes foram submetidos ao procedimento glucoCEST, que foi repetido 24 horas depois, em um desenho de teste-reteste <sup>(35)</sup>. Além disso, os pacientes desta segunda coorte utilizaram um dispositivo de imobilização de cabeça, customizado, imediatamente antes do início do procedimento, nos moldes utilizados para pacientes em tratamento com radioterapia <sup>(36)</sup>.



Uma máscara termoplástica, utilizada para planejamento de radioterapia, moldou a cabeça do paciente e foi acoplada à bobina para minimizar os movimentos da cabeça dos pacientes da coorte 2.

**Figura 2** - Máscara termoplástica acoplada à bobina para minimizar os movimentos da cabeça do paciente

---

Um neurorradiologista independente (20 anos de experiência) revisou as imagens convencionais de ressonância magnética e selecionou um único corte de 10 mm com a melhor visibilidade do câncer. Usando como referência as sequências de perfusão e difusão, foram delineadas oito regiões de interesse (2D ROIs) para serem usadas no processamento de glucoCEST. Quatro ROIs tumorais foram identificadas seguindo a mesma regra: ROI 1 elíptica estava na área de maior perfusão (quando aplicável, uma vez que nem todos os tumores tinham áreas de aumento do volume de sangue cerebral (CBV – *cerebral blood volume*)), ROI 2 elíptica estava na área central área, ROI 3 elíptica estava na periferia e ROI 4 à mão livre englobava todo o tumor; e quatro ROIs em tecidos normais: ROIs 5 e 6 elípticos foram identificadas na substância branca normal e ROIs 7 e 8 na substância cinzenta normal. As ROIs 1, 2, 3, 5, 6, 7 e 8 tinham formas e tamanhos idênticos (0,2 cm<sup>2</sup>) (Figura 3).

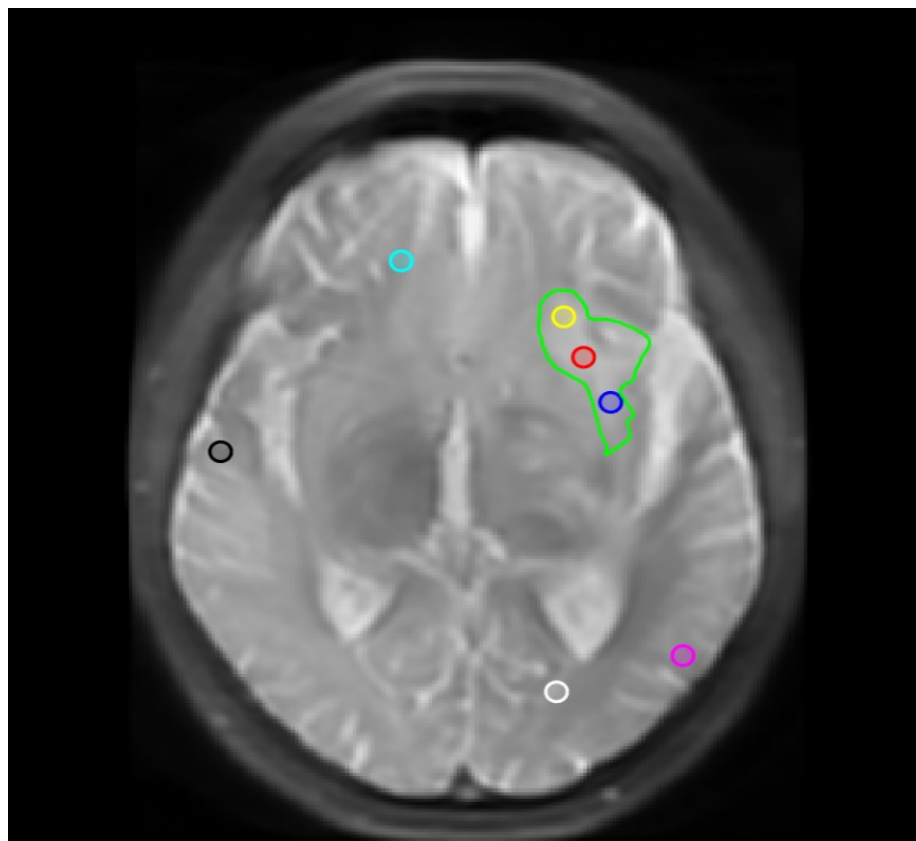


Imagem de ressonância magnética convencional com uma única seleção de corte de 10 mm onde foram selecionadas oito regiões de interesse (ROI) por um neurorradiologista independente. ROI1= vermelho, ROI2= amarelo, ROI3= azul, ROI4= verde (ROIs tumorais), ROI5= azul claro, ROI6= branco (substância branca), ROI7= preto e ROI8= lilás (substância cinzenta)

**Figura 3** - Imagem de ressonância magnética para seleção das oito regiões de interesse (ROI)

#### 4.5 AQUISIÇÃO DOS DADOS - PACIENTES

Após as observações e ajustes feitos durante as fases 1 (fantoma) e 2 (voluntários normais), foi definido o seguinte protocolo de aquisição aos pacientes.

Todas as sequências foram adquiridas, usando uma bobina de cabeça de oito canais de matriz de fase. A aquisição da sequência de glucoCEST foi

realizada antes da injeção de gadolínio. A versão experimental do 2D single-shot fast spin echo (pacote CEST3) foi usada para adquirir imagens saturadas individuais de uma faixa de deslocamentos de frequência, produzindo um espectro para cada voxel que foi usado para gerar o contraste CEST. A técnica de referência da mudança de saturação de água (*Water saturation shift referencing* - WaSSR) com uma amplitude de pulso de 0,5  $\mu$ T foi usada para compensação B<sub>0</sub>, a saturação seletiva da mudança química (*Chemical shift-selective saturation* - CHESS) para saturação de gordura antes da injeção de glicose e, a seguir, uma repetição multifásica. Os parâmetros foram campo de visão (field of view -FOV)=22 cm, corte único de 8 mm de espessura, matriz 128x128, tempo de eco efetivo (TE<sub>eff</sub>) de 28,9 ms, tempo de repetição (TR), variando de 4000 ms a 4300 ms, dependendo dos requisitos da taxa de absorção específica (*specific absorption rate* - SAR), pulso CEST de onda contínua única com duração de 2000 ms e amplitude de 2  $\mu$ T, e duração da sequência, variando entre 16 a 19 minutos, dependendo do TR e da corte.

Antes da infusão de glicose, exames anteriores foram revisados e imagens anatômicas em FLAIR foram obtidas para identificar a melhor imagem para localização do tumor. Após o procedimento glucoCEST, foram adquiridas sequências convencionais de RM universalmente utilizadas para avaliação de tumores cerebrais para todos os pacientes. As sequências utilizadas incluíram ponderadas em T1 (T1W); ponderada em T2 (T2W); Eco gradiente ponderado em T2\* (T2\*W); e imagens T1W pós-contraste, incluindo perfusão com injeção de gadoterato de meglumina (Dotarem®, Guerbet) na dosagem de 0,1 mmol/kg pela injetora (Mallinckrodt Company).

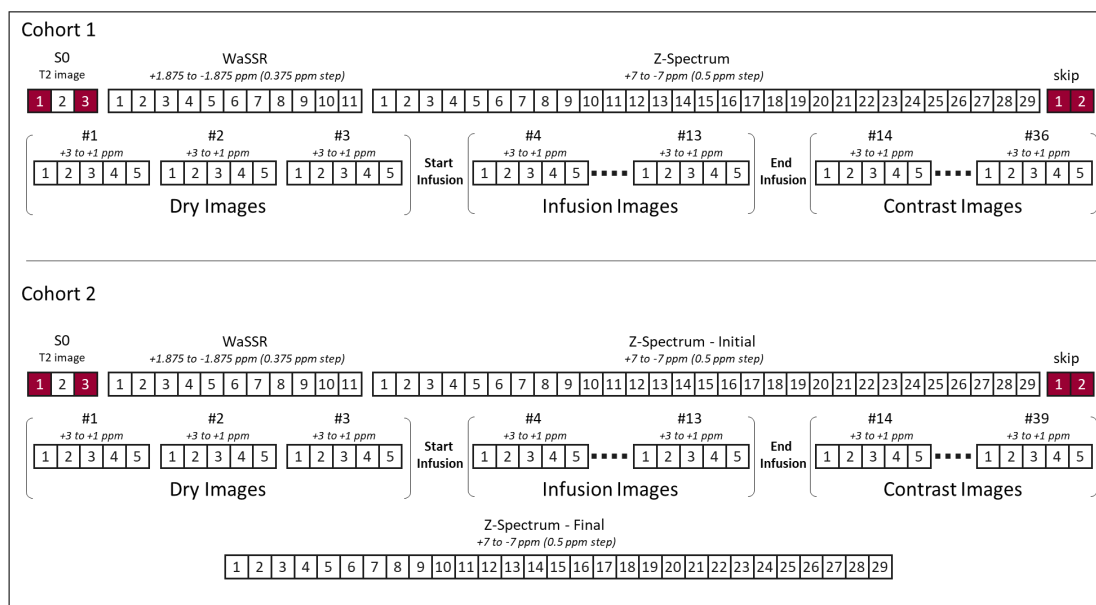


#### 4.5.1 Coorte 1

A mesma sequência glucoCEST foi utilizada em todos os pacientes desta coorte (Figura 4), onde cada paciente realizou apenas um estudo. A sequência de aquisição foi dividida em duas partes: estática e dinâmica. A parte estática consistiu em imagem não saturada S0, WaSSR (1,875 ppm a -1,875 ppm, com passos de 0,375 ppm e B1 de 0,5  $\mu$ T) e Z-Spectrum (+7 ppm a -7 ppm, com passos de 0,5 ppm e B1 de 2  $\mu$ T) antes da infusão de glicose. A parte dinâmica seguiu a parte estática nas frequências de saturação ( $\tau$ ) com o melhor efeito CEST sobre a glicose nas frequências (3 ppm, 2,5 ppm, 2 ppm, 1,5 ppm, 1 ppm) e B1 de 2  $\mu$ T. Cada grupo de cinco aquisições, com duração de 20 s, nas frequências  $\tau$ , foi chamado de fase. A parte dinâmica consistiu de 36 fases divididas em três períodos 1) seco 2) infusão e 3) contraste. O período seco teve três fases que foram adquiridas antes do início da infusão de glicose, a infusão englobou o período de infusão de glicose e incluiu sete fases e o contraste finalizou com mais 26 fases.

#### 4.5.2 Coorte 2

A sequência de aquisição de glucoCEST foi ligeiramente modificada aos participantes da coorte 2 (Figura 4), após a observação dos resultados da coorte 1. A sequência de aquisição foi mais longa no período de contraste, que teve 29 fases. Além disso, outra aquisição do Z-Spectrum (Z-Spectrum final) foi realizada ao final do estudo com objetivo de comparação com a aquisição inicial (Z-Spectrum inicial).



Sequências de aquisição para as coortes 1 e 2 com os períodos seco, de infusão e de contraste, cada um deles com suas respectivas fases. As primeira e terceira imagens S0 foram descartadas para assegurar um estado estacionário adequado. Destaque para a aquisição do Z-Spectrum final na coorte 2.

**Figura 4 -** Sequências glucoCest usadas nas coortes 1 e 2

#### 4.6 ANÁLISE DOS DADOS

Para análise das aquisições estáticas, o MTRasym a +2 ppm foi selecionado e neste texto será chamado de efeito glucoCEST de modo intercambiável. Para aquisições dinâmicas, DGE e sua área sob a curva (AUC) foram selecionados. O processamento dos dados foi realizado no MATLAB (R2016a, MathWorks, Natick, MA).

Todas as imagens adquiridas tiveram correção de movimento nos eixos X e Y e de heterogeneidade de BO por meio de um software de pós processamento.

Para a parte estática, WaSSR e Z-Spectrum foram usados para criar o mapa de não homogeneidade B0 com objetivo de compensação B0 e o mapa de MTRasym. Como o MTRasym em +1,0 ppm foi influenciado pela saturação direta de água (*direct water saturation* - DWS), o mapa de +1,0 ppm foi sensível à não homogeneidade de B0 e teve uma baixa relação sinal-ruído (SNR). Os fantasmas foram escaneados para encontrar a frequência de deslocamento ideal. Uma interpolação *spline* foi usada para melhor ajustar esses valores parciais. Nesse método, os valores das células intermediárias são estimados usando uma função matemática que minimiza a curvatura geral da superfície <sup>(37)</sup>.

Para a parte dinâmica, o mapa de não homogeneidade B0 foi usado para ajustar as amostras em  $\pm 1$  ppm. O mapa da área sob a curva (AUC) foi criado a partir do mapa DGE para avaliar as mudanças dinâmicas causadas pela infusão de glicose (DGE AUC dinâmica).

Os mapas de DGE usados:

$$\frac{\Delta S}{S_0} = \text{DGE} = \frac{S_n - S_{base}}{S_0}$$

Onde a  $S_n$  é a intensidade da imagem (S) de cada fase,  $S_{base}$  é o valor médio de intensidade da imagem na pré-infusão com o B0 fixado em +2 ppm e  $S_0$  é a intensidade da imagem não saturada da fase estática. A parte dinâmica gerou 36 mapas de DGE; um mapa foi gerado por fase. Os mapas DGE foram calculados usando:

$$AUC = \frac{1}{n} \sum_1^n \left( \frac{S_n - S_{base}}{S_0} \right) = \frac{1}{n} \sum_1^n \left( \frac{\Delta S_{(n)}}{S_0} \right)$$

Onde n foi escolhido para acomodar todas as fases (36 fases), apenas o período de infusão (sete fases) ou apenas o período de contraste (26 fases na coorte 1 e 29 na coorte 2). O uso de DGE para mapear a variação nas leituras de CEST em relação à referência  $S_{base}$  reduz a influência de amidas, aminas e quaisquer outros compostos que também são afetados por CEST nas leituras ao redor de +2 ppm; pois, hipoteticamente, as variações desses compostos devem ser minimizadas durante a infusão de glicose.

## 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 4.7.1 Coorte 1

Os procedimentos adotados na inferência estatística foram precedidos e norteados pelos testes clássicos sobre as pressuposições do modelo. A verificação da normalidade dos dados foi realizada através dos testes de Shapiro-Wilk e de Kolmogorov-Smirnov para amostras de até 30 e maiores que 30 elementos, respectivamente. Para a homogeneidade de variâncias, o teste F de Bartlett-Box foi adotado.

Os testes foram realizados com base no limite de significância  $\alpha = 0.05$ .

