

V – Biópsia magnética do ferro hepático

Em princípio, o nosso objetivo era fazer as medidas *in vivo*, sem o uso de uma bolsa de água sobre o torso, na tentativa de eliminar várias inconveniências, tais como: o peso (~8 Kg) sobre o torso, pois muitos desses pacientes que necessitam desse tipo de medida são crianças entre 5 e 12 anos; as fontes de ruídos, pois, como foi discutido no capítulo anterior, deve ser evitado qualquer contato com o *dewar* durante a medida; finalmente, devido às dificuldades no seu manuseio durante a medida. Contudo, diante das grandes incertezas nas medidas, conforme está mostrado a seguir, concluímos que quantificar sobrecarga de ferro hepático, com precisão equivalente a níveis normais de ferro no fígado, através da medida susceptométrica sem o uso de uma bolsa de água entre o torso e o *dewar*, realmente é uma tarefa quase impossível. Por fim, na seqüência dos aperfeiçoamentos do sistema susceptométrico, projetamos uma bolsa de água que permitiu uniformizar os torsos em geral e evitou as inconveniências acima citadas, ou seja, não é desconfortável, ajuda a manter o torso estável, não tem nenhum contato com o *dewar* e é de fácil manuseio.

As medidas de susceptometria hepática, apresentadas a seguir, foram realizadas em duas etapas: com e sem o uso de uma bolsa de água. Medidas foram realizadas em voluntários normais não avaliados clinicamente (assintomáticos) e em talassêmicos regularmente submetidos a transfusões de sangue no Hemocentro de Ribeirão Preto (HRP).

As medidas susceptométricas *in vivo* foram realizadas seguindo os seguintes procedimentos:

- 1- antes de fazer as medidas, os voluntários e/ou pacientes foram submetidos a um questionário para que informações do tipo: peso, altura, idade, sexo, etc. fossem anotadas em sua ficha;
- 2- o voluntário e/ou paciente usava roupas não magnéticas;
- 3- a pessoa era deitada numa cama, primeiramente em decúbito frontal e então inclinada para o seu lado esquerdo, aproximadamente 35° graus em relação ao eixo vertical, ficando assim com o seu lado direito (lado do fígado) voltado para cima;
- 4- o posicionamento da pessoa era mantido estável com o uso de um colchão especial, feito de microesferas de poliestireno e vácuo;

- 5- a profundidade do fígado foi avaliada com o uso de um aparelho de ultra-som da marca HITACHI, modelo EBU-305, utilizando-se transdutor de 5 MHz;
- 6- a região do fígado foi posicionada, inicialmente, o mais próximo possível do sensor;
- 7- após o início da aquisição, a pessoa foi distanciada lentamente do sensor (~2,5 mm/s), deslocando-se a cama para baixo cerca de 10 cm;
- 8- a variação do sinal foi visualmente analisada e adquirida, em tempo real, através de um programa desenvolvido em plataforma LabView;
- 9- a concentração de ferro foi avaliada através de um programa, desenvolvido em MatLab;
- 10- para minimizar as variações, as medidas foram repetidas de 3 a 4 vezes por pessoa e então obtido o seu valor médio;

V.1 – Medidas *in vivo* sem a bolsa de água

Logo nas primeiras medidas realizadas em voluntários normais, verificou-se que a variação na amplitude do sinal era muito grande, mesmo nas medidas entre pessoas com aproximadamente a mesma estatura física, sendo impossível avaliar baixas concentrações de ferro no fígado usando-se o modelo descrito pela **equação III.7**. No entanto, o procedimento usado para minimizar essas grandes variações foi realizar as medidas em ambos os lados do torso (Carneiro *et al*, 2000). Esse procedimento foi baseado no princípio de que, na medida realizada no lado direito do torso, teremos a presença dos tecidos, dos pulmões e da ferritina no fígado, enquanto que, na medida realizada no lado esquerdo, teremos a presença dos tecidos e dos pulmões, ou seja, o fígado poderá ser desconsiderado por ficar longe do sensor. Considerando-se que ambos os lados são simétricos, ao subtrair um sinal do outro, a resultante corresponde apenas à ferritina no tecido hepático e, de posse das **equações II.19 e III.6**, a expressão usada para quantificar o ferro foi:

$$c_{fm} = \frac{m_0 (\Delta V_{LF} - \Delta V_{LO})}{C c_{m,fn} \Delta \text{int}_{fíg}} \quad \text{V.1}$$

sendo DV_{LF} a variação do sinal medido do lado do fígado; DV_{LO} a variação do sinal medido do lado oposto; C o fator de calibração; $c_{m,fn}$ a suscetibilidade mássica da ferritina; $Dint_{fíg}$ a integral de fluxo sobre o volume do fígado (ver **equação III.16**).

A **figura V.1** mostra um esquema do posicionamento do torso próximo ao sensor para as medidas realizadas em ambos os lados. O tempo gasto para realizar todo o procedimento de medida foi de aproximadamente 45 minutos por pessoa, sendo 40 minutos para as medidas e 5 minutos para a análise dos dados.

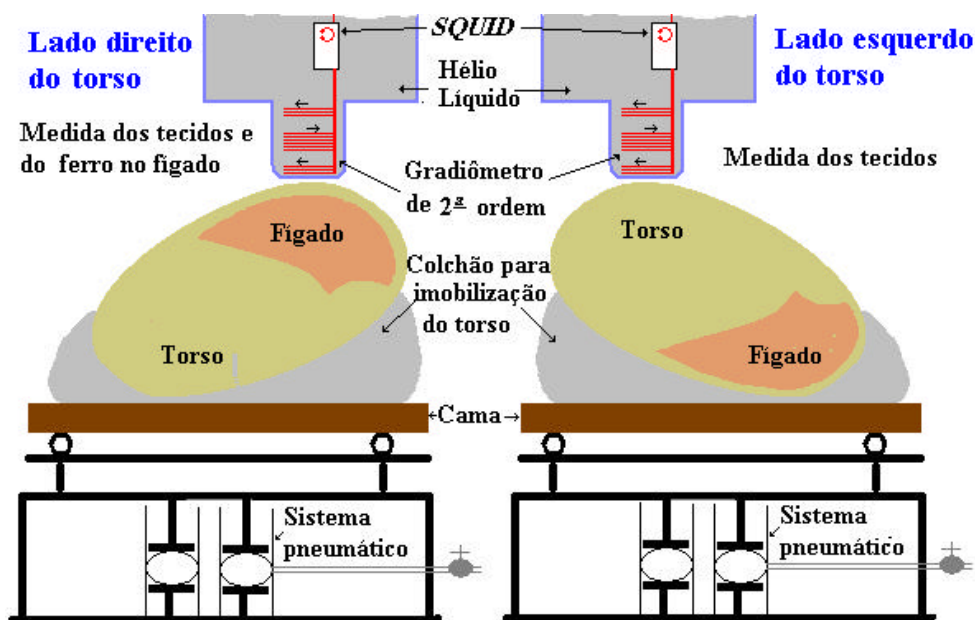


Figura V.1: Esquema do posicionamento e do procedimento de medida da suscetibilidade magnética *in vivo*, realizada em ambos o lados do torso (esquerdo e direito), com a pessoa deitada em decúbito lateral.

Nessa primeira etapa, medidas da suscetibilidade magnética foram realizadas em 25 pessoas, sendo 22 voluntários assintomáticos (16 do sexo masculino e 6 do sexo feminino) e 3 talassêmicos (2 masculinos e 1 feminino), regularmente transfundidos no HRP. Antes de iniciar a aquisição dos dados, o torso foi aproximado do sensor, deixando-se a pele distante aproximadamente 2 mm da ponta do *dewar*, para se evitar o contato entre eles durante a respiração, conforme mostra a **figura V.1**. Primeiramente, foram adquiridos 500 pontos com a cama fixada nessa posição; em seguida, ela foi deslocada aproximadamente 10 cm. A **figura V.2** mostra a superposição de 5 aquisições, durante uma medida em um voluntário assintomático, mantendo-se as mesmas condições de posicionamento. O desvio-padrão na variação máxima desses sinais foi de 1,5 volts ($\sim 1,2$ pT) e corresponde aproximadamente a $30 \mu\text{g ft}/\text{g}_{\text{tecido úmido}}$, distribuído homogeneamente no fígado de uma pessoa adulta. Deve-se esse resultado à precisão da instrumentação. Tal desvio é maior quando as medidas são feitas no mesmo voluntário, em momentos diferentes, principalmente por causa da não