Os testes de pressuposições dos modelos estatísticos foram, em geral, significativos e, nesse contexto, as análises estatísticas foram realizadas via testes não paramétricos: para três ou mais níveis, a ANOVA Kruskal-Wallis

complementada pelo teste de comparações múltiplas de Dunn e, para dois níveis, o teste de Mann-Whitney e o teste de Wilcoxon para amostras independentes e pareadas, respectivamente <sup>(38)</sup>.

Para análise quantitativa, uma curva ROC foi utilizada para definir o ponto de corte com maior acurácia.

#### **4.7.2 Coorte 2**

Para avaliar a repetibilidade das medições dinâmicas de glucoCEST, a diferença entre os dois valores quantitativos médios de AUC para os períodos de infusão e contraste foi determinada em uma base ROI por ROI em cada paciente. usando a análise de Bland–Altman <sup>(39)</sup>. Com respaldo do teorema do limite central, foram utilizados testes “t” com amostras pareadas para testar as distâncias médias com zero e os coeficientes de inclinação das regressões lineares para analisar o viés de proporção.

Os gráficos criados são gráficos de dispersão, com o eixo Y representando a diferença entre as medidas nos dois momentos e o eixo X representando a média destas medidas. Há uma boa concordância entre as medições em dois pontos de tempo se 95% dos dados estiverem dentro de  $\pm 2$  desvios padrão da média das diferenças.

A análise estatística dos dados foi realizada com os softwares SPSS (IBM SPSS Statistics for Windows, Versão 20.0. Armonk, NY: IBM Corp) e UNISTAT Statistical Package, Highgate, London N6 5UQ, England.

## **5 RESULTADOS**

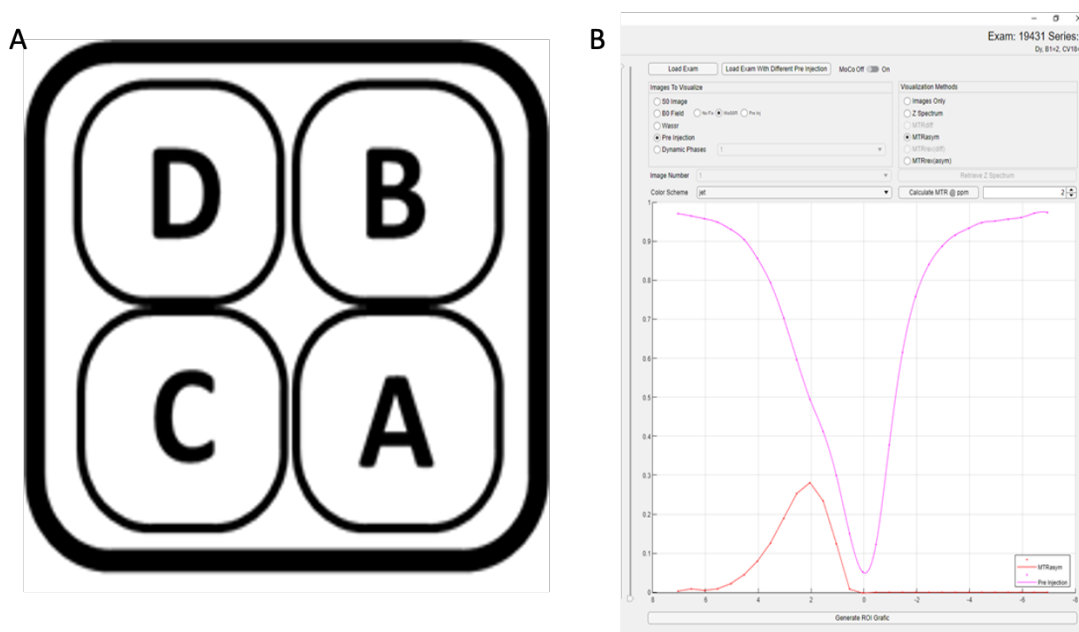
---

---

## 5 RESULTADOS

### 5.1 FASE 1 - FANTOMA

Dados de Z-Spectrum obtidos nos fantomas foram usados para traçar a variação do sinal durante as mudanças de compensação de saturação. Foram colocados os ROIs na solução salina, solução de +5% D-Glucose e +10% D-Glucose. Nenhuma assimetria significativa de Z-Spectrum foi observada no fantoma apenas com solução salina ou de 20%, em fantomas de glicose a 5% e 10%, um pico de cerca de 8% de variação S/S0 no MTRasym foi observado em torno de +2ppm com B1 de 1 $\mu$ T e um pico de cerca de 20% de S/S0 também em torno de +2ppm com B1 de 2 $\mu$ T. Dessa forma, varreduras nos fantomas indicaram que a D-glicose tinha um melhor contraste CEST, saturando ( $\tau$ ) a +2ppm e usando um B1 mais alto. (Figura 5)



As concentrações da solução foram: A) Solução salina, B) +5% de glicose, C) +10% de glicose, D) +20% de glicose. B) Z-Spectrum do ROI selecionado mostrou um pico de MTRasym em +2 ppm às soluções de glicose de +5% e 10% na imagem à direita.

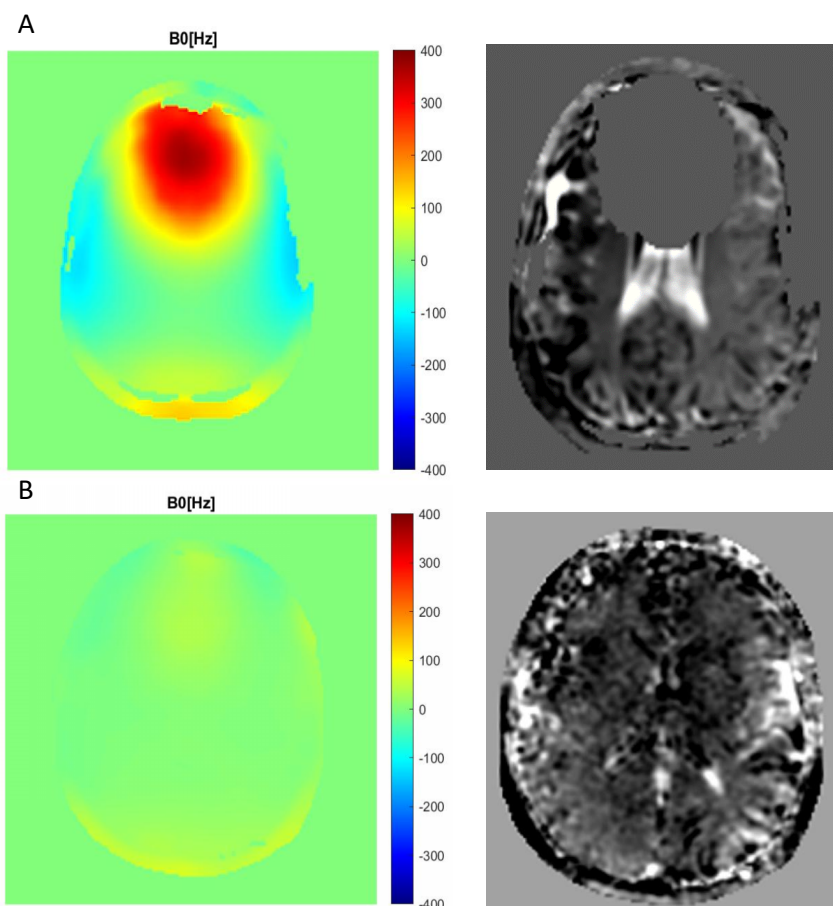
**Figura 5 -** Fantoma usado para encontrar a melhor resposta de frequência de saturação de glicose



## 5.2 FASE 2 - VOLUNTÁRIOS SAUDÁVEIS

Na análise dos resultados nos três voluntários saudáveis, as opções 1 (3 Z-Spectra de +7ppm a -7ppm, com três mapas de MTRasym após a infusão) e 2 (6 Z-Spectra de +5 ppm a -2 ppm com foco na criação de mapas MTRasym em torno de +1 ppm) não forneceram uma visualização clara da dinâmica de glicose no cérebro. Apenas a opção 3, que usou 18 aquisições de +2 ppm a 0 ppm nos permitiu traçar um mapa DGE, tendo resultados semelhantes a outros relatados na literatura <sup>(6)</sup>. As maiores variações de sinal foram observadas em torno de +2 ppm, semelhante ao estudo no fantoma. Nas aquisições subsequentes, o plano foi modificado para ocorrer entre +3 ppm e +1 ppm, permitindo uma correção de B0 usando interpolação SPLINE quando o desvio de B0 for menor que  $\pm 1$  ppm. No entanto, isso não foi suficiente em pacientes com prótese dentária, que causou o desvio de B0 maior que  $\pm 1$  ppm observado no primeiro voluntário (Figura 6). Como esperado, os segundo e terceiro voluntários apresentaram um campo B0 homogêneo, com desvios menores que  $\pm 1$  ppm. B1 de 2 $\mu$ T forneceu a melhor variação de sinal quando comparado com B1 de 1 $\mu$ T, conforme observado nos estudos de fantomas. Para as aquisições dinâmicas, a infusão de glicose foi iniciada 1m30s após o início da aquisição dinâmica, fornecendo sinal basal lido a +2 ppm antes da infusão de glicose (período seco). Houve menor variação de sinal em +2 ppm durante o período seco em comparação com a variação de sinal em +2 ppm observada durante e após a infusão de glicose (perfusão e contraste). O software de correção de

movimento funcionou bem para movimentos de direção X e Y e para movimentos de guinada observados nos voluntários na análise visual.



A. voluntário 1 apresentado com artefato nos mapas B0 (esquerda) relacionado a um aparelho dentário e DGE AUC (direita). B. voluntário 2 apresentou resultados esperados para os mapas B0 e DGE AUC.

**Figura 6** - Voluntários com ajuste de B0 e DGE AUC

### 5.3 FASE 3 – PACIENTES

Dentre os pacientes, 17 eram do sexo masculino e a mediana de idade foi de 50,5 anos. Os demais dados demográficos, incluído os diagnósticos e *status* do tratamento no momento do estudo, estão descritos nos dados da Tabela 1. No material em anexo pode ser encontrada a tabela completa, incluindo tratamentos realizados (Anexo C -Tabela 1S).

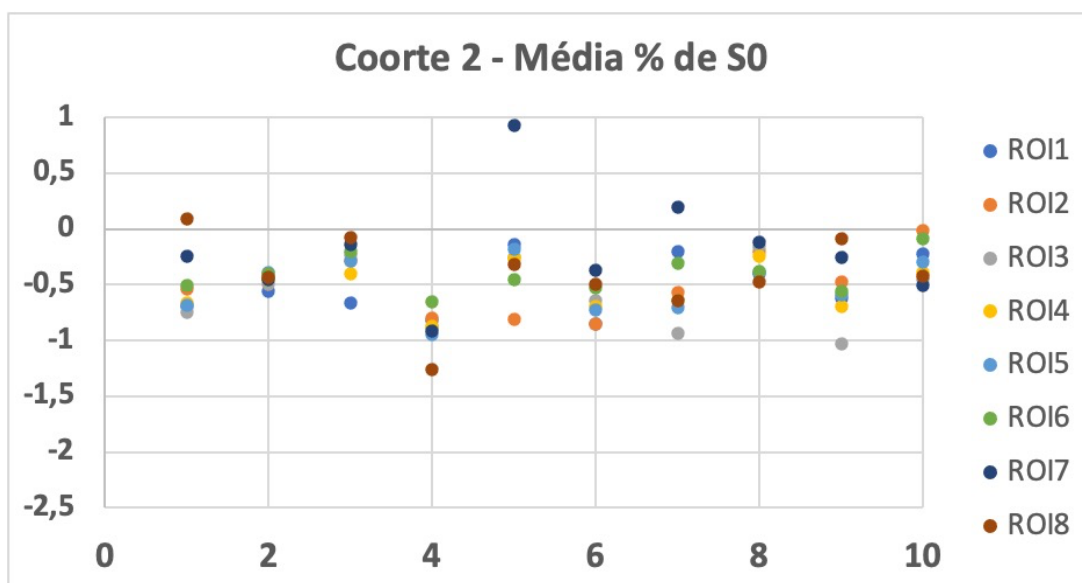
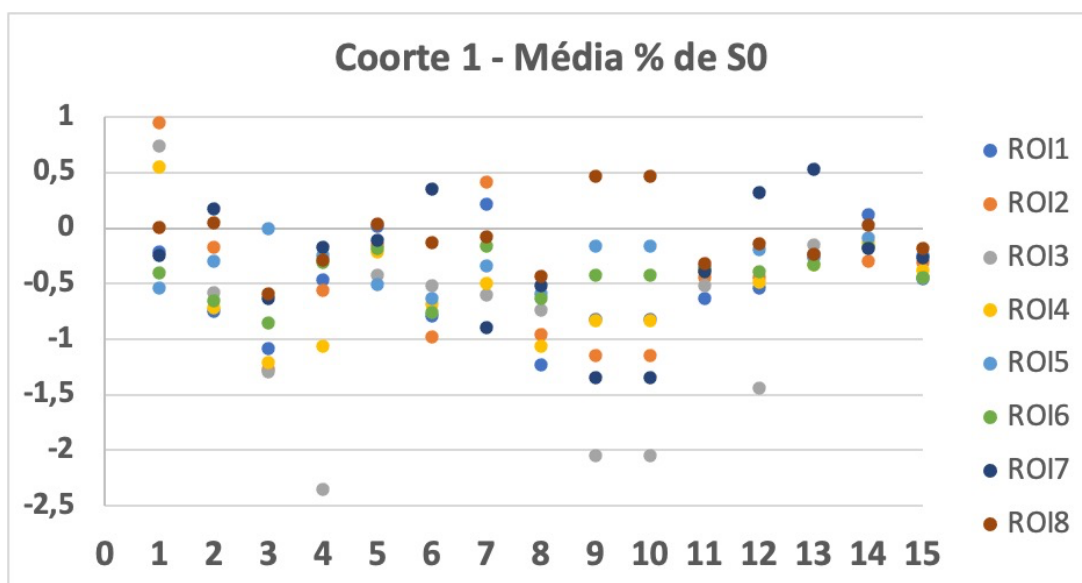
**Tabela 1-** Características demográficas

#	Sexo	Idade	CEST	Data CEST	Data Diagnóstico	Diagnóstico	Tratamento
1	M	37	CEST	20/8/2020	06/12/2019	GBM	Sistêmico
2	M	38	CEST	26/8/2020	01/10/2013	GBM	Sistêmico
3	F	58	CEST	27/8/2020	17/8/2019	GBM	Sistêmico
4	M	59	CEST	31/8/2020	01/8/2020	NA	Pré-cirurgia
5	M	71	CEST	03/09/2020	09/07/2020	GBM	Pré-cirurgia
6	M	53	CEST	04/09/2020	01/09/2020	LGG	Pré-cirurgia
7	M	32	CEST	08/09/2020	23/02/2020	GBM	Sistêmico
8	M	36	CEST	09/09/2020	20/05/2020	GBM	Sistêmico
9	M	61	CEST	10/09/2020	10/01/2019	GBM	Sistêmico
10	M	75	CEST	11/09/2020	08/09/2020	GBM	Cirurgia
11	F	49	CEST	14/9/2020	24/08/2020	AOG	Cirurgia
12	M	48	CEST	15/09/2020	19/12/2019	AA	Sistêmico
13	M	43	CEST	16/09/2020	29/05/2020	AA	Cirurgia
14	M	40	CEST	17/09/2020	31/03/2020	GBM	Sistêmico
15	F	59	CEST	18/09/2020	24/05/2018	GBM	Sistêmico
16	M	60	CEST 1	11/03/2021	17/02/2021	GBM	Cirurgia
			CEST 2	12/03/2021			
17	M	48	CEST 1	19/02/2021	19/12/2019	GBM	Sistêmico
			CEST 2	19/02/2021			
18	M	56	CEST 1	19/03/2021	18/09/2019	GBM	Sistêmico
			CEST 2	20/03/2021			
19	M	43	CEST 1	09/03/2021	12/04/2017	AA	Sistêmico
			CEST 2	10/03/2021			
20	H	52	CEST 1	29/03/2021	07/04/2020	GBM	Sistêmico
			CEST 2	30/03/2021			

Nota.—AA = astrocitoma anaplásico. AOG = oligodendroglioma anaplásico. GBM = glioblastoma multiforme. LGG = low-grade glioma. NA = não avaliável.