reprodutibilidade no posicionamento do torso. A **figura V.3** mostra o perfil do sinal versus a distância entre o sensor e a pele, medido em ambos os lados do torso (direito e esquerdo) de um **a)** voluntário normal e **b)** um paciente com sobrecarga de ferro ($\sim 3,0$ mg ftn/g_{tecido úmido}). Os dois voluntários tinham aproximadamente a mesma estatura física. A **tabela V.1** apresenta os resultados das medidas realizadas nos voluntários normais e nos pacientes talassêmicos. A incerteza na quantificação do ferro hepático (*dcftn*) (última coluna da tabela) foi estimada considerando-se todas as dispersões (D1-D10) avaliadas no **item III.5**. A **figura V.4** mostra em diagrama as distribuições das concentrações de ferritina avaliadas no fígado. As barras vermelhas referem-se aos voluntários normais e as azuis, aos pacientes.

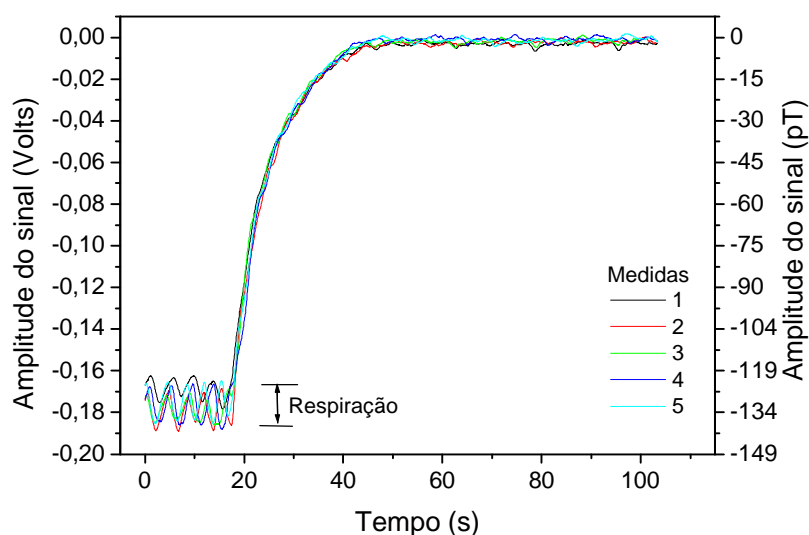


Figura V.2: Resposta do susceptômetro para medida da susceptometria hepática realizada sem o uso de uma bolsa de água. As curvas foram obtidas para o mesmo voluntário sob as mesmas condições de medidas.

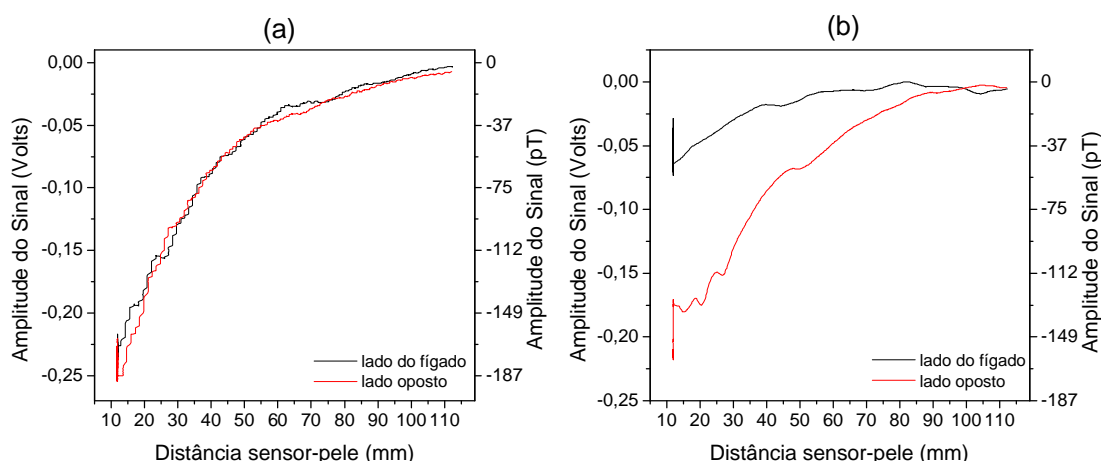


Figura V.3: Resposta do sistema susceptométrico versus a distância sensor-torso, para as medidas realizadas no lado direito (curva preta) e no lado esquerdo (curva vermelha) do torso de a) um voluntário normal e b) um paciente com sobrecarga de ferro (~3,0 mg ftn/g de tecido úmido).

Número de pessoas	Altura (cm)	Peso (Kg)	Idade	RCT (m)	PF (m)	REF (Volts)	Sinal (Volts)	cftn (µgftn/g)	dcftn (µgftn/g)
<i>Voluntários Assintomáticos</i>									
V1-F	1,70	57	25	0,11	0,016	0,069	0,014	219	361
V2-M	1,72	70	26	0,12	0,018	0,072	0,027	-399	377
V3-F	1,65	66	40	0,13	0,016	0,072	0,049	716	361
V4-M	1,78	85	38	0,14	0,02	0,076	0,032	467	363
V5-F	1,50	45	28	0,12	0,017	0,061	0,025	46	370
V6-M	1,74	72	30	0,13	0,018	0,076	0,006	083	364
V7-M	1,77	83	46	0,14	0,019	0,075	-0,028	-44	364
V8-M	1,78	89	32	0,14	0,02	0,076	0,017	268	360
V9-M	1,69	94	31	0,15	0,022	0,075	0,050	984	364
V10-F	1,70	57	25	0,11	0,016	0,069	0,014	219	361
V11-M	1,80	76	28	0,13	0,018	0,074	0,007	292	377
V12-M	1,73	70	29	0,13	0,018	0,072	0,022	788	361
V13-M	1,90	79	29	0,12	0,018	0,077	0,021	684	362
V14-M	1,77	74	28	0,13	0,018	0,073	0,04	658	371

V15-F	1,47	50	10	0,13	0,019	0,062	0,016	288	368
V16-M	1,73	75	29	0,12	0,018	0,073	0,021	169	368
V17-M	1,80	76	28	0,13	0,018	0,074	0,008	12	362
V18-M	1,91	77	19	0,12	0,017	0,077	0,006	55	361
V19-M	1,80	76	28	0,13	0,018	0,074	0,029	46	360
V20-M	1,62	73	37	0,13	0,018	0,07	0,012	166	365
V21-F	1,70	57	25	0,11	0,016	0,069	0,014	219	364
V22-M	1,72	70	26	0,12	0,018	0,072	0,027	-399	361
Média	1,72	71	29	0,13	0,018	0,072	0,021	360	365
SD	0,10	12	7	0,01	0,003	0,004	0,020	367	5
<i>Pacientes Talassêmicos</i>									
P1	1,85	65	23	0,12	0,0175	0073	0,101	2520	461
P2	1,35	37	11	0,12	0,018	0069	0,144	2610	467
P3	1,44	42	13	0,11	0017	0058	0,078	1420	395
Média	1,55	48	16	0,117	0,0175	0,067	0,091	2180	441
SD	0,27	15	6	0,006	0,0005	0,008	0,058	660	40

Tabela V.1: Dados das medidas susceptométricas realizadas em voluntários (V) normais e pacientes (P), sem o uso de uma bolsa de água. RCT: raio cilíndrico do torso; PF: profundidade do fígado; REF: raio esférico do fígado.

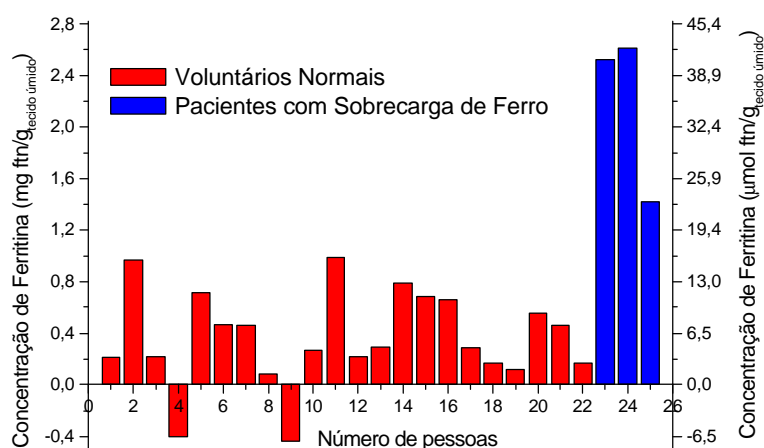


Figura V.4: Quantidade de ferritina avaliada no fígado de pessoas normais (barras vermelhas) e com sobrecarga de ferro (barras azuis), com a biópsia magnética sem o uso de uma bolsa de água entre o sensor e o torso.