### 5.3.1 Análise de correção de movimento e B0

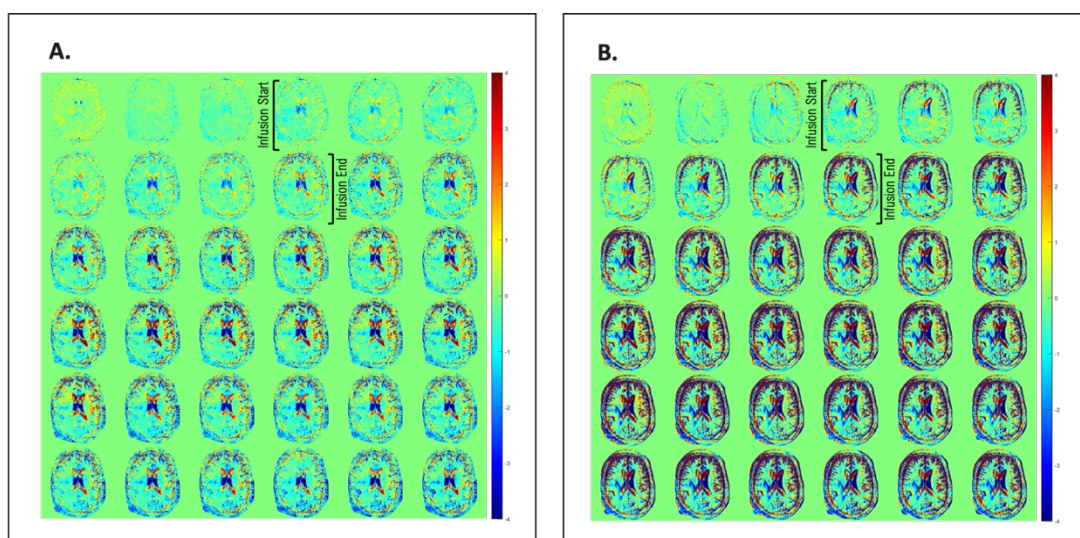
O efeito médio de DGE foi calculado a partir das % médias de S0 após correção de B0 e de movimento. Os valores foram de 0,60% (IC95% 0,47-0,72); 0,41% (IC95% 0,33-0,49); e 0,31% (IC95% 0,07-0,55) aos ROIS 4, 5 e 7, respectivamente na coorte 1. Para a coorte 2, o efeito médio de DGE foi de 0,53% (IC95% 0,47-0,60); 0,51% (IC95% 0,43-0,60); e 0,21% (IC95% 0,04-0,39) aos ROIS 4, 5 e 7, respectivamente. Não houve significância estatística na % média de S0 entre coortes a todos os ROIs. No entanto, a variância média ao efeito DGE após B0 e correção de movimento entre as coortes foi significativamente menor à coorte 2 (0,10 vs 0,27;  $p < 0,0001$ , Bartlett-Box F Test). Nos Gráficos 1A e 1B, pode ser encontrada a variação de sinal às aquisições DGE de todos os ROIS em ambas as coortes.



Variações de sinal na coorte 1 (correção de B0 e movimento) e 2 (correção de B0, movimento e fixação de cabeça com máscara termoplástica). Na coorte 2, a % média de S0 para quase todos os ROIs é negativa, mostrando uma tendência consistente de redução de sinal ao longo do tempo a todos os tecidos, com valores concentrados em torno de - 0,5%. Na coorte 1 temos 10 pacientes e na coorte 2 são 5 pacientes numerados no eixo X

**Gráficos 1A e 1B** mostram a variação de sinal de todos os ROIs nas coortes 1 e 2, respectivamente

Vale a pena notar, antes de qualquer correção ter sido aplicada, que o efeito DGE para ROIs 4, 5 e 7 foi 15%, 42% e 27% na coorte 1 e 4%, 2% e 19% na coorte 2, respectivamente. Estes dados confirmam que as variações de B0 e movimentos são contribuintes significativos para mudanças de sinal (efeitos confundidores). Figura 7



Paciente 13: DGE com correção de movimento (A) e sem correção (B). Na Figura B, há um claro efeito confundidor da movimentação, com aumento artificial na mensuração da intensidade de sinal GlucoCEST.

**Figura 7** - Imagens dinâmicas mostrando o efeito de correção do movimento

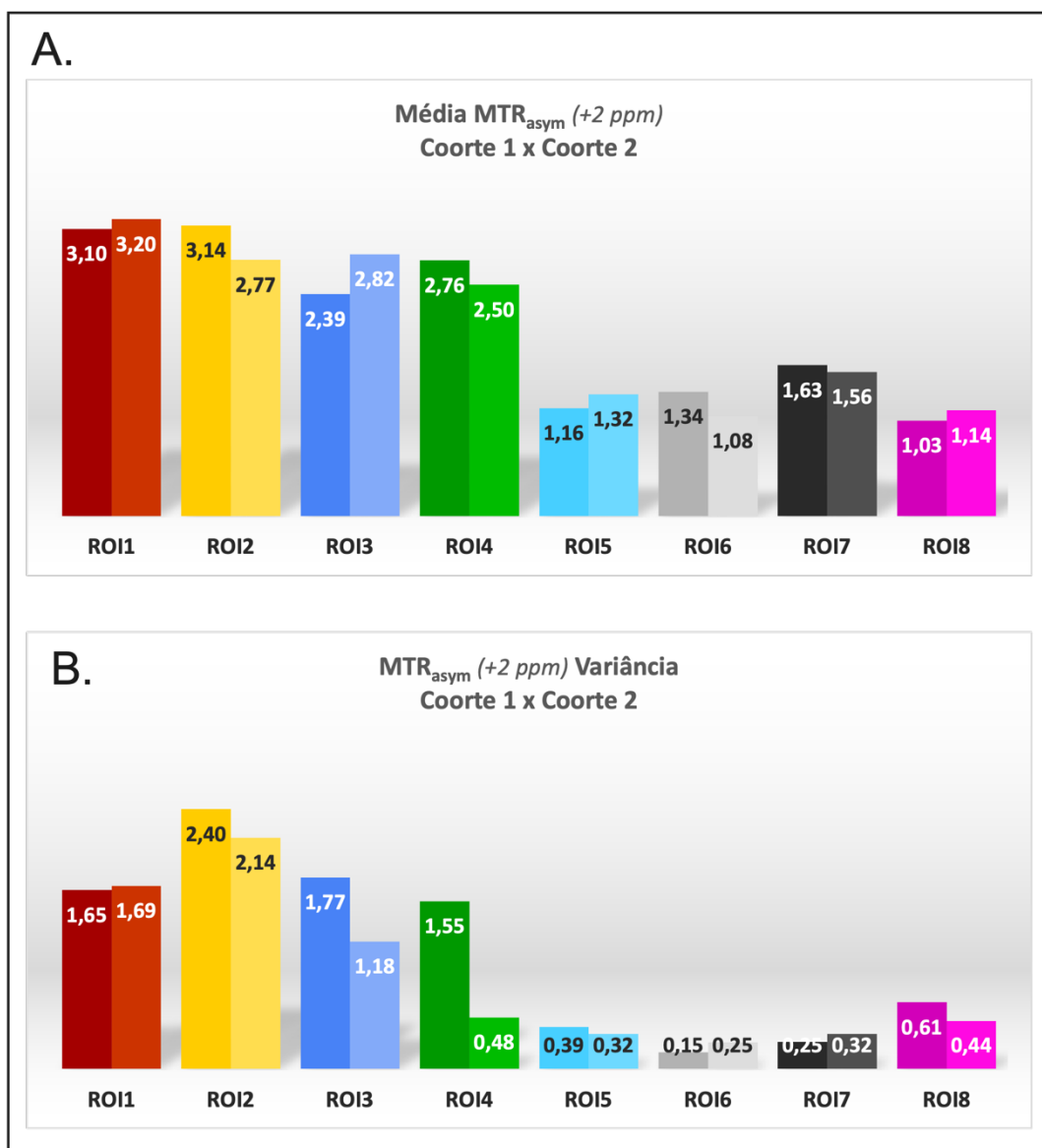
### 5.3.2 GlucoCEST estático (MTRasym + 2 ppm)

Todos os pacientes apresentaram distribuição normal de probabilidades para a variável MTRasym em + 2 ppm na avaliação da média de todos os ROIs, à exceção do paciente 7.

O efeito glucoCEST foi significativamente maior no ROI tumoral 4 do que nos ROIs 5 e 7 de controle ( $p < 0,0001$ ) para ambas as coortes. Os ROIs tumorais tiveram valores médios de MTRasym de 2,70 (IC95% 2,50-2,90) e os ROIs de controle encontraram valores médios de 1,16 (IC95% 1,06-1,27) ( $p < 0,0001$ ). A variância também foi significativamente diferente nos ROIs tumorais e de controle, estimadas em 1,46 e 0,37, respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Os valores para todos os ROIs em ambas as coortes podem ser encontrados no Gráfico 2; a Figura 8 exemplifica o posicionamento dos ROIs e os valores de MTRasym no paciente 13.

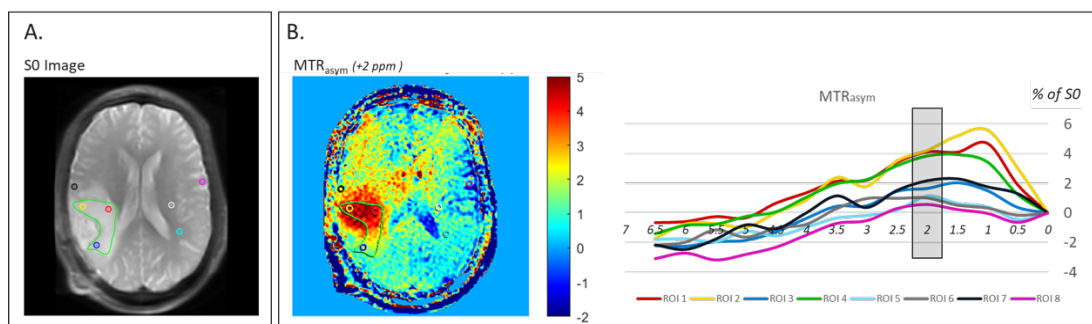
No geral, houve diferença na variância de MTRasym a 2 ppm (efeito glucoCEST) entre diferentes pacientes (teste F de Bartlett-Box;  $p < 0,0001$ ), mas a variância do efeito glucoCEST entre coortes não foi significativa (coorte 1 = 1,71 vs coorte 2 = 1,33).





O Gráfico A mostra a média dos valores de  $MTR_{asym}$  para todos os ROIs em ambas as cortes. Houve significativa diferença de valores entre os ROIs tumorais (1, 2, 3 e 4) e os ROIs de controle (5, 6, 7 e 8) ( $p < 0,0001$ ). No Gráfico B, observamos análise de variância e, novamente, significativa diferença entre os ROIs tumorais e de controle ( $p < 0,0001$ ).

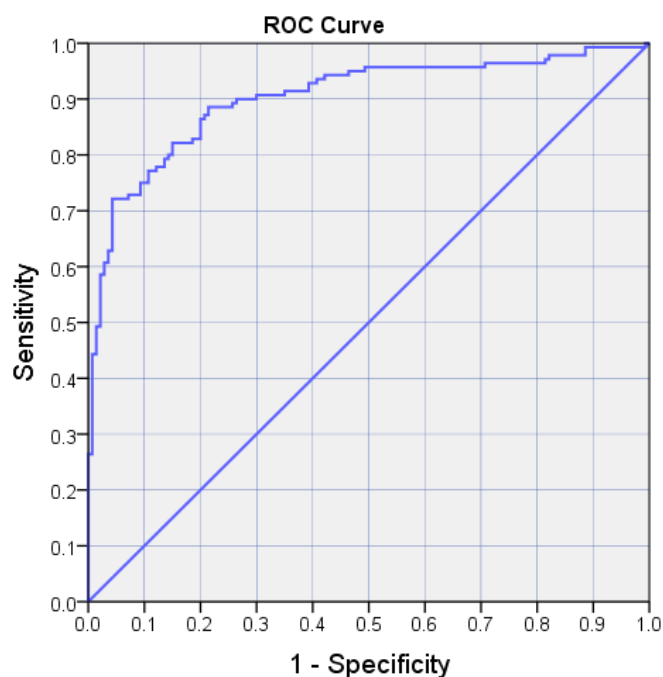
**Gráfico 2** - Coortes 1 e 2 mostram os valores médios de  $MTR_{asym}$  e a variância em +2ppm por ROIs na fase estática, antes da infusão da glicose



**Figura 8A** - Posicionamento dos oito ROIs: ROI 1, 2, 3 em áreas selecionadas do tumor, ROI 4 envolvendo todo o tumor e ROI 5 e 6 na substância branca, ROI 7 e 8 na substância cinzenta (S0 Imagem)

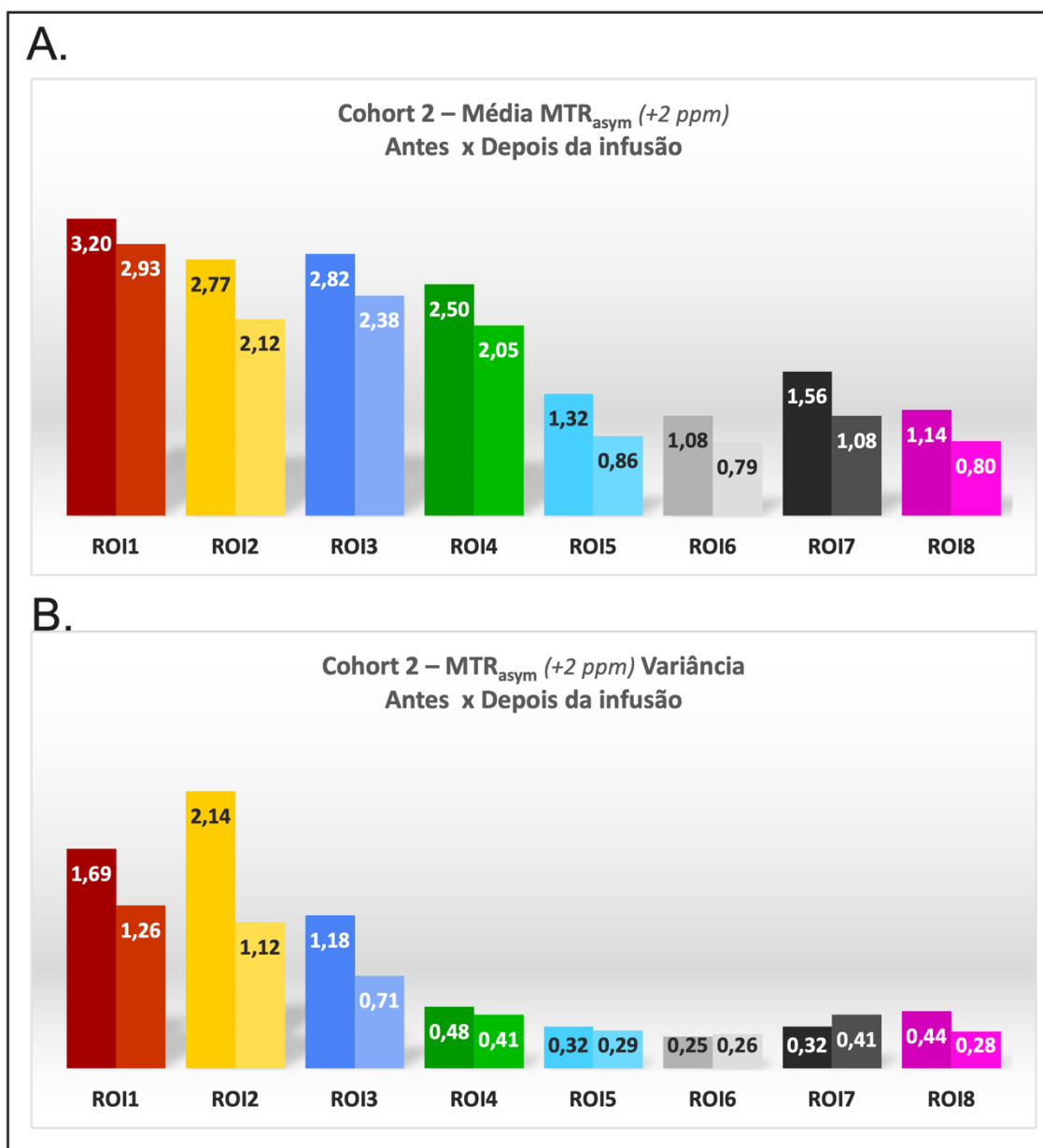
**Figura 8B** - Os valores de MTR<sub>asym</sub> para cada ROI (paciente 13), destaque em +2 ppm, pois é o deslocamento em observação para o efeito glucoCEST

Para análise quantitativa, uma curva ROC foi utilizada para definir o ponto de corte com maior acurácia do MTR<sub>asym</sub> na diferenciação entre ROIs tumorais e normais. A acurácia foi considerada adequada com uma área sob a curva ROC  $> 0,9$  ( $p < 0.0001$ ) (Figura 9). O ponto de corte estabelecido para o MTR<sub>asym</sub> foi de 1,60 para o diagnóstico de tecido tumoral. MTR<sub>asym</sub>  $> 1,6$  demonstrou sensibilidade e especificidade de 88,5% e 77,8%, respectivamente.



**Figura 9 -** Plot mostrando a curva ROC para o MTRAsym em +2ppm. O valor de MTRAsym > 1,6 demonstrou sensibilidade e especificidade de 88,5% e 77,8%, respectivamente

Na análise específica da coorte 2, não houve diferença significativa entre a média dos valores do MTRAsym inicial (pré-injeção) e MTRAsym final (pós-injeção) para ROIs tumorais e de controle, porém observa-se uma tendência de redução dos valores absolutos na segunda aquisição. Novamente, os valores de efeito glucoCEST para o ROI 4 foram significativamente maiores que nos ROIs 5 e ROI 7 ( $p < 0,0001$ ). Além disso, a variância dos ROIs tumorais 1, 2 e 3 foi maior que nos ROIs de controle 5, 6, 7 e 8. ( $p < 0,01$ ). (Gráfico 3)

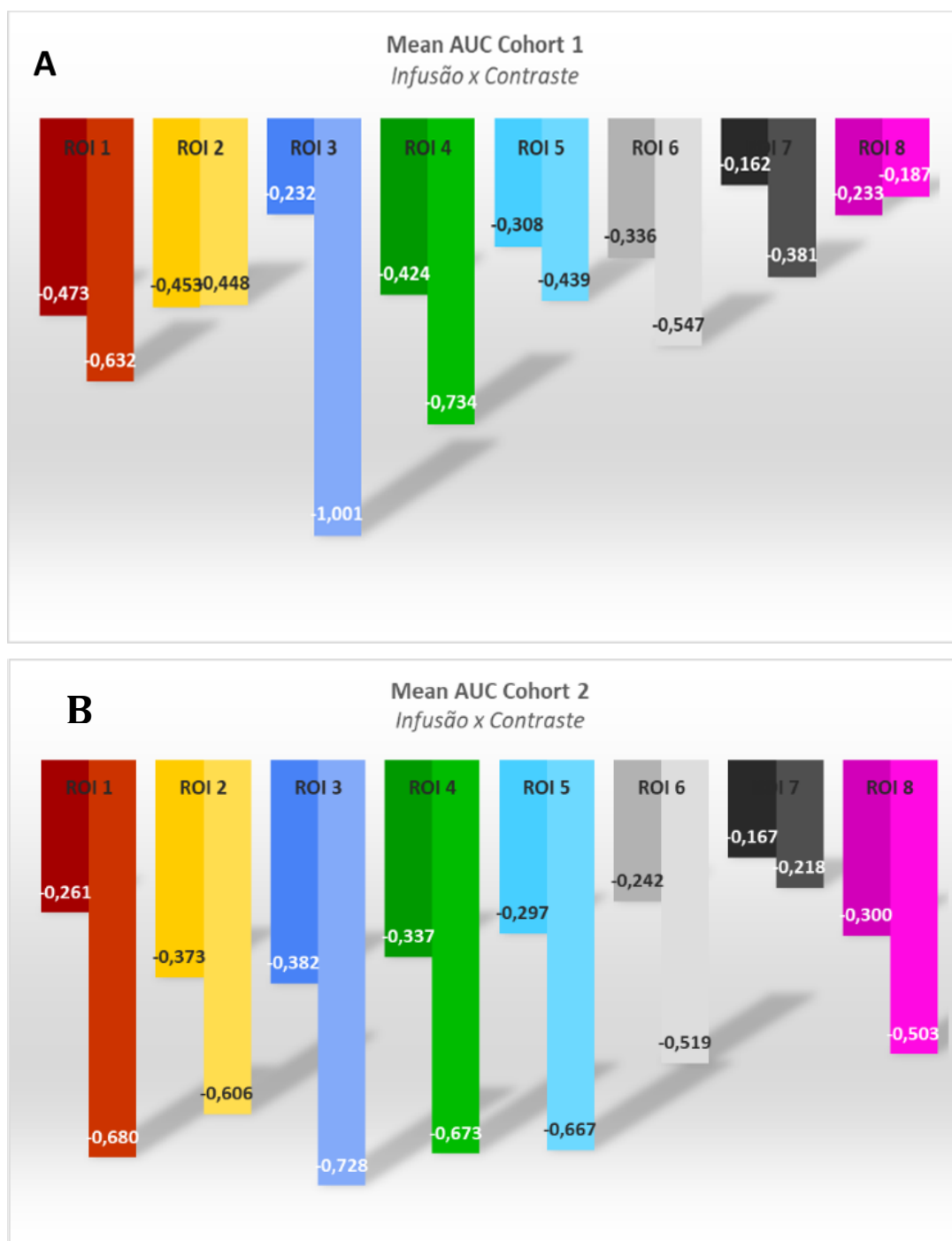


O gráfico A não demonstrou diferenças significativas entre os valores de  $MTR_{asym}$  inicial e final, porém os valores indicaram uma tendência de redução na segunda medição. O gráfico B mostra que a variância dos ROIs tumorais 1, 2 e 3 foi maior que nos ROIs de controle 5, 6, 7 e 8 em ambas as medições.

**Gráfico 3** - Valores médios de  $MTR_{asym}$  da Coorte 2 e variância em +2ppm por ROIs antes e após a infusão de glicose

### 5.3.3 GlucoCEST dinâmico (DGE)

Os resultados de DGE foram restritos aos períodos de infusão e contraste. No geral, o período de infusão (-0,23; IC95% -0,25 - -0,21) apresentou valores médios de AUC significativamente mais altos que o período de contraste (-0,47; IC95% -0,49 - -0,44) ( $p < 0,0001$ ) e variância significativamente menor da média dos valores de AUC (0,05 vs 0,27) ( $p < 0,0001$ ). Estas diferenças significativas também foram observadas para cada ROI individualmente (Gráfico 4).



Os Gráficos demonstram diferença significativa na comparação da média dos valores de AUC ao final do período de infusão com a média dos valores ao final do período de contraste em todos os ROIs ( $p < 0,05$ ). ROIs tumorais (1, 2, 3 e 4) e ROIs de controle (5, 6, 7 e 8)

**Gráfico 4 -** Valores de infusão de AUC versus valores de contraste de AUC (valores médios de todos os pacientes) da coorte 1 (A) e da coorte 2 (B) para todos os ROIs

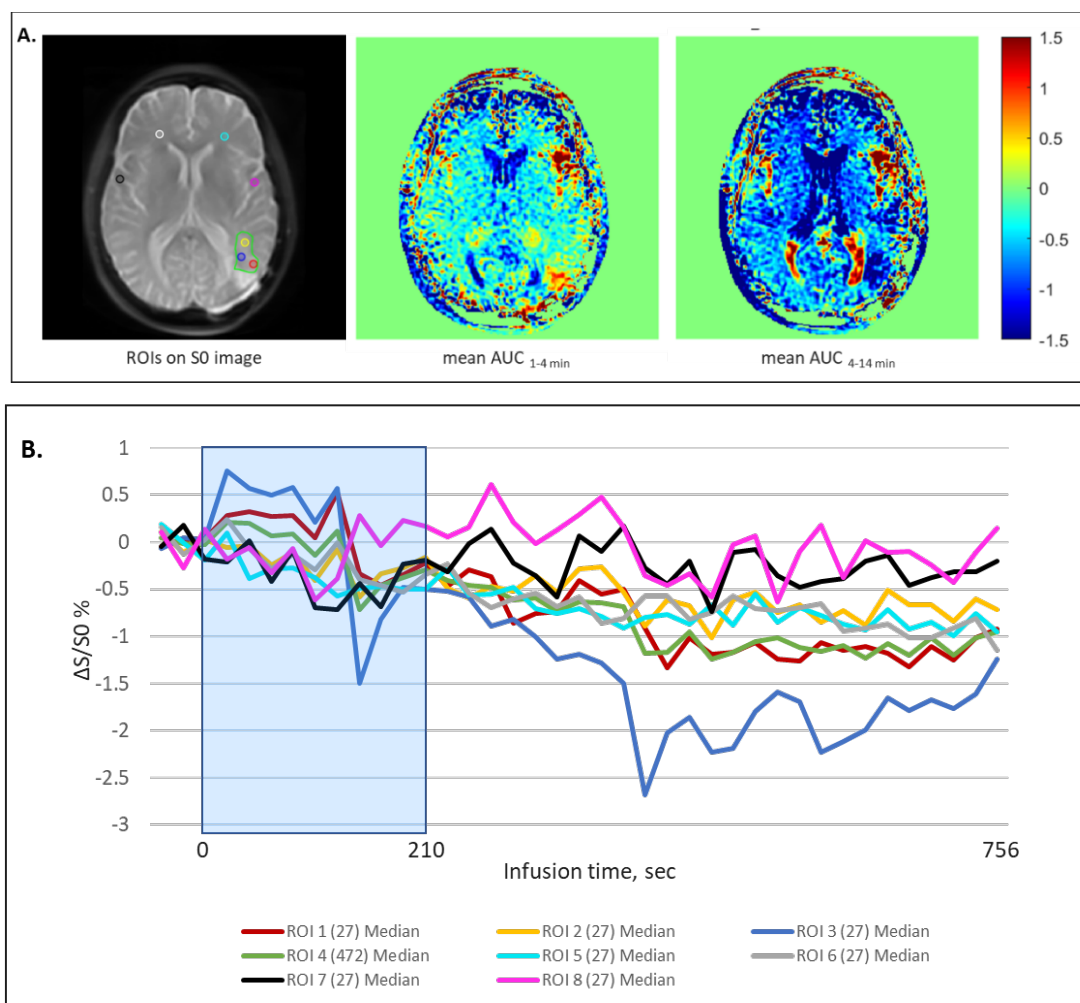


Ilustração do DGE no paciente 19: em A observamos a imagem S0 e as diferenças dinâmicas. Na imagem B, temos a curva em função do tempo para todos os ROIs durante o período de infusão (1-4 min) e no período de contraste (4-14 min). Nota-se a maior variância a partir do final do período de infusão.