V.2 – Medidas in vivo com a bolsa de água

Nesse protocolo de medida, uma bolsa de água, do tipo apresentado na **figura IV.13**, foi usada sobre o torso para se reduzirem as contribuições dos tecidos. Com isso, a amplitude do sinal, nas medidas realizadas em voluntários normais, foi praticamente igual à contribuição proveniente do próprio sistema, conforme se observou nas medidas em *phantoms* (**figura IV.14**). Para se evitar erro nas medidas, devido ao deslocamento da água próximo ao sensor (causado pela respiração ou por contato com o *dewar*), o nível de água na bolsa foi mantido 1 cm acima do torso relativo à região de medida e a uma distância mínima de 0,5 cm abaixo do *dewar*, ou seja, a distância mínima entre a pele e o sensor foi de aproximadamente 2,6 cm. Para essa distância inicial, o ganho no sinal foi reduzido em aproximadamente 30% em relação à medida realizada com o torso inicialmente distanciado 1,2 cm da bobina sensora, conforme foi usado para as medidas realizadas sem a bolsa de água (**figura V.3**). A relação sinal/ruído, porém, foi sensivelmente melhorada, principalmente pela redução do sinal de respiração. A colocação da bolsa sobre o torso foi feita com a pessoa já em posição de medida e com o colchão parcialmente modelado, de modo que o seu peso ficasse apoiado sobre o colchão. Após o posicionamento da bolsa sobre o torso, fez-se mais vácuo no colchão até que ele ficasse enrijecido. Cuidados foram tomados durante esse procedimento de posicionamento para que o centro da bolsa coincidissem com o ponto de medida no torso, previamente marcado na pele da pessoa. Fez-se o posicionamento do torso em relação ao sensor usando-se um guia localizado no centro da bolsa de água. Primeiramente a cama foi levantada até que a ponta do *dewar* tocasse levemente na pele e depois abaixada 1,5 cm, sendo esta a posição do torso no início da medida. O nível da água era corrigido, com adições ou retiradas, para que ficasse exatamente 5 mm abaixo do *dewar*. Esse procedimento foi feito apenas na primeira medida, pois, para as consecutivas, a posição inicial era recuperada apenas controlando-se o deslocamento da cama. O procedimento de medida foi o mesmo apresentado no item anterior, ou seja, eram adquiridos 500 pontos antes de a cama começar a descer e, após ser deslocada aproximadamente 8 cm, a mesma era parada e a aquisição continuada por mais uns 500 pontos. Foram repetidas quatro aquisições, de 1500 pontos cada, por pessoa. O tempo médio gasto por medida foi de 25 minutos por pessoa.

O modelo de fluxo usado para a quantificação do ferro hepático foi aquele apresentado pela **equação III.8**, em que as fontes magnéticas presentes no torso, consideradas por

contribuírem para o sinal susceptométrico, foram apenas os pulmões e a ferritina no fígado. A expressão usada para quantificar o ferro foi:

$$c_{fn} = \frac{1}{c_{fn} \Delta \text{int}_{fig}} \left[\frac{m_b (\Delta V_{LF} - \Delta V_{phantom} - \Delta V_{sistema} + d)}{C} - (c_{pul} - c_{tec}) \Delta \text{int}_{pul} \right] \quad \text{V.2}$$

sendo DV_{LF} a variação máxima do sinal medido na região do fígado; $DV_{phantom}$ a variação do sinal medido com o *phantom* e a bolsa de água; $DV_{sistema}$ a variação máxima do sinal medido sem o voluntário e/ou paciente, mantendo-se a mesma posição da cama; d um fator de correção na medida devido a diferenças de suscetibilidade entre os tecidos e a água, à contribuição do sistema na medida com o phantom, etc. O valor usado para d foi de 0,010 volts e foi determinado ajustando-se a média dos sinais obtidos no grupo de voluntários assintomáticos de modo que a concentração média de ferritina, para esse grupo, ficasse em torno de 250 $\mu\text{g ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$. Esse mesmo valor de d foi usado para corrigir os sinais medidos nos pacientes.