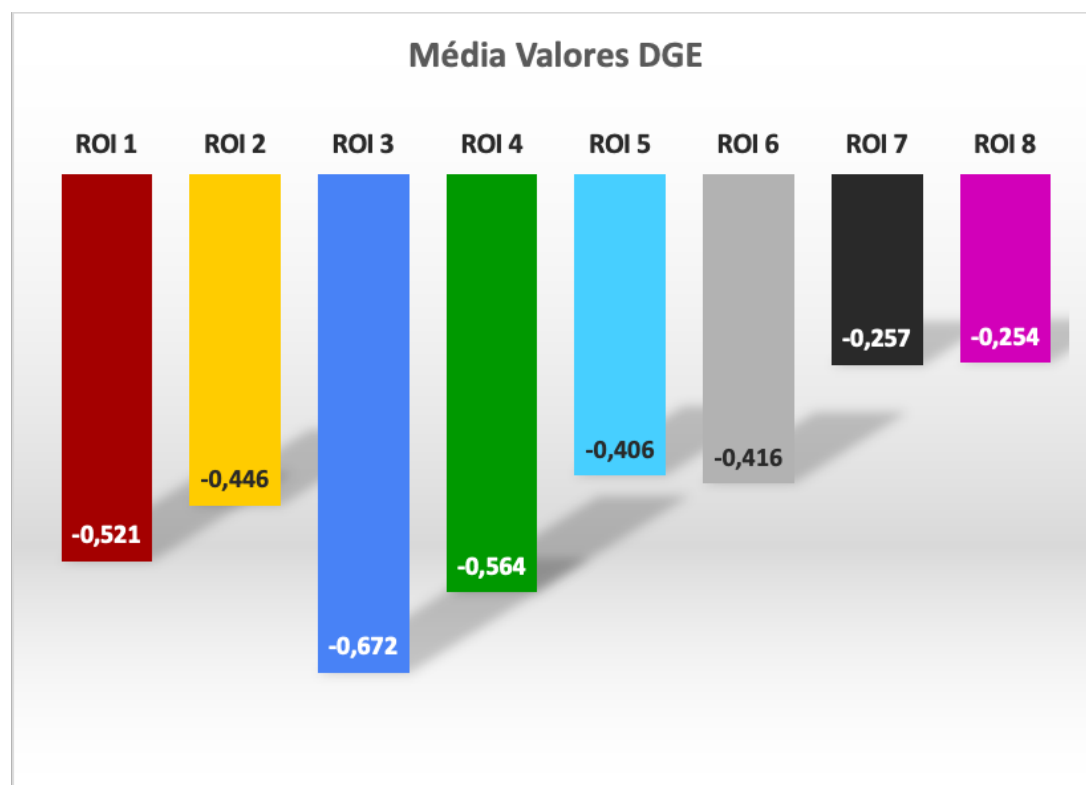
**Figura 10A** - Imagem dos valores médios de DGE AUC1-4 min e DGE AUC4-14 min ao paciente 19 (varredura do 2º dia)

**Figura 10B** - Sinal DGE em função do tempo de infusão. A área hachurada de azul representa o período de infusão

Na análise da média da variação da % de S0 em cada ROI, incluindo as 25 aquisições, observou-se diferença significativa entre o ROI 3 versus ROIs 7 e 8 e entre o ROI 4 versus ROI 8 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 2). Não houve diferença significativa entre os ROIs tumorais e os ROIs da substância branca (5 e 6). (Gráfico 5)

**Tabela 2** - Variação de sinal DGE com significância estatística na comparação dos ROIs tumorais com a substância cinzenta

Comparação	Rank	Probabilidade	Inferior 95%	Superior 95%
8-3	64,52	0,0023	13,3824	115,6576
7-3	51,6	0,0454	0,4624	102,7376
8-4	56,88	0,0143	5,7424	108,0176



Os ROIs de controle 5, 6, 7 e 8 apresentam valores absolutos menores que os ROIs tumorais, porém a diferença estatística foi observada apenas nas comparações 8x3, 7x3 e 8x4. ROIs tumorais (1, 2, 3 e 4) e ROIs de controle (5, 6, 7 e 8)

**Gráfico 5** - Média dos valores de DGE para todos os ROIs nas 25 aquisições



### 5.3.4 Coorte 2 - Análise de repetibilidade

Os cinco pacientes da coorte 2 participaram de dois estudos CEST sequenciais com, pelo menos, 24 horas de intervalo (Figura 10). A análise foi conduzida para determinar a repetibilidade do efeito CEST entre dois estudos sequenciais no mesmo paciente (design de intersessão) usando B0, software de correção de movimento e máscara de cabeça termoplástica personalizada.



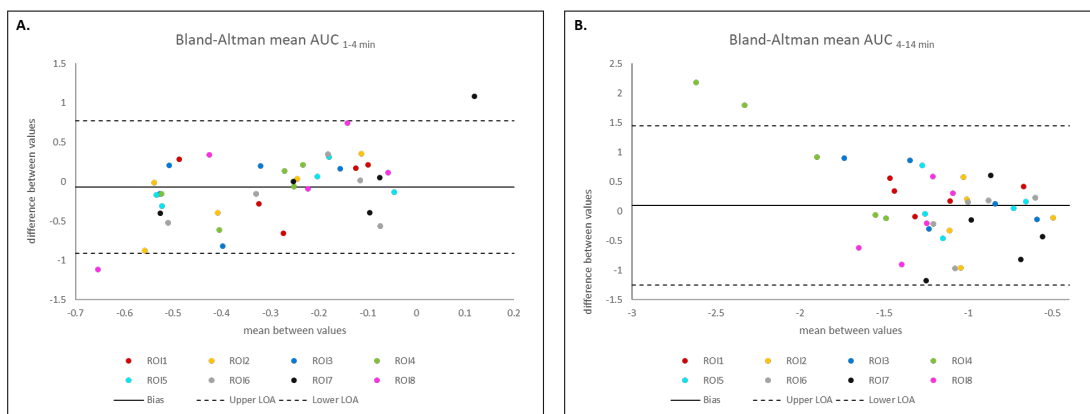
**Figura 11** - Os pacientes foram escaneados duas vezes, usando o mesmo protocolo e o intervalo foi de 24 horas. O mesmo corte foi utilizado para ambos os testes e os ROIs foram selecionados e posicionados apenas no estudo 1. No estudo 2, o posicionamento dos ROIs foi feito de maneira automática, exatamente igual ao estudo anterior

Não houve diferença no efeito glucoCEST entre os dois estudos com 24 horas de diferença considerando a média do MTRasym de todos os ROIs. (Tabela 3)

**Tabela 3** - Comparação entre as médias dos valores de MTRasym no dia 1 com o dia 2 de todos os ROIs

Paciente	Dia	Média	Variância	Inferior 95%	Superior 95%
1	Dia 1	-0,5328	0,0637	-1,1598	0,0943
	Dia 2	-0,6010	0,0381	-1,0861	-0,1159
2	Dia 1	-0,4312	0,0011	-0,5151	-0,3473
	Dia 2	-0,3861	0,2510	-1,6306	0,8584
3	Dia 1	-0,2761	0,0179	-0,6087	0,0565
	Dia 2	-0,2515	0,0179	-0,5842	0,0812
4	Dia 1	-0,9142	0,0013	-1,0045	-0,8238
	Dia 2	-0,5138	0,0540	-1,0910	0,0633
5	Dia 1	0,1579	0,4426	-1,4949	1,8106
	Dia 2	-0,3986	0,0105	-0,6530	-0,1442

Os gráficos de Bland–Altman mostraram boa repetibilidade para a mediana dos valores de AUC, com a maioria dos pontos dentro das duas barras de erro (dois desvios-padrão) na coorte 2, em ambas as fases de perfusão e contraste.



O eixo x representa a média das primeira e segunda aquisições. O eixo y representa a diferença das primeira e da segunda aquisições. Cada ponto representa um paciente da coorte 2 e a cor indica o ROI que está sendo comparado. As linhas sólidas são as diferenças médias  $\bar{d}$  para cada ROI e as linhas pontilhadas são  $\bar{d} - 1,96Sd$  (inferior) e  $\bar{d} + 1,96Sd$  (superior).

**Gráfico 6 - A)** Gráfico de Bland-Altman para AUC1-4 min médio em todos os ROIs da coorte 2 comparando dia 1 vs. dia 2. **B)** Gráfico de Bland-Altman para AUC4-14 min média em todos os ROIs do coorte 2 comparando dia 1 vs. dia 2

## **6 DISCUSSÃO**

---

---

## 6 DISCUSSÃO

Esta é a maior coorte de pacientes com tumores cerebrais primários na qual imagens estáticas e de DGE foram adquiridas em campo magnético clínico de 3T. O estudo demonstrou que a variação da % de sinal de S0 para o DGE foi 0,60% no ROI tumoral, após as correções de movimento/B0 e 0,53% quando foi adicionada a máscara termoplástica. Na coorte 2 essa variação demonstrou uma clara tendência negativa para quase todos os ROIs, com redução de sinal dos tecidos ao longo do tempo de aquisição, em concordância com os dados descritos por Xu et al <sup>(40)</sup>. Além disso, o sinal glucoCEST foi significativamente diferente entre as regiões tumorais e áreas normais de SB e SC na avaliação estática pelo MTRasym. O valor de MTRasym > 1,6 apresentou sensibilidade e especificidade de 88,5% e 77,8%, respectivamente.

Este estudo também abordou os dados de repetibilidade de dois procedimentos CEST sequenciais, com a maioria dos dados dentro de dois desvios padrão nos gráficos de dispersão de Bland-Altman, tanto no período de infusão, como de contraste. Semelhante a outros estudos de viabilidade relatados do glucoCEST, realizamos simulações em fantomas, voluntários saudáveis e pacientes com tumores cerebrais primários <sup>(38)</sup>.

Em razão da estrutura molecular da glicose, pelo menos quatro diferentes compensações (*offsets*) podem provocar o efeito glucoCEST em condições fisiológicas (0,66, 1,28, 2,08 e 2,88 ppm), conforme Zaiss et al. <sup>(41)</sup>. Nosso estudo observou melhores resultados em um deslocamento de 2 ppm para detectar glucoCEST (B1 de 2  $\mu$ T), consistente com outras publicações, com média do

valor de MTRasym de 2,70% para o ROI tumoral, após correção de movimento e de B0, sendo este valor acima do limite de 2% considerado artefactual <sup>(4, 40, 41)</sup>. Outros autores mostraram um sinal glucoCEST com valor de cerca de 2.02% nas áreas tumorais em equipamento de 7T <sup>(42)</sup>.

A glicose contribui para o efeito CEST a + 2 ppm. Creatina, pH, fosfocreatina e outros metabólitos também contribuem para o sinal CEST nesta frequência de compensação (+ 2 ppm) e são visualizados juntos no mapa MTRasym <sup>(24)</sup>. Estas influências, apesar de presentes nos mapas de MTRasym, não deveriam ser significativas nos mapas dinâmicos (DGE), uma vez que se observa sobretudo a variação da intensidade de sinal causada pela administração de glicose <sup>(4)</sup>. As aquisições de DGE pós-injeção de glicose foram ajustadas ao mapa de referência de linha de base, portanto, indicando preferencialmente a variação de glicose. Para as aquisições de DGE, a amostragem de uma faixa de frequências de deslocamento (entre +3 ppm e +1 ppm) em vez de apenas + 2 ppm permitiu a correção de B0 no deslocamento alvo, reduzindo os artefatos de não homogeneidade de B0.

Embora a variação na % de sinal seja pequena para o DGE (0,53%), as aquisições dinâmicas identificaram diferenças na variação de sinal entre os ROIs tumorais 3 e 4 versus ROIs 7 e 8 localizados na substância cinzenta. Além disso, o DGE demonstrou diferenças significativas entre os valores de AUC da fase de infusão e da fase contrastada para todos os ROIs em ambas as coortes, com variância maior dos ROIs tumorais. Esta observação pode ser relacionado com o efeito Warburg observado em tecidos neoplásicos cerebrais, onde as células dependem de glicólise mesmo na presença de oxigênio <sup>(31)</sup>. Como mostrado por

outros <sup>(40, 43, 44)</sup>, esta informação metabólica pode ser uma importante contribuição do DGE para a prática clínica.

Há poucos estudos pré-clínicos comparando diretamente glucoCEST com [18F]F-FDG-PET/CT e fatores de confusão devem ser levados em consideração usando esta abordagem, especialmente, dependência de pH, resposta à insulina, primeiros metabólitos de glicose fornecendo contraste CEST e distribuição compartimental <sup>(7)</sup>.

Os tumores cerebrais primários apresentam uma complexa variação de patologias, algumas das quais estão representadas neste estudo em diferentes momentos do tratamento, desde tumores recém diagnosticados até pacientes pós quimio e pós radioterapia. Dessa forma, nossa abordagem foi baseada na comparação entre tecido patológico e tecido normal. Nasrallah et al. <sup>(45)</sup> publicaram dados sugerindo que os sinais de glucoCEST refletiam a captação e o metabolismo da desoxiglicose, com pouca influência no fluxo sanguíneo cerebral ou na concentração de glicose no sangue.

Essa amostra heterogênea de pacientes introduziu um viés na análise dos dados do glucoCEST. Estudos anteriores demonstraram que tecidos irradiados apresentam diferentes parâmetros funcionais, sendo que áreas de recorrência são mais perfundidas, com CBV relativo maior que 2,2. Parâmetros de permeabilidade ( $K_{trans}$ ) e de celularidade tecidual (difusão) também se mostraram úteis na diferenciação da radionecrose de recorrência, porém com acurácia menor de 75,5% e 71,3%, respectivamente <sup>(46)</sup>. Por outro lado, a presença de sangue e seus produtos de degradação em diferentes fases de evolução também alteram a análise de parâmetros funcionais, notadamente a

difusão<sup>(47)</sup>. Dessa forma, a análise de glucoCEST deve considerar as diferentes composições teciduais em estudos futuros, dentro de uma visão multiparamétrica da RM.

A correção de movimento foi um elemento fundamental neste estudo. Na coorte 1, alguns pacientes exibiram alguns movimentos de inclinação e rotação lateral da cabeça. Em razão das aquisições de corte único, o algoritmo de correção do movimento não conseguiu corrigir adequadamente esses movimentos, o que pode levar a leituras incorretas na comparação de estudos entre pacientes<sup>(48)</sup>. Para os pacientes da coorte 2, a máscara termoplástica personalizada foi utilizada para imobilizar a cabeça e minimizar o movimento durante as aquisições. Esta máscara foi considerada confortável pelos pacientes e adequada para a prática clínica. Como resultado, nem a inclinação longitudinal da cabeça ou movimentos de rolagem lateral foram observados na coorte 2, permitindo um adequado funcionamento do algoritmo de correção. Uma estratégia semelhante também foi utilizada por Wang et al.<sup>(49)</sup>.

A análise de repetibilidade na coorte 2 mostrou boa concordância entre as medidas na fase dinâmica. Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a testar a repetibilidade em um cenário clínico para tumores cerebrais primários e estudos futuros são necessários para definir se o intervalo de concordância é suficiente para uso clínico.

A segunda aquisição do Z-Spectrum ao final da aquisição dinâmica na coorte 2 foi realizada, permitindo um segundo cálculo de B0. Não houve diferença significativa entre o MTRasym inicial e o MTRasym final, embora tenha sido observada uma tendência para uma redução dos valores na segunda



---

aquisição. Notavelmente, esta observação mostra que este estudo deve ter mitigado um importante viés nas aquisições CEST, relacionado com flutuação do B0 devido ao aquecimento durante as aquisições, como descrito por Simegn et al. <sup>(50)</sup>.

Nosso estudo apresenta várias limitações. Embora tenhamos buscado as melhores técnicas de correção de movimento, incluindo a máscara termoplástica, a pequena intensidade na variação de sinal ainda pode ser atribuída a artefatos não corrigidos. Este foi um estudo de viabilidade, de forma que utilizamos o mesmo scanner em todas as aquisições, num pequeno número de pacientes e com análise em apenas um corte (*single slice*). A população foi heterogênea, incluindo pacientes com diferentes tumores cerebrais primários, em distintas fases do tratamento. A comparação entre efeito glucoCEST e dados de perfusão/difusão ou transferência de prótons amida (APT) não foi realizada, porém este é um desdobramento programado para o projeto. Finalmente, as contribuições de cada compartimento tecidual (vascular, intersticial e intracelular) para o sinal glucoCEST devem ser avaliadas em estudos futuros numa coorte mais homogênea.

## **7 CONCLUSÕES**

---

---

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados mostram que as aquisições dinâmicas DGE são possíveis em campo magnético de uso clínico de 3 Tesla quando utilizadas ferramentas adequadas de correção de movimento e de B0, inclusive a máscara termoplástica customizável. Embora haja uma baixa variação de sinal nas aquisições dinâmicas, foi possível detectar diferenças entre as regiões tumorais e a substância cinzenta.

A análise estática pelo MTRasym conseguiu diferenciar de forma acurada os tecidos tumorais dos tecidos normais.

Os dados mostraram boa repetibilidade, mas o valor desta informação deve ser avaliado em cenários clínicos específicos.

Estudos futuros comparando glucoCEST com técnicas de RM funcionais, como imagem ponderada em difusão e perfusão, são necessários em amostras homogêneas de pacientes.

## **8 REFERÊNCIAS**

---

---

## 8 REFERÊNCIAS

1. Vinogradov E, Sherry AD, Lenkinski RE. CEST: from basic principles to applications, challenges and opportunities. *J Magn Reson Imaging*. 2013;229:155-72.
2. Wu B, Warnock G, Zaiss M, Lin C, Chen M, Zhou Z, Mu L, Nanz D, Tuura R, Delso G. An overview of CEST MRI for non-MR physicists. *EJNMMI Phys*. 2016;3(1):19.
3. Wilson M, Andronesi O, Barker PB, Bartha R, Bizzi A, Bolan PJ, Brindle KM, Choi IY, Cudalbu C, Dydak U, Emir UE, Gonzalez RG, Gruber S, Gruetter R, Gupta RK, Heerschap A, Henning A, Hetherington HP, Huppi PS, Hurd RE, Kantarci K, Kauppinen RA, Klomp DWJ, Kreis R, Kruiskamp MJ, Leach MO, Lin AP, Luijten PR, Marjańska M, Maudsley AA, Meyerhoff DJ, Mountford CE, Mullins PG, Murdoch JB, Nelson SJ, Noeske R, Öz G, Pan JW, Peet AC, Poptani H, Posse S, Ratai EM, Salibi N, Scheenen TWJ, Smith ICP, Soher BJ, Tkáč I, Vigneron DB, Howe FA. Methodological consensus on clinical proton MRS of the brain: Review and Recommendations. *Magn Reson Med*. 2019;82(2):527-50.
4. Xu X, Yadav NN, Knutsson L, Hua J, Kalyani R, Hall E, Laterra J, Blakeley J, Strowd R, Pomper M, Barker P, Chan K, Liu G, McMahon MT, Stevens RD, van Zijl PC. Dynamic Glucose-Enhanced (DGE) MRI: Translation to human scanning and first results in glioma patients. *Tomography*. 2015;1(2):105-14.
5. Chan KW, McMahon MT, Kato Y, Liu G, Bulte JW, Bhujwala ZM, Artemov D, van Zijl PC. Natural D-Glucose as a biodegradable MRI contrast agent for detecting cancer. *Magn Reson Med*. 2012;68(6):1764-73

6. Walker-Samuel S, Ramasawmy R, Torrealdea F, Rega M, Rajkumar V, Johnson SP, Richardson S, Gonçalves M, Parkes HG, Arstad E, Thomas DL, Pedley RB, Lythgoe MF, Golay X. In vivo imaging of glucose uptake and metabolism in tumors. *Nat Med*. 2013;19(8):1067-72.
7. Capozza M, Anemone A, Dhakan C, Della Peruta M, Bracesco M, Zullino S, Villano D, Terreno E, Longo DL, Aime S. GlucoCEST MRI for the evaluation response to chemotherapeutic and metabolic treatments in a murine triple-negative breast cancer: a comparison with [18F]F-FDG-PET. *Mol Imaging Biol*. 2022;24(1):126-34.
8. Herz K, Lindig T, Deshmane A, Schittenhelm J, Skardelly M, Bender B, Ernemann U, Scheffler K, Zaiss M. T1p-based dynamic glucose-enhanced (DGEp) MRI at 3 T: method development and early clinical experience in the human brain. *Magn Reson Med*. 2019;82(5):1832-47.
9. Wyss PO, Huber E, Curt A, Kollias S, Freund P, Henning A. MR spectroscopy of the cervical spinal cord in chronic spinal cord injury. *Radiology*. 2019;291(1):131-8.
10. Hellström J, Zapata RR, Libard S, Wikström J, Ortiz-Nieto F, Alafuzoff I, Raininko R. The value of magnetic resonance spectroscopy as a supplement to MRI of the brain in a clinical setting. *PLoS One*. 2018;13(11):e0207336.
11. Dong Z, Andrews T, Xie C, Yokoo T. Advances in MRI techniques and applications. *Biomed Res Int*. 2015;2015:139043.
12. Wolff SD, Balaban RS. NMR imaging of labile proton exchange. *J Magn Reson*. 1990;86(1):164-9.
13. Van Zijl PCM, Yadav NN. Chemical exchange saturation transfer (CEST): What is in a name and what isn't? *Magn Reson Med*. 2011;65(4):927-48.

14. Cai K, Haris M, Singh A, Kogan F, Greenberg JH, Hariharan H, Detre JA, Reddy R. Magnetic resonance imaging of glutamate. *Nat Med.* 2012;18(2):302-6.
15. Ling W, Regatte RR, Navon G, Jerschow A. Assessment of glycosaminoglycan concentration in vivo by chemical exchange-dependent saturation transfer (gagCEST). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(7):2266-70.
16. Van Zijl PCM, Jones CK, Ren J, Malloy CR, Sherry AD. MRI detection of glycogen in vivo by using chemical exchange saturation transfer imaging (glycoCEST). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(11):4359-64.
17. Walker-Samuel S, Ramasawmy R, Torrealdea F, Rega M, Rajkumar V, Johnson SP, Richardson S, Gonçalves M, Parkes HG, Arstad E, Thomas DL, Pedley RB, Lythgoe MF, Golay XI. In vivo imaging of glucose uptake and metabolism in tumors. *Nat Med.* 2013;19(8):1067-72.
18. Longo DL, Dastrù W, Digilio G, Keupp J, Langereis S, Lanzardo S, Prestigio S, Steinbach O, Terreno E, Uggeri F, Aime S. Iopamidol as a responsive MRI-chemical exchange saturation transfer contrast agent for pH mapping of kidneys: In vivo studies in mice at 7 T. *Magn Reson Med.* 2011;65(1):202-11.
19. Jones KM, Pollard AC, Pagel MD. Clinical applications of chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI. *J Magn Reson Imaging.* 2018;47(1):11-27.
20. Hua J, Jones CK, Blakeley J, Smith SA, Van Zijl PCM, Zhou J. Quantitative description of the asymmetry in magnetization transfer effects around the water resonance in the human brain. *Magn Reson Med.* 2007;58(4):786-93.

- 
21. Sun PZ, Zhou J, Sun W, Huang J, Van Zijl PCM. Suppression of lipid artifacts in amide proton transfer imaging. *Magn Reson Med*. 2005;54(1):222-5.
  22. Overhauser AW. Polarization of nuclei in metals. *Phys Rev*. 1953;92(2):411-5.
  23. Zhang XY, Wang F, Li H, Xu J, Gochberg DF, Gore JC, Zu Z. Accuracy in the quantification of chemical exchange saturation transfer (CEST) and relayed nuclear Overhauser enhancement (rNOE) saturation transfer effects. *NMR Biomed*. 2017;30(7):10.1002/nbm.3716.
  24. Khlebnikov V, van der Kemp WJM, Hoogduin H, Klomp DWJ, Prompers JJ. Analysis of chemical exchange saturation transfer contributions from brain metabolites to the Z-spectra at various field strengths and pH. *Sci Rep*. 2019;9(1):1089.
  25. Vardal J, Salo RA, Larsson C, Dale AM, Holland D, Groote IR, Bjørnerud A. Correction of b<sub>0</sub>-distortions in echo-planar-imaging-based perfusion-weighted mri. *J Magn Reson Imaging*. 2014;39(3):722-8.
  26. Sun PZ, Farrar CT, Sorensen AG. Correction for artifacts induced by B<sub>0</sub> and B<sub>1</sub> field inhomogeneities in pH-sensitive chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging. *Magn Reson Med*. 2007;58(6):1207-15.
  27. Liang Y, Bie C, Chen B, Hou Y, Song X. Motion correction in CEST MRI series exploiting Adaptive Stochastic Gradient Descent (ASGD) - Based optimization algorithm. *2019 Int Conf Med Imaging Phys Eng ICMIPe 2019*. 2019;3(61601364):1-7.
  28. Bie C, Liang Y, Zhang L, Zhao Y, Chen Y, Zhang X, He X, Song X. Motion correction of chemical exchange saturation transfer MRI series using robust principal component analysis (RPCA) and PCA. *Quant Imaging Med Surg*. 2019;9(10):1697-713.



- 
29. Jin T, Autio J, Obata T, Kim SG. Spin-locking versus chemical exchange saturation transfer MRI for investigating chemical exchange process between water and labile metabolite protons. *Magn Reson Med*. 2011;65(5):1448-60.
30. Kim M, Torrealdea F, Adeleke S, Rega M, Evans V, Beeston T, Soteriou K, Thust S, Kujawa A, Okuchi S, Isaac E, Piga W, Lambert JR, Afaq A, Demetriou E, Choudhary P, Cheung KK, Naik S, Atkinson D, Punwani S, Golay X. Challenges in glucoCEST MR body imaging at 3 Tesla. *Quant Imaging Med Surg*. 2019;9(10):1628-40.
31. Zhang C, Liu J, Liang Y, Wu R, Zhao Y, Hong X, Lin M, Yu H, Liu L, Levine AJ, Hu W, Feng Z. Tumour-associated mutant p53 drives the Warburg effect. *Nat Commun*. 2013;4:2935.
32. Warburg O. The metabolism of carcinoma cells. *J Cancer Res*. 1925;9:148—63.
33. Warburg O. On the origin of cancer cells. *Science*. 1956;123:309-14.
34. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 196, de 10 de outubro de 1996. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos [Internet]. 1996 [cited 2022 mar 01]. Available from: [Http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1996/res0196\\_10\\_10\\_1996.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/1996/res0196_10_10_1996.html).
35. Newitt DC, Zhang Z, Gibbs JE, Partridge SC, Chenevert TL, Rosen MA, Bolan PJ, Marques HS, Aliu S, Li W, Cimino L, Joe BN, Umphrey H, Ojeda-Fournier H, Dogan B, Oh K, Abe H, Drukteinis J, Esserman LJ, Hylton NM; ACRIN Trial Team and I-SPY 2 TRIAL Investigators. Test-retest repeatability and reproducibility of ADC measures by breast DWI: results from the ACRIN 6698 trial. *J Magn Reson Imaging*. 2019;49(6):1617-28..

- 
36. Chan RW, Lawrence LSP, Oglesby RT, Chen H, Stewart J, Theriault A, Campbell M, Ruschin M, Myrehaug S, Atenafu EG, Keller B, Chugh B, MacKenzie S, Tseng CL, Detsky J, Maralani PJ, Czarnota GJ, Stanisiz GJ, Sahgal A, Lau AZ. Chemical exchange saturation transfer MRI in central nervous system tumours on a 1.5 T MR-Linac. *Radiother Oncol.* 2021;162:140-9.
37. Terreno E, Stancanella J, Longo D, Delli Castelli D, Milone L, Sanders HM, Kok MB, Uggeri F, Aime S. Methods for an improved detection of the MRI-CEST effect. *Contrast Media Mol Imaging.* 2009;4(5):237-47.
38. Rodrigues MI, Iemma AF. Experimental design and process optimization. In: Rodrigues MI, Iemma AF. *Experimental design and process optimization.* Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2015. p. 318.
39. Altman DG, Bland JM. Measurement in Medicine: The Analysis of Method Comparison Studies. *Journal of the Royal Statistical Society Series D (The Statistician).* 1983;32(3):307-17.
40. Xu X, Sehgal AA, Yadav NN, Laterra J, Blair L, Blakeley J, Seidemo A, Coughlin JM, Pomper MG, Knutsson L, van Zijl PCM. d-glucose weighted chemical exchange saturation transfer (glucoCEST)-based dynamic glucose enhanced (DGE) MRI at 3T: early experience in healthy volunteers and brain tumor patients. *Magn Reson Med.* 2020;84(1):247-62.
41. Zaiss M, Anemone A, Goerke S, Longo DL, Herz K, Pohmann R, Aime S, Rivlin M, Navon G, Golay X, Scheffler K. Quantification of hydroxyl exchange of D-Glucose at physiological conditions for optimization of glucoCEST MRI at 3, 7 and 9.4 Tesla. *NMR Biomed.* 2019;32(9):e4113.
42. Schuenke P, Paech D, Koehler C, Windschuh J, Bachert P, Ladd ME, Schlemmer HP, Radbruch A, Zaiss M. Fast and quantitative T1p-weighted dynamic glucose enhanced MRI. *Sci Rep.* 2017;7:42093.