A **figura V.5** mostra a superposição de 5 aquisições repetidas durante uma medida realizada em um voluntário assintomático, mantendo-se as mesmas condições de posicionamento. O desvio-padrão nessas medidas foi de 0,0007 Volts (~520 fT) e equivale aproximadamente a 15 $\mu\text{g ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$ distribuído homogeneamente no fígado de uma pessoa adulta. A **figura V.6** mostra a resposta do susceptômetro, em função do deslocamento da cama, para a medida realizada em um voluntário normal (curva vermelha) e em um paciente talassêmico (curva preta). Nessa segunda etapa, foram realizadas medidas em 46 pessoas, sendo 35 voluntários assintomáticos (27 masculinos e 8 femininos) e 11 pacientes talassêmicos (8 masculinos e 3 femininos), conforme o apresentado na **tabela V.2**. A incerteza na quantificação do ferro hepático (dc_{fn}) foi estimada considerando-se apenas a presença do fígado, do pulmão e da instrumentação (dispersões D4-D10 no **item III.5**). O nível da concentração do ferro hepático avaliado nessas pessoas está mais bem visualizado no diagrama da **figura V.7**.

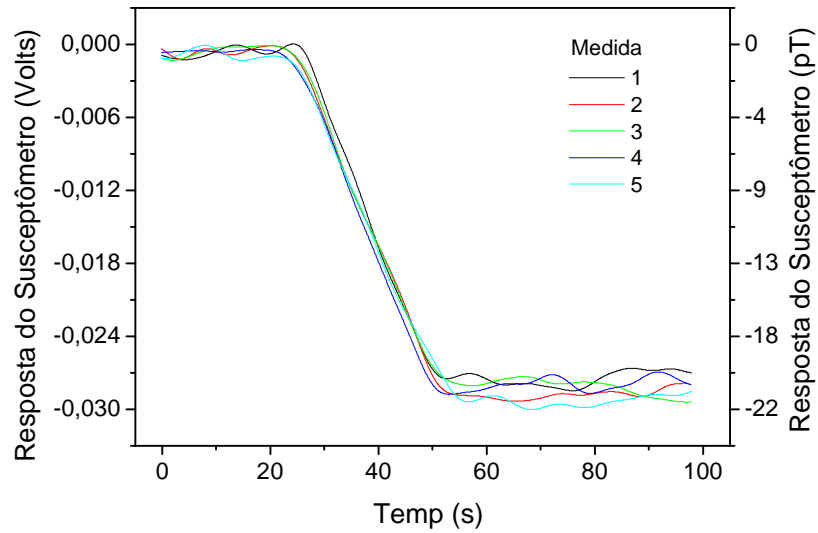


Figura V.5: Resposta do susceptômetro para 5 aquisições repetidas em um mesmo voluntário, durante um procedimento de medida normal e sob as mesmas condições.

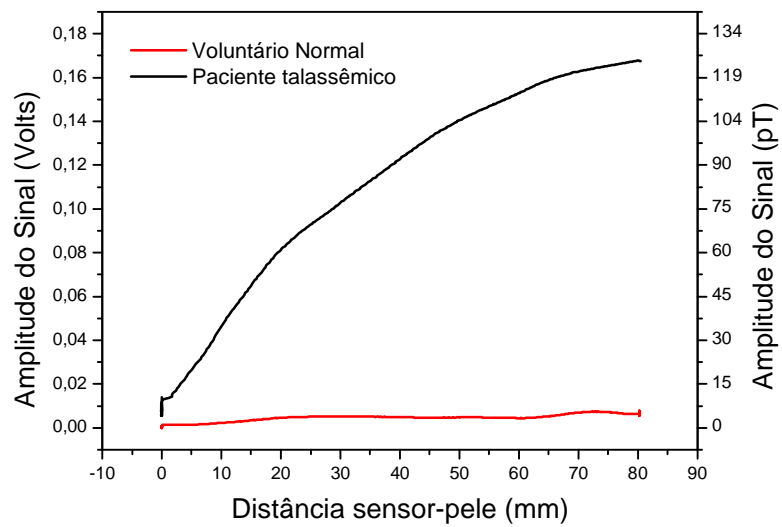


Figura V.6: Resposta do susceptômetro para uma medida feita num voluntário normal (curva vermelha) e em um paciente talassêmico com sobrecarga de ferro ($\sim 4 \text{ mg ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$) (curva preta).

Número de pessoas	Altura (cm)	Peso (Kg)	Idade	RCT (m)	PF (m)	REF (Volts)	Sinal (Volts)	cftn ($\mu\text{gftn/g}$)	dcftn ($\mu\text{gftn/g}$)
<i>Voluntários Assintomáticos</i>									
V1-M	1,74	68	26	0,12	0,017	0,072	-5E-4	439	118
V2-M	1,77	73	29	0,13	0,018	0,073	-0,0065	239	108
V3-M	1,78	90	25	0,14	0,025	0,076	-0,0025	463	120
V4-M	1,79	73	41	0,12	0,018	0,074	-0,0105	108	105
V5-M	1,90	82	29	0,11	0,017	0,077	-0,0085	165	106
V6-M	1,80	78	29	0,12	0,018	0,075	-0,0045	302	111
V7-M	1,74	70	30	0,12	0,0175	0,072	-0,0135	10	104
V8-M	1,93	80	20	0,13	0,018	0,077	-0,0035	332	112
V9-M	1,78	84	39	0,13	0,02	0,075	-0,0325	-650	133
V10-M	1,82	82	21	0,13	0,02	0,076	-0,006	270	110
V11-M	1,74	68	26	0,12	0,0175	0,072	-0,0035	340	113
V12-M	1,78	84	25	0,13	0,02	0,075	-0,006	271	110
V13-M	1,72	64	27	0,12	0,018	0,071	-0,005	292	111
V14-M	1,84	90	19	0,13	0,025	0,077	-0,006	318	112
V15-M	1,74	75	40	0,13	0,019	0,073	-0,004	333	112
V16-M	1,77	78	31	0,13	0,02	0,074	-0,0045	326	112
V17-M	1,74	70	28	0,12	0,018	0,072	-0,004	323	112
V18-F	1,68	54	23	0,09	0,015	0,068	-0,006	237	108
V19-M	1,58	60	26	0,11	0,017	0,067	-0,006	256	109
V20-F	1,68	56	35	0,1	0,016	0,068	-0,0075	198	107
V21-F	1,70	57	26	0,085	0,015	0,069	-0,0075	190	107
V22-M	1,63	54	37	0,1	0,017	0,067	-0,0095	141	105
V23-F	1,73	81	26	0,12	0,018	0,074	-0,0145	-2	104
V24-M	1,80	80	22	0,13	0,019	0,075	0,0025	548	126
V25-M	1,80	78	29	0,12	0,018	0,075	-0,0055	270	110
V26-F	1,52	62	31	0,12	0,019	0,066	-0,013	029	104
V27-F	1,70	75	26	0,13	0,02	0,072	0	488	121
V28-M	1,70	41	12	0,12	0,019	0,065	-0,002	426	117
V29-F	1,53	52	24	0,12	0,018	0,064	-0,003	379	115

V30-F	1,65	50	37	0,11	0,016	0,066	-0,004	314	111
V31-M	1,74	76	26	0,13	0,019	0,073	-0,005	299	111
V32-M	1,78	62	31	0,12	0,017	0,071	-0,013	26	104
V33-M	1,73	68	27	0,12	0,018	0,072	-0,012	59	104
V34-M	1,72	70	29	0,12	0,018	0,072	-0,008	191	107
V35-M	1,77	73	29	0,12	0,018	0,073	-0,005	288	110
Média	1,74	70	28	0,12	0,018	0,072	-0,007	238	111
SD	0,08	11	6	0,01	0,002	0,003	0,006	197	6
<i>Pacientes Talassêmicos</i>									
P1-F	1,60	65	14	0,13	0,019	0,068	0,0365	1768	250
P2-M	1,45	33	9	0,08	0,015	0,056	0,021	1182	184
P3-M	1,57	34	13	0,08	0,015	0,06	0,033	1517	221
P4-M	1,57	63	15	0,13	0,019	0,067	0,032	1621	233
P5-M	1,37	42	14	0,12	0,017	0,056	0,052	2523	341
P6-F	1,47	42	20	0,1	0,016	0,06	0,117	4410	577
P7-M	1,54	58	16	0,13	0,019	0,065	0,064	2807	376
P8-F	1,50	59	22	0,13	0,018	0,065	0,022	1244	191
P9-M	1,55	62	23	0,13	0,018	0,066	0,049	2166	297
P10-M	1,55	43	19	0,1	0,0165	0,062	0,029	1471	216
P11-M	1,66	49	12	0,11	0,017	0,066	0,028	1389	207
Média	1,52	52	17	0,12	0,018	0,063	0,049	2204	305
SD	0,08	9	4	0,01	0,001	0,004	0,031	1055	128

Tabela V.2: Dados das medidas susceptométricas realizadas em voluntários assintomáticos (V) e pacientes (P), com o uso de uma bolsa de água entre o torso e o sensor magnético. *RCT*: raio cilíndrico do torso; *PF*: profundidade do fígado; *REF*: raio esférico do fígado; *cftn*: concentração de ferritina hepática; *dcftn*: incerteza estimada na quantificação da ferritina.