- 
43. Paech D, Schuenke P, Koehler C, Windschuh J, Mundiyanapurath S, Bickelhaupt S, Bonekamp D, Bäumer P, Bachert P, Ladd ME, Bendszus M, Wick W, Unterberg A, Schlemmer HP, Zaiss M, Radbruch A. T1r-weighted Dynamic glucose- enhanced MT imaging in the human brain. *Radiology*. 2017;285(3):914-22.
44. Bender B, Herz K, Deshmane A, Richter V, Tabatabai G, Schittenhelm J, Skardelly M, Scheffler K, Ernemann U, Kim M, Golay X, Zaiss M, Lindig T. GLINT: GlucoCEST in neoplastic tumors at 3 T—clinical results of GlucoCEST in gliomas. *MAGMA*. 2022;35(1):77-85.
45. Nasrallah FA, Pagès G, Kuchel PW, Golay X, Chuang KH. Imaging brain deoxyglucose uptake and metabolism by glucoCEST MRI. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2013;33(8):1270-8.
46. Nael K, Bauer AH, Hormigo A, Lemole M, Germano IM, Puig J, Stea B. Multiparametric MRI for differentiation of radiation necrosis from recurrent tumor in patients with treated glioblastoma. *Am J Roentgenol*. 2018;210(1):18-23.
47. Şanlı D, Ünal Ö, Bora A, Beyazal M, Yavuz A, Avcu S. Diffusion-weighted MRI in the diagnosis of intracranial hematomas. *East J Med*. 2013;18(4):185-94.
48. Zaiss M, Herz K, Deshmane A, Kim M, Golay X, Lindig T, Bender B, Ernemann U, Scheffler K. Possible artifacts in dynamic CEST MRI due to motion and field alterations. *J Magn Reson*. 2019;298:16-22.
49. Wang J, Weygand J, Hwang KP, Mohamed ASR, Ding Y, Fuller CD, Lai SY, Frank SJ, Zhou J. Magnetic resonance imaging of glucose uptake and metabolism in patients with head and neck cancer. *Sci Rep*. 2016;6:30618.

50. Simegn GL, Alhamud A, van der Kouwe AJW, Meintjes E, Robertson F. Repeatability and reproducibility of prospective motion- and shim corrected 2D glycoCEST MRI. *Quant Imaging Med Surg.* 2019;9(10):1674-85.

## **9 ANEXOS**

---

---

## ANEXO A

HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS /  
SOCIEDADE BENEFICENTE DE  
SENHORAS



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:**  $\zeta$ Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do metabolismo tecidual em células tumorais usando a técnica Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) $\zeta$

**Pesquisador:** Regis Otaviano Franca Bezerra

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 27682719.0.0000.5461

**Instituição Proponente:** Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês

**Patrocinador Principal:** Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.813.332

**Apresentação do Projeto:**

Desenho: Inicialmente o tumor será localizado através das seqüências anatômicas realizadas no protocolo padrão de RM dirigida para esses tumores. Após essa etapa, será iniciado o protocolo experimental CEST. O protocolo utilizado consiste em usar inicialmente a compensação B0 para aliviar os efeitos off-resonance (RF offset=de +7 to -7 ppm in 0.5ppm step, total 29 offsets. 87seg/ RF B1=0.5 microT). Depois será aplicado antes da injeção da glicose a seguinte estratégia: RF offset=from +7 to -7 ppm in 0.5ppm step, total 29 offsets. 87seg/RF B1=TBD. Após essas fases iniciais, será feita injeção contínua de 250 ml de soro glicosado 5% em infusão rápida. A aquisição dinâmica do CEST será realizada com o seguinte protocolo em três fases sequenciais: 1-RF offset: from +2 to 0 ppm in 0.5ppm step, 5 offsets, n = 18 phases (more frequent), Total  $2+5*18 = 92$  offsets = 276 sec/ 2- RF offset: from +5 to -2 ppm in 0.5ppm step, 15 offsets, n = 6 phases, Total  $2+15*6 = 92$  offsets = 276 sec/ 3- RF offset: from +7 to -7 ppm in 0.5ppm step, 29 offsets, n = 3 phases (less frequent), Total  $2+3*29 = 89$  offsets = 267 sec). O pós-processamento das imagens será feito em software desenvolvido pelo fabricante do equipamento com objetivo de quantificar o sinal da glicose no interior do tumor comparando-o aos tecidos adjacentes normais.

Resumo: No CEST, a magnetização é transferida de outras moléculas para a molécula de água e,

**Endereço:** Rua Barata Ribeiro nº 269

**Bairro:** Bela Vista

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)3394-5701

**CEP:** 01.308-000

**E-mail:** cepesq@hsl.org.br

HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS /  
SOCIEDADE BENEFICENTE DE  
SENHORAS



Continuação do Parecer: 3.813.332

portanto, o efeito de saturação (redução de sinal) pode ser observado na água. A condição para que isso aconteça é que a substância química avaliada tenha um próton de hidrogênio (1H) trocável com a água. Na prática, um pulso de ressonância é aplicado na frequência da substância de interesse até atingir o estado de saturação. Após esse passo, o próton do metabólito excitado é transferido através de troca química com os prótons não excitados da água. Conseqüentemente ocorre queda de sinal da água que pode ser detectada através de seqüências padrão de RM, permitindo uma medida indireta da concentração do metabólito estudado.

Introdução: O método de RM por transferência de saturação por troca química (Chemical Exchange Saturation Transfer- CEST) permite detectar baixas concentrações de metabólitos que contêm resíduos de prótons trocáveis (como amina, amida ou hidroxila) presentes na molécula de glicose e seus metabólitos. Esta técnica permite identificar componentes em concentrações muito baixas e que não alteram o sinal de RM em seqüências convencionais (T1, T2, densidade de prótons e T2\*) e não podem ser diretamente medidas através de espectroscopia (MRS). (1)A espectroscopia (MRS) é a seqüência de RM mais estudada para avaliação da composição química tecidual, mas tem algumas limitações devido à baixa concentração desses componentes em relação à água e à superposição de espectros de sinal dos diferentes núcleos em campos magnéticos usados na prática clínica (1,5T a 3,0T). Dessa forma, muitas excitações são necessárias para atingir um adequado sinal-ruído resultando em longo tempo de aquisição e com limitada resolução espacial, de cerca de 20 mm<sup>3</sup> em seqüências de voxel único (single voxel). (2-3)No CEST, a magnetização é transferida de outras moléculas para a molécula de água e, portanto, o efeito de saturação (redução de sinal) pode ser observado na água. A condição para que isso aconteça é que a substância química avaliada tenha um próton de hidrogênio (1H) trocável com a água. Na prática, um pulso de ressonância é aplicado na frequência da substância de interesse até atingir o estado de saturação. Após esse passo, o próton do metabólito excitado é transferido através de troca química com os prótons não excitados da água. Conseqüentemente ocorre queda de sinal da água que pode ser detectada através de seqüências padrão de RM, permitindo uma medida indireta da concentração do metabólito estudado. (1-4)A maior parte das aplicações do CEST envolve metabólitos encontrados no corpo humano ou que podem ser administrados como agente de contraste, como por exemplo, glicose, glutamato e creatina. Na prática clínica, os estudos tem abordado a aplicação da técnica in vivo principalmente para avaliação de acidente vascular isquêmico e tumores cerebrais (5-6). Devido ao uso da glicose como meio de contraste, este método tem um potencial para aplicação na imagem diagnóstica semelhante à do 18FDG-PETCT,

**Endereço:** Rua Barata Ribeiro nº 269  
**Bairro:** Bela Vista **CEP:** 01.308-000  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3394-5701 **E-mail:** cepesq@hsl.org.br

HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS /  
SOCIEDADE BENEFICENTE DE  
SENHORAS



Continuação do Parecer: 3.813.332

porém sem a exposição à radiação ionizante ou a radiofármacos. (1)Entretanto, a quantificação das alterações teciduais in vivo ainda é desafiadora devido a inúmeros fenômenos concomitantes que podem acontecer nos tecidos, alguns conhecidos como RF spillover, transferência de magnetização macromolecular semisólida (MT) e nuclear overhauser effect (NOE). Além disso, a aplicação em tecido tumoral visando avaliação do consumo de glicose e suas possíveis implicações clínicas ainda não é totalmente conhecida. (7)Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar alterações teciduais relacionadas ao metabolismo da glicose em células teciduais tumorais usando a técnica CEST.

Hipótese: ionizante ou a radiofármacos. (1)Entretanto, a quantificação das alterações teciduais in vivo ainda é desafiadora devido a inúmeros fenômenos concomitantes que podem acontecer nos tecidos, alguns conhecidos como RF spillover, transferência de magnetização macromolecular semisólida (MT) e nuclear overhauser effect (NOE). Além disso, a aplicação em tecido tumoral visando avaliação do consumo de glicose e suas possíveis implicações clínicas ainda não é totalmente conhecida. (7)Dessa forma, este estudo tem como objetivo avaliar alterações teciduais relacionadas ao metabolismo da glicose em células teciduais tumorais usando a técnica CEST

Metodologia Proposta: Trata-se de um estudo prospectivo com 15 pacientes matriculados no setor de oncologia do Hospital Sírio-Libanês com diagnóstico confirmado através de estudo histopatológico de carcinoma ductal invasivo de mama ou de carcinoma hepatocelular. Pacientes com tumor de mama realizarão os exames na fase de estadiamento inicial, antes de qualquer tratamento (quimioterapia sistêmica, radioterapia ou cirurgia). No caso dos pacientes com carcinoma hepatocelular, serão selecionados indivíduos com tumores avançados, submetidos ou não à terapia sistêmica progressa. Todos os estudos de RM serão realizados dentro do fluxo normal de exames preconizados nos protocolos assistenciais desses pacientes, sendo acrescentada apenas esta sequência de pesquisa- CEST. Os exames de Ressonância magnética serão realizados no aparelho Discovery™ MR750 3.0T (GE Healthcare, Milwaukee, WI) com as sequências habitualmente utilizadas na avaliação da doença em estudo, sendo acrescentada a sequência com a técnica CEST, a ser realizada de acordo com o protocolo descrito pelo desenvolvedor.

**Objetivo da Pesquisa:**

Estudo exploratório para avaliar alterações teciduais relacionadas ao metabolismo da glicose em

**Endereço:** Rua Barata Ribeiro nº 269

**Bairro:** Bela Vista

**CEP:** 01.308-000

**UF:** SP

**Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)3394-5701

**E-mail:** cepesq@hsl.org.br



HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS /  
SOCIEDADE BENEFICENTE DE  
SENHORAS 

Continuação do Parecer: 3.813.332

células tumorais de pacientes com câncer de mama ou carcinoma hepatocelular usando a técnica de CEST por ressonância magnética, demonstrando a viabilidade deste método.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Riscos: É bem estabelecido que tratamentos oncológicos podem alterar o metabolismo celular relacionado ao consumo da glicose. Não há riscos.

Benefícios: Devido ao uso da glicose como meio de contraste, este método tem um potencial para aplicação na imagem diagnóstica semelhante à do 18FDGPETCT, porém sem a exposição à radiação ionizante ou a radiofármacos.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

O projeto está claramente descrito e delineado.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentação apresentada conforme legislação vigente e normas da instituição

**Recomendações:**

nos riscos, deixar claro que a confidencialidade será mantida, de acordo com a responsabilidade dos pesquisadores. E que os riscos são inerentes a realização de uma RM. Retirar: não há riscos.

No TCLE está claro que a RM pode causar desconfortos inerente durante o exame, porém, não deixa claro o risco de perda de confidencialidade, mesmo que baixo, devido a responsabilidade dos pesquisadores de mantê-la.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto cadastrado no CEPesq como HSL 2019-130, aprovado nesta data conforme o projeto e o TCLE apresentados.

- Protocolo de Pesquisa versão 1.1 de 21 de novembro de 2019

- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido versão 2.1 de 01 de outubro de 2019.

Lembramos que, conforme o item XI.2.d da Res. 466/2012 o pesquisador deverá manter o CEPesq informado sobre o andamento de sua pesquisa através do envio de relatórios parciais (semestrais) e final. De acordo com o cronograma apresentado, está previsto a entrega do relatório parcial em 06 meses após a data da aprovação. Caso haja alterações no cronograma do estudo, por favor, submeter atualização.

**Endereço:** Rua Barata Ribeiro nº 269

**Bairro:** Bela Vista

**UF:** SP

**Telefone:** (11)3394-5701

**CEP:** 01.308-000

**Município:** SAO PAULO

**E-mail:** cepesq@hsl.org.br

HOSPITAL SÍRIO LIBANÊS /  
SOCIEDADE BENEFICENTE DE  
SENHORAS



Continuação do Parecer: 3.813.332

**Considerações Finais a critério do CEP:**

-

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1466441.pdf	07/01/2020 10:04:36		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEST_21_11_v2.docx	07/01/2020 10:03:37	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CEST_V2_1_21_11_19_revisado.docx	07/01/2020 10:01:50	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Outros	autorizacao_area_profgiovanni_07_01_2020.pdf	07/01/2020 09:47:35	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Outros	Recrutamento_cest.pdf	20/12/2019 15:00:34	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Outros	declaracao_de_confidencialidade_.pdf	20/12/2019 14:47:48	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Outros	declaracao_Orcamento_cest.pdf	20/12/2019 14:46:57	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Outros	termo_de_compromisso_investigador.pdf	20/12/2019 14:45:59	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_cest.pdf	20/12/2019 14:44:55	Regis Otaviano Franca Bezerra	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 28 de Janeiro de 2020

Assinado por:  
**Benedito Mauro Rossi**  
(Coordenador(a))

**Endereço:** Rua Barata Ribeiro nº 269  
**Bairro:** Bela Vista **CEP:** 01.308-000  
**UF:** SP **Município:** SAO PAULO  
**Telefone:** (11)3394-5701 **E-mail:** cepesq@hsl.org.br

ID 1330



MINISTÉRIO DA SAÚDE - Conselho Nacional de Saúde - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

## FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

1. Projeto de Pesquisa: Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do metabolismo tecidual em células tumorais usando a técnica Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)			
2. Número de Participantes da Pesquisa: 15			
3. Área Temática:			
4. Área do Conhecimento: Grande Área 4. Ciências da Saúde			
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>			
5. Nome: Regis Otaviano Franca Bezerra			
6. CPF: 857.238.001-91	7. Endereço (Rua, n.º): JOAO MOURA 797/1196 PINHEIROS 870/52a SAO PAULO SAO PAULO 05412002		
8. Nacionalidade: BRASILEIRO	9. Telefone: (11) 9961-5085	10. Outro Telefone:	11. Email: regisfranca@gmail.com
Termo de Compromisso: Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e a publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não. Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Tenho ciência que essa folha será anexada ao projeto devidamente assinada por todos os responsáveis e fará parte integrante da documentação do mesmo.			
Data: <u>11</u> , <u>12</u> , <u>19</u>		 Assinatura	
<b>INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>			
12. Nome: Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês	13. CNPJ: 61.590.410/0001-24	14. Unidade/Órgão:	
15. Telefone: (11) 3394-4751	16. Outro Telefone:		
Termo de Compromisso (do responsável pela instituição): Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Resolução CNS 466/12 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.			
Responsável: <u>Luiz Fernando Lima Reis</u>	CPF: <u>282.222.106-53</u>		
Cargo/Função: <u>Diretor de Ensino e Pesquisa</u>			
Data: <u>17</u> , <u>12</u> , <u>2019</u>	Dr. Luiz Fernando Lima Reis Diretor de Ensino e Pesquisa Instituto Sírio-Libanês  Assinatura		
<b>PATROCINADOR PRINCIPAL</b>			

## ANEXO B

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

#### IEP - Pesquisa

---

Título do Estudo: **“Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do metabolismo tecidual em células tumorais usando a técnica *Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)*”**.