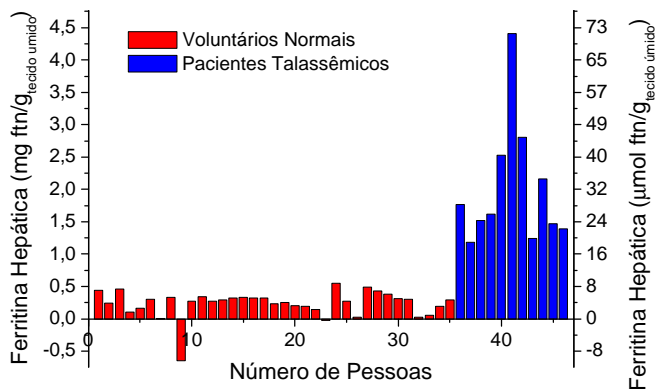


Figura V.7: Diagrama das concentrações de ferro avaliadas no fígado de pessoas normais (barras vermelhas) e com sobrecarga de ferro (barras azuis), com a técnica susceptométrica, fazendo-se uso da bolsa de água entre o sensor e o torso.

Medidas susceptométricas em ambos os lados do torso, fazendo-se uso da bolsa de água, também foram realizadas em 8 dos 11 pacientes apresentados na **tabela V.2** e em 10 voluntários assintomáticos. O diagrama na **figura V.8** mostra os níveis de ferritina encontrados com esse método. A concentração média da ferritina para o grupo de voluntários normais foi de $0,10 \pm 0,25$ mg ftn/g ($\sim 1,6 \pm 4,1$ $\mu\text{mol ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$).

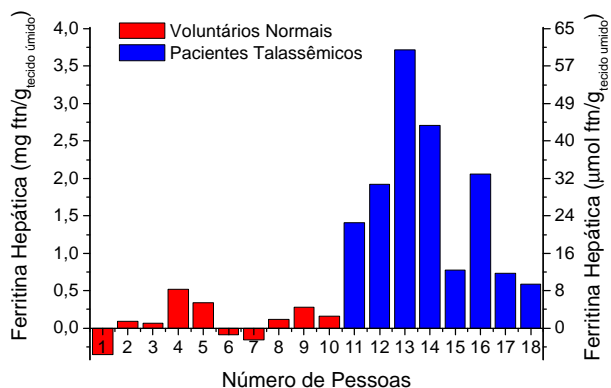


Figura V.8: Nível de ferritina avaliado no fígado de pessoas assintomáticas (barras vermelhas) e com sobrecarga de ferro (barras azuis), através da medida susceptométrica realizada em ambos os lados do torso, com a bolsa de água acoplada a ele.

No intuito de avaliar a reprodutibilidade, foram repetidas seis medidas num mesmo voluntário, em dias e horários diferentes, conforme mostra a **tabela V.3**. A concentração média do ferro hepático para essas medidas foi de $315 \pm 91 \mu\text{g ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$ ($\sim 5 \pm 1 \mu\text{mol ftn/g}_{\text{tecido úmido}}$).

Dia	Hora (min)	Sinal (Volts)	cftn ($\mu\text{g ftn/g}$)	dcftn ($\mu\text{g ftn/g}$)
06/07/01	11:40	-0,005	290	110
07/07/01	16:30	-0,0085	175	106
08/07/01	17:50	-0,0025	372	114
09/07/01	11:30	-0,0055	273	110
10/07/01	14:00	-5E-4	438	118
12/07/01	14:20	-0,0035	339	108
Média	-0,00425	-0,00425	315	111
Desvio	0,00275	0,00275	91	4

Tabela V.3: Medidas da biópsia magnética do ferro hepático, repetidas 6 vezes no mesmo voluntário assintomático, em horários e dias diferentes.