---

O (A) Senhor (a) está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor (a) não consiga entender, o pesquisador responsável pelo estudo e a equipe desta pesquisa estarão disponíveis para esclarecê-los.

A proposta deste termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) é explicar tudo sobre o estudo e solicitar a sua permissão para participar do mesmo.

**OBSERVAÇÃO:** Caso o participante de pesquisa não tenha condições de ler e/ou compreender este TCLE, o mesmo poderá ser assinado e datado por um membro da família ou responsável legal pelo participante de pesquisa.

---

#### **Objetivo do Estudo**

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa cujo objetivo principal é a avaliação de uma nova sequência de ressonância magnética que pode ajudar na análise das características de seu tumor. Portanto, esta pesquisa visa melhorar a detecção do seu tumor através de um método de imagem consagrado e bem conhecido, que se chama ressonância magnética.

**Você será submetido à ressonância magnética da parte do seu corpo que estamos estudando e que foi solicitado pelo seu médico como parte do normal do seu tratamento. Será apenas adicionada uma nova sequência, chamada CEST, ao protocolo de rotina da ressonância magnética. Este procedimento levará ao acréscimo de cerca de 10 minutos no seu estudo convencional.**

#### **Descrição do Procedimento do Estudo**

**Esta nova sequência estará avaliando o metabolismo da glicose do seu tumor, isto é, como seu tumor está utilizando o açúcar para gerar energia. Para melhor avaliação do desempenho desta nova sequência, será injetado em sua veia cerca de 250 ml de soro com glicose a 20% (soro glicosado convencional). Esta é uma solução segura para indivíduos e comumente utilizada para hidratação de pacientes na prática clínica. A injeção de soro de glicose a 10% não interfere nas demais sequências do estudo convencional de ressonância magnética. Esta injeção também não interfere (e não substitui) a injeção de contraste, chamado gadolínio, necessário para as demais sequências convencionais do estudo de ressonância magnética.**

Após o exame de ressonância magnética ter sido finalizado, o paciente será liberado para suas atividades normais, como normalmente já acontece em qualquer exame de ressonância magnética. Para esta pesquisa, o paciente deverá realizar apenas esta nova sequência de imagem rápida (cerca de 10 min).

É importante salientar que esta sequência, apesar de experimental, apenas acrescentará tempo adicional de cerca de 10 minutos ao seu exame. No mais, todas as imagens seguem os demais princípios da ressonância magnética, ou seja, não há radiação ionizante ou

---

---

qualquer outra substância com potencial de trazer danos renais, como contraste iodado. Além disso, todo exame será acompanhado integralmente por um médico.

Os pacientes portadores de equipamentos implantáveis, como marca-passo, cliques de aneurismas cerebrais, próteses de ouvidos, próteses metálicas ou pacientes diabéticos, não poderão fazer parte desta pesquisa. Como há uma entrevista antes de fazer o exame, você pode esclarecer qualquer dúvida com o enfermeiro ou médico entrevistador. O paciente não pode entrar no aparelho de ressonância com nada de metal (ex: moedas, cliques de papel, tesouras, canetas, cartões de créditos, relógios, etc).

---

### **Duração do Estudo**

A duração total do estudo é de 6 meses a partir da aprovação da Comissão de Ética da Instituição. Previsão de recrutamento do participante no estudo com início a partir de 01.12.2019 a 31.06.2020 .

A sua participação nesta pesquisa será de aproximadamente 07 horas em ambiente hospitalar em um único dia.

---

### **Pacientes do Estudo**

Participarão desta pesquisa aproximadamente 15 pacientes portadores de câncer seguidos no Centro de Oncologia do HSL.

Este estudo será realizado no ambulatório do Hospital Sírio Libanês.

---

### **Riscos Potenciais, Efeitos Colaterais e Desconforto**

Os desconfortos e riscos esperados nos procedimentos específicos do projeto de pesquisa são

- Qualquer equipamento de ressonância magnética produz campos magnéticos e ondas de radiofrequências para a aquisição de imagem dos tecidos e do seu tumor. A sequência nova usada nesta pesquisa não é diferente das demais sequências habitualmente usadas no exame de ressonância magnética convencional.
- Os riscos potenciais, efeitos colaterais e desconforto esperados nesta pesquisa não são em nada diferentes do esperado de um exame de ressonância magnética convencional.
- Os riscos relacionados à pesquisa envolvem a quebra de sigilo e confidencialidade, porém os pesquisadores se comprometem manter em sigilo a sua identidade assim como dados que possibilitem a sua identificação a fim de garantir o anonimato

---

### **Benefícios para o participante de pesquisa**

Você não se beneficiará pessoalmente desta pesquisa, as informações obtidas podem ajudar a entender melhor acerca do metabolismo de glicose do seu tumor.

Vão há benefício direto para o participante de pesquisa desta pesquisa.

Trata-se de uma pesquisa cujo objetivo principal é a avaliação de uma nova sequência de ressonância magnética que pode ajudar na análise das características de seu tumor. Portanto, esta pesquisa visa melhorar a detecção do seu tumor através de um método de imagem consagrado e bem conhecido, que se chama ressonância magnética.

---

### **Compensação**

Você não receberá nenhuma compensação para participar desta pesquisa. Entretanto todas os custos relacionados a este exame serão pagos pelo patrocinador do estudo.

---

### **Participação Voluntária/Desistência do Estudo/Descontinuação do Estudo**

Sua participação nesta pesquisa é totalmente voluntária, ou seja, você somente participa se quiser.

A não participação nesta pesquisa não implicará em nenhuma alteração no seu acompanhamento médico tão pouco alterará a relação da equipe médica com o mesmo. Após assinar o consentimento, você terá total liberdade de retirá-lo a qualquer momento e

---

---

deixar de participar desta pesquisa se assim o desejar, sem quaisquer prejuízos à continuidade do tratamento e acompanhamento na instituição. \_

Importante esclarecer, que o pesquisador poderá retirá-lo da pesquisa, caso os procedimentos do estudo possam apresentar algum risco para a sua saúde, ou em casos de complicações devido aos procedimentos. Mas isso tudo será devidamente informado ao Sr (a). Além disso, tanto o pesquisador, como as autoridades regulatórias (Comitê de ética em pesquisa, ANVISA), poderá interromper o estudo, caso julgue que o mesmo possa apresentar algum dano aos participantes.

---

### **Novas Informações**

Quaisquer novas informações que possam afetar a sua segurança ou influenciar na sua decisão de continuar a participação no estudo serão fornecidas a você por escrito. Se você decidir continuar neste estudo, terá que assinar um novo (revisado) Termo de Consentimento informado para documentar seu conhecimento sobre novas informações.

---

### **Em Caso de Danos Relacionados à Pesquisa**

Em caso de dano pessoal, o participante do estudo terá direito a receber tratamento médico e suporte hospitalar referente aos cuidados do evento adverso assim como indenização legalmente cabíveis.

---

### **Utilização de Registros Médicos e Confidencialidade**

Todas as informações colhidas e os resultados dos testes serão analisados em caráter estritamente científico, mantendo-se a confidencialidade (segredo) do participante de pesquisa a todo o momento, ou seja, em nenhum momento os dados que o identifique serão divulgados, a menos que seja exigido por lei.

Os registros médicos que trazem a sua identificação e esse termo de consentimento assinado poderão ser inspecionados por agências reguladoras e pelo CEP.

Os resultados desta pesquisa poderão ser apresentados em reuniões ou publicações, contudo, sua identidade não será revelada nessas apresentações.

---

### **Quem Devo Entrar em Contato em Caso de Dúvida**

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O pesquisador executante é o Dr Regis Otaviano França Bezerra, que pode ser encontrado no endereço Adma Jafet 115 - 10.subsolo – Bela Vista - São Paulo - SP - CEP: 01308050, Telefone: (11) 33394-0200/ Celular 11-99615-0856 Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Peixoto Gomide, 316 – 7º andar, TEL: 3394-570, [cepesq@hsl.org.br](mailto:cepesq@hsl.org.br), para esclarecimentos ou orientação.

Se você tiver alguma dúvida sobre seus direitos como participante de um estudo clínico, você também pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Sociedade Beneficente de Senhoras Hospital Sírio-Libanês – CEPesq no endereço Rua Dona Adma Jafet, nº 91 11º andar sala 1118, cep: 1308-050 – Bela Vista – São Paulo – CEP 01409-000, no telefone (11)3394-5701 no horário de funcionamento de segunda à sexta-feira das 8:00 às 16:00 ou *Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) no endereço COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA – Conep SRTVN 701 - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte - CEP: 70719-040, Brasília-DF. Contato telefônico: (61) 3315-5877 Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)* que são responsáveis por garantir que os direitos dos participantes de estudos clínicos sejam protegidos. Um Comitê de Ética em Pesquisa é um grupo não remunerado formado por diferentes profissionais e membros da sociedade que avaliam um estudo para julgar se ele é ético e garantir a proteção dos participantes. A aprovação pelas autoridades citadas acima não deve ser considerada como um incentivo para participar deste estudo.

---

---

**Declaração de Consentimento****“Estudo piloto de viabilidade para avaliar alterações do metabolismo tecidual em células tumorais usando a técnica *Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)*”.**

Li e entendi o documento de consentimento e o objetivo do estudo, bem como seus possíveis benefícios e riscos. Tive oportunidade de perguntar sobre o estudo e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Entendo que estou livre para decidir não participar desta pesquisa. Entendo que ao assinar este documento, não estou abdicando de nenhum de meus direitos legais.

Eu autorizo a utilização dos meus registros médicos (prontuários médico) pelo pesquisador, autoridades regulatórias e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição.

---

Nome do Participante da Pesquisa Letra de Forma ou à Máquina	Data
Assinatura do Participante da Pesquisa	
Nome do Representante Legal do Participante da Pesquisa Letra de Forma ou à Máquina (quando aplicável)	Data
Assinatura do Representante Legal do Participante de Pesquisa (quando aplicável)	
Nome da pessoa obtendo o Consentimento	Data
Assinatura da Pessoa Obtendo o Consentimento	
Nome do Pesquisador Principal	Data
Assinatura e Carimbo do Pesquisador Principal	

---

**Importante:** Este documento é elaborado e deverá ser assinado em duas vias: uma será entregue ao participante (sujeito da pesquisa) e a outra via ficará com o pesquisador. Todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador, pelo participante da pesquisa ou seu representante legal, em atendimento à CARTA CIRCULAR N° 003/2011 CONEP/CNS/MS disponível no site da CONEP: [http://conselho.saude.gov.br/web\\_comisso](http://conselho.saude.gov.br/web_comisso)

**ANEXO C - Tabela 1S-** Características demográficas

#	Sexo	Idade	CEST	CEST Data	Data Diagnóstico	Diagnóstico	Tratamento	Tratamento Sistêmico Status	Data Último Tratamento	Tratamento Sistêmico
1	M	37	CEST	20/8/2020	06/12/2019	GBM	Sistêmico	Adjuvante	02/01/2020	TMZ
2	M	38	CEST	26/8/2020	01/10/2013	GBM	Sistêmico	4a recorrência	08/11/2019	Vem + Cob
3	F	58	CEST	27/8/2020	17/8/2019	GBM	Sistêmico	2a linha	21/08/2020	Rego
4	M	59	CEST	31/8/2020	01/8/2020	NA	Pré-cirurgia			
5	M	71	CEST	03/09/2020	09/07/2020	GBM	Pré-cirurgia			
6	M	53	CEST	04/09/2020	01/09/2020	LGG	Pré-cirurgia			
7	M	32	CEST	08/09/2020	23/02/2020	GBM	Sistêmico	Adjuvante	25/03/2020	TMZ
8	M	36	CEST	09/09/2020	20/05/2020	GBM	Sistêmico	Adjuvante	17/06/2020	TMZ
9	M	61	CEST	10/09/2020	10/01/2019	GBM	Sistêmico	Adjuvante	20/02/019	TMZ
10	M	75	CEST	11/09/2020	08/09/2020	GBM	Cirurgia			
11	F	49	CEST	14/9/2020	24/08/2020	AOG	Cirurgia			
12	M	48	CEST	15/09/2020	19/12/2019	AA	Sistêmico	Adjuvante	08/01/2020	TMZ
13	M	43	CEST	16/09/2020	29/05/2020	AA	Cirurgia			
14	M	40	CEST	17/09/2020	31/03/2020	GBM	Sistêmico	Adjuvante	27/08/2020	TMZ
15	F	59	CEST	18/09/2020	24/05/2018	GBM	Sistêmico	2a linha	11/07/2020	Irin + Bev
16	M	60	CEST 1	11/03/2021	17/02/2021	GBM	Cirurgia			
			CEST 2	12/03/2021						
17	M	48	CEST 1	19/02/2021	19/12/2019	GBM	Sistêmico	Adjuvante	19/03/2021	TMZ
			CEST 2	19/02/2021						
18	M	56	CEST 1	19/03/2021	18/09/2019	GBM	Sistêmico	2a linha	21/07/2020	Bev
			CEST 2	20/03/2021						
19	M	43	CEST 1	09/03/2021	12/04/2017	AA	Sistêmico	2a linha	13/11/2020	Carbo + Bev
			CEST 2	10/03/2021						
20	H	52	CEST 1	29/03/2021	07/04/2020	GBM	Sistêmico	2a linha	01/03/2021	Bev
			CEST 2	30/03/2021						

Nota.—AA = astrocitoma anaplásico. AOG = oligodendroglioma anaplásico. Bev = bevacizumab. Carbo + Bev = carboplatina + bevacizumab. GBM = glioblastoma multiforme. Irin + Bev = irinotecan + bevacizumab. LGG = low-grade glioma. NA = não avaliável. Rego = regorafenib. TMZ = temozolomide. Vem + Cob = vemurafenib + cobimetinib